



РЕЦЕНЗИЯ

върху дисертационен труд за получаване на образователна и научна степен „доктор“ в област на висше образование б. Аграрни науки и ветеринарна медицина, професионално направление 6.5. „Горско стопанство“, научна специалност „Лесомелиорации, защита на горите и специални ползвания в горите“

Автор на дисертационния труд: Ева Илиева Филипова

Тема на дисертационния труд: „Щамове на *Cryphonectria parasitica* в България и възможности за биологична борба с патогена“

Член на Научното жури: доц. д-р Петър Димитров Петков, назначен със заповед № РД-15-397/01.10.2021 г. на Директора на Институт за гората - БАН

1. Кратко представяне на докторанта.

Докторантката Ева Илиева Филипова е родена в гр. Самоков през 1991 г. Средното си образование получава в 166 Спортно училище „Васил Левски“, София, през 2007 г., а след това и 138 СОУ „Проф. Васил Златарски“, София, през 2010 г. Продължава образованието си в СУ „Климент Охридски“, специалност „Екология и опазване на околната среда“, което завършва през 2015 г., като бакалавър. Образователно-квалификационна степен „магистър“ по специалността „Екология и опазване на околната среда“ и професионална квалификация „магистър по екология“ придобива след двусеместриален курс на обучение през 2016 г., с отличие.

Трудовият си стаж магистър Ева Филипова започва като младши експерт в Министерство на околната среда и водите, отдел „Стратегии и политики по околна среда“ (02.2016 г. – 11.2016 г.), а след това работи като младши експерт в Изпълнителна агенция по околна среда, отдел „Мониторинг на биологичното разнообразие, горските екосистеми и почвите“ (06.2017 г. – 02.2018 г.). От 01.02.2018 г. започва редовна докторантура в Институт за гората – БАН, секция Горска ентомология, фитопатология и ловна фауна. През 2019 г. работи като лесничей в ТП ДЛС „Арамлиец“, старши експерт „Екология“, а през 2020 г. като младши експерт „Ландшафтна архитектура“ в Община Самоков.

През ученическите и студентските години участва, като състезател и треньор, в национални и международни турнири по баскетбол и има престижни класирания и награди.

2. Обща характеристика на дисертацията – обем и структура.

Представеният за рецензиране дисертационен труд съдържа 112 стр., в т.ч. 55 фигури и 10 таблици. Списъкът на цитираната литература включва 215 заглавия, от които 30 на кирилица и 185 на латиница. Информацията по проучвания проблем е представена по възприетия стандартен начин – литературен обзор, обекти и методи при теренни и лабораторни изследвания, резултати и обсъждания, а след това, въз основа на цялата анализирана информация, се предлагат

препоръки за подобряване на здравословното състояние на проучвания дървесен вид и изводи. Тази предложена структура на научния труд дава много добри възможности за проследяване и анализиране на досегашните проучвания и получените резултати от настоящите изследвания.

3. Актуалност на проблема.

Обикновеният кестен (*Castanea sativa* Mill.) е един от малкото горскодървесни видове, даващ ценна дървесина и полезни за човека плодове. Неговият бърз растеж е неособена възискателност към почвата, както и екологическата роля за противоерозионност и укрепване на наклонени и стръмни терени, увеличават важноста му най-вече в южните райони на страната, където климатичните условия са благоприятни за неговото развитие.

По отношение на здравословното състояние на кестена има много големи проблеми, както у нас, така и в другите страни, където се култивира този дървесен вид – Франция, Италия, Швейцария, Гърция и др. Установени са различни причинители на заболявания, които влияят върху състоянието му, като най-важният от тях е аскомицетната гъба *Cryphonectria parasitica* (Murill) Var. известна повече със своя синоним *Endothia parasitica*. Повредите се изразяват в съхнене на отделни клонове или цели дървета, некрози по кората при дървета с различна възраст. Образува се т.н. „дифузен рак“, който представлява хлътнала, некротирала, с надлъжни напуквания кора, а в редки случаи се появяват типичните многогодишни раковини.

Досегашният опит, както у нас, така и в чужбина за ограничаване на повредите по кестена от тази силно патогенна гъба, се оказва недостатъчно ефективен. Препоръчаните мероприятия включваха провеждане на санитарни сечи, карантина, създаване на смесени насаждения и др.

В последните 2-3 десетилетия в страните на Европейския съюз и САЩ, за ограничаване и локализиране на повредите, се проучва и внедрява използването на хиповирулентни (слабопатогенни) щамове на *Cr. parasitica*. Целта е спорите на тези щамове да достигнат до образуваните некротични петна и раковини, и поради своето много бавно развитие да спрат развитието на силно патогенния щам. В България този биологичен метод не е използван, поради което считам, че темата на дисертационния труд е актуална. Намирането и провеждането на изследвания върху местни хиповирулентни щамове, което е обект на дисертацията, ще допринесе значително за решаването на важен лесовъдски проблем.

4. Литературна осведоменост.

Литературният обзор е много подробен и разглежда въпросите, свързани с разпространението на кестена по света и у нас, състава на насажденията, в които участва, биологическите особености и екологическите изисквания на вида. Проследява се в хронологичен ред информацията, свързана с откриването и описанието на *C. parasitica* в света. В САЩ през 1905 г. се съобщава като *Diaporthe parasitica*, а по-късно и под наименованието *Endothia parasitica*. В Европа гъбата се установява най-напред в Италия – 1938 г. и постепенно обхваща всички естествени и изкуствени кестенови насаждения на континента. Съобщават се и дървесните видове-гостоприемници на гъбата. За Европа освен по кестена *C. parasitica* е установена по *Alnus cordata*, *Ostrya carpinifolia*, *Quercus ilex*, *Q. petraea*, *Q. robur*, *Q. pubescens*. У нас гъбата е описана за първи път през 2000 г.

Представена е информация за изследвания върху генетичното разнообразие на гъбата. В Европа са установени 31 вегетативно съвместими типа (EU-1 до EU-31), което създава пречки за разпространението на хиповирулентните щамове. В Източна Европа преобладаващият щам на гъбата е EU-12. Слабото разнообразие на вегетативно съвместими щамове на *C. parasitica* на Балканите дава добра възможност за осъществяване на биологичен контрол чрез хиповирулентни щамове.

Анализирани са проучванията върху хиповирулентните щамове на *C. parasitica*. Това са т.н. бели щамове с намалена вирулентност, които предизвикват локализиране на раните, формиране на калус и зарастване. Посочени са резултати от изследвания върху хиповирулентността в съседни страни – Румъния, Р Северна Македония, Гърция, Турция, където се отчитат добри първоначални резултати. Счита се, че чрез този биологичен контрол, с използване на подходящ хиповирулентен щам, ще започни процес на постепенно подобряване на здравословното състояние на обикновения кестен.

5. Методичен подход.

За целите на проучванията са заложили 36 опитни площи (ОП) в естествени и изкуствени насаждения от обикновен кестен на териториите на планините Беласица, Огражден, Източни Родопи, Западна Стара планина, Рила и Пирин. В методично отношение те са правилно подбрани, в чисти и смесени насаждения, при различни надморски височини. Направена е климатична характеристика на всеки район. Извършена е оценка на здравословното състояние на кестена във всяка опитна площ, като е използвана Европейската методика за мониторинг на горските екосистеми. Събраните данни са използвани за изчисляване на индекса на здравословното състояние. Биологичен материал за лабораторни анализи е събиран съобразно утвърдената класическа практика – по 5 бр. проби от различни дървета от всяка опитна площ.

Във всяка опитна площ са извършени фитоценологични проучвания, прилагайки методиката Браун-Бланке. Определяни са всички видове висши растения, оценено е тяхното обилие и покритие. Събрана е информация за топографските и почвените условия на средата.

Биологичен материал от затворени некротични рани за изолация на хиповирулентен щам е събиран в 4 опитни площи в насаждения, намиращи се близо до Република Северна Македония. При последващите опити за биологичен контрол е използван хиповирулентния щам EU-12, предоставен от Факултета по горско стопанство в Р Северна Македония. По методиката на Zamoga et al. (2014) са заразени 30 дървета в 5 опитни площи, като с това се поставя началото на биологичната борба срещу *C. parasitica* в България.

Лабораторните изследвания за изолация на чисти мицелни култури от *C. parasitica* са проведени по рутинни фитопатологични методи. Приложена е методиката на Cortesi et al. (1996) за отглеждане на мицелни култури.

Вирулентни щамове на гъбата от България са тествани за вегетативна съвместимост с европейските щамове EU-1, EU-2, EU-5, EU-10, EU-12 и EU-22, предоставени от Р Северна Македония. Наличието на срастване между отделните щамове е признак за вегетативна съвместимост.

Опити за преобразуване на вирулентни изолати в хиповирулентни са извършени по методиката на Anagnostakis, Day (1979).

Молекулярни изследвания върху 23 изолата от 14 опитни площи са проведени в Лабораторията по генетика на ИФР – БАН.

Всички събрани данни от мониторинговите изследвания, респективно степента на обезлистване на короните в зависимост от надморската височина, са анализирани чрез програмата Statistica for Windows 12.0

В методично отношение дисертантката прилага успешно, както рутинните класически методи, така и съвременните методики, особено в областта на генетическите проучвания.

6. Значимост на получените резултати, интерпретации и изводи.

Събраната информация от мониторинговите изследвания върху здравословното състояние на кестена дава реална представа за степента на повредите, като некрози, обезлиствания, суховършия и загинали напълно дървета. Обобщените данни показват, че в най-силна степен на обезлистване (над 60 % от короната) са насажденията, разположени при надморски височини 400-600 m – 80,0-93,8 % (Дупница, Брежани и Беласица). При по-големите надморски височини (600-1200 m) средните стойности са значително по-ниски – 31,4-62,2 %.

Освен вирулентната гъба *C. parasitica* установени са още *Cytospora intermedia* Tul., *Diplodina castanea* Prill. et Del., *Melanconis modonia* Tul., *Phytophthora* spp. и др., но техният дял в пораженията е твърде незначителен.

В обследваните ОП в планината Беласица са установени значителни повреди преди всичко от *C. parasitica*, а в единични случаи са наблюдавани симптоми от *Phytophthora* spp. Некрози има по почти всички дървета (от 1 до 5 бр. на стъбло), а суховършията достигат до 60 % в горна и средна част на короната.

Констатирани са по-големи повреди от гъбата в опитни площи в източната част на Беласица. Ежегодно делът на силно засегнатите дървета се увеличава (ОП 12 – от 15% през 2018 г. до 45% през 2020 г.) В ОП 18 със силни повреди са 80% от обследваните дървета.

Фитоценологичната оценка на растителността показва как се променя съставът на висшите растения съобразно здравословното състояние на кестеновите дървета, засегнати от ендотиевия рак.

Анализирани са причините за различните степени на повреди съобразно надморската височина и развитието на гъбата.

В Огражден планина, при по-големи надморски височини (831-1138 m) са установени също големи повреди (до около 80%). Сравнително по-добро е състоянието на ОП на най-голяма надморска височина (обезлистване на 44,4% от дървостоя). Има наличие на много некрозни и затворени рани по стъблата, за които авторът допуска развитие на хиповирулентен щам.

Силно влошено състояние на кестена се отчита в ОП Брежани, където 20% от дърветата са сухи, а степента на обезлистване е между 86,6 и 88,3%. За първи път авторът установява симптоми на *C. parasitica* по *Quercus petraea* и *Ostrya carpinifolia* – наличие на некротични рани както при кестена и значителни суховършия в горната част на короната.

Изследванията върху състоянието на кестена в Северозападна Рила (Дупница, 585 m н.в.) показват следното: 70% от дърветата са с обезлистване на короните 80-95%, а останалата част са загинали. По всички дървета и издънки са наблюдавани повреди от *C. parasitica*.

В района на Източни Родопи, авторът констатира сравнително добро състояние на кестеновото насаждение (ОП Маказа), където 56% от дърветата са със слабо обезлистване, а останалите – с 30% обезлистване. Независимо от това, от всички пробни материали от некрози по стъблата е изолирана гъбата *C. parasitica*. В останалите 2 опитни площи състоянието на кестена е изключително лошо – обезлиствания до около 90% и загинали дървета. Изведена е санитарна сеч, в резултат на която има наранявания по стоящите дървета и издънки и това е допринесло за масовото развитие на ендотиевия рак.

Резултатите от изследванията са най-лоши в ОП Бързия – район на Западна Стара планина. Всички кестенови дървета са отстранени при санитарна сеч, а наличните издънки са почти загинали (обезлистване 85-95%). Причинител на повредите е гъбата *C. parasitica*.

При всички теренни проучвания авторът анализира причините за лошото състояние на кестена, като най-големи повреди са установени при по-малките надморски височини, а при по-големите, над 900-1000 m, повредите са по-малки. Обяснява се с биологичните особености и екологичните изисквания на основния причинител на заболяването - *C. parasitica*.

Лабораторните изследвания върху *C. parasitica* обхващат следното:

- извършена е идентификация на патогена от всички пробни материали. Установени са типичните плодни структури, обикновено събрани в локули. Изолатите са предимно с жълт цвят, който е характерен за вирулентния щам на гъбата;

- изследвания върху вегетативната съвместимост на получените изолати с европейски щамове на *C. parasitica* показват, че доминиращ щам у нас е EU-12 (95,7%), а по един случай има EU-10 и EU-5. Потвърждава се тенденцията на Балканския полуостров най-широко разпространение да има щам EU-12, което благоприятства осъществяването на биологичен контрол;

- внасяне на хиповирулентен щам от Р Северна Македония и размножаване върху подходяща хранителна среда. Тестовите изследвания показват добра съвместимост между СНV и местните изолати. След изкуственото внасяне на хиповирулентен щам в няколко ОП се забелязва развитието на внесения мицел по периферията на местата на инфекция и начало на калусиране на раните;

- чрез молекулярни изследвания върху 14 изолата е потвърдена тяхната принадлежност към *C. parasitica*, включително и тези, получени от кората на *Q. petraea* от района на с. Брежани.

Предоставените дотук резултати от изследванията дават много добра информация върху състоянието на кестена в България по отношение причинители на заболяване и връзката с условията на месторастене. С голяма значимост са опитите за биологичен контрол с хиповирулентен щам, като се наблюдава процес на зарастване на раните, вследствие на вегетативната съвместимост между вирулентния и хиповирулентния щам. Ниската степен на разнообразие на патогенните щамове дава възможност за провеждане на успешен биологичен контрол. Установена е успешна трансмисия между хифите на вирулентния щам с хиповирулентния, внесен от Р Северна Македония.

Считам, че получените резултати, включително и от генетичните изследвания, имат голяма значимост за по-нататъшната научна и приложна работа за запазване на кестена като дървесен вид у нас.

7. Приноси на дисертационния труд.

Най-важните приноси в дисертационния труд се изразяват в следното:

1. Анализ на мониторинговите изследвания във всички основни находища на обикновен кестен в България и установяване на причинителите за лошото му състояние. Патологичният процес се развива в акутна форма, като делът на силно повредените дървета в някои ОП се е увеличил с 30 до 62,5 % за три години.

2. Установени са нови гостоприемници на *C. parasitica*. Това са *Quercus petraea* и *Ostrya carpinifolia*, с които кестенът обикновено формира смесени насаждения.

3. Изготвена е карта на естествено разпространените вирулентни щамове. Доминиращ е европейският щам EU-12 (95,7 % от изолатите).

4. Проучен е типът на половото размножаване на *C. parasitica* в изолати от планините Беласица, Пирин, Източни Родопи (МАТ-1) и Западна Стара планина (МАТ-2).

5. Направен е успешен опит за биологичен контрол на *Cr. parasitica* чрез инокулиране на хиповирулентен щам EU-12.

6. Представени са препоръки за подобряване здравословното състояние на кестена, включващи както горскостопански мероприятия, така и разширяване работата по провеждането на биологичен контрол в естествените насаждения.

8. Критични бележки и препоръки.

При прочита на дисертационния труд установих някои неточности:

- стр. 22 – посочва се, че публикация на Илиев, Мирчев (1992) се отнася за голямото разпространение на *C. parasitica* у нас. Всъщност авторите посочват като причина за съхненето големите засушавания и недостига на почвена и въздушна влажност. Изразяват съмнения, че вероятно се развива и *Cr. parasitica*.

- стр. 71 – посочва се, че за първи път като гостоприемници на гъбата са установени *Quercus petraea* и *Ostrya carpinifolia*. В извод 3 (стр. 92) се съобщава, че симптомите са открити по *Q. petraea* и *Q. frainetto*. Кое е вярното?

Бележките не са съществени и не оказват влияние върху резултатите от изследванията.

9. Оценка на качеството на научните публикации.

Научните публикации – една самостоятелна и две в съавторство, представят части от изследователската работа по *C. parasitica*. Прави много добро впечатление литературната осведоменост на автора по проблема, добре представени и овладени методики за проучванията. Анализът на резултатите е ясен, точен и онагледен. Изводите са добре формулирани.

10. Личен принос на докторанта.

Смятам, че изследванията са лично дело на докторантката. Положени са изключително много усилия по залагането и многократното обследване на опитните площи, изолациите, тестирането с европейските щамове, както и молекулярните изследвания.

Заклучение

Въз основа на научените и приложените от докторантката различни методи на изследване, правилно изведените експерименти, направените обобщения и изводи считам, че представеният дисертационен труд отговаря на изискванията на ЗРАСРБ и Правилника за условията и реда за придобиване на научни степени и за заемане на академични длъжности в БАН, което ми дава основание да го оценя **ПОЛОЖИТЕЛНО**.

Позволявам си да предложа на почитаемото Научно жури да гласува положително и да присъди на **Ева Илиева Филипова** образователната и научна степен „доктор“ в област на висше образование 6. Аграрни науки и ветеринарна медицина, професионално направление 6.5. „Горско стопанство“, научна специалност „Лесомелиорации, защита на горите и специални ползвания в горите“.

Изготвил рецензията:

11.11.2021 г.

доц. д-р Петър Петков

София