

457-188
28.05 24

РЕЦЕНЗИЯ

на 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)“

Автор на дисертационния труд: ас. **Наталия Георгиева Караджова**, докторант в самостоятелна форма на обучение в ИЗК „Марица“-Пловдив.

Тема на дисертационния труд: „БЯЛО ГНИЕНЕ (*SCLEROTINIA SCLEROTIORUM* (LIB.) DE BARY) ПО ПИПЕР (*CAPSICUM ANNUM* L.) В КУЛТИВАЦИОННИ СЪОРЪЖЕНИЯ И ВЪЗМОЖНОСТИ ЗА БИОЛОГИЧЕН КОНТРОЛ“

Член на научното жури: *професор д-р Христо Георгиев Бозуков*, от Институт по тютюна и тютюневите изделия - Марково, хабилитиран в област на висше образование: 6. „Аграрни науки и ветеринарна медицина“, професионално направление 6.2. „Растителна защита“, научна специалност: „Растителна защита“ (Фитопатология), определен за член на научното жури със заповед № РД 05-159/10.06.2024 год. на Председателя на ССА-София.

I. Кратко представяне на докторанта.

Наталия Георгиева Караджова е родена на 10.01.1986 год. в град Пловдив. Висшето си образование завършва през 2018 година в Аграрен университет-Пловдив с придобита образователно-квалификационна степен „Бакалавър“, специалност „Зооинженерство“.

През 2021 год. придобива образователно-квалификационна степен „Магистър“ след двугодишен курс на обучение в Аграрен университет-Пловдив по международна магистърска програма в специалност „Plant Medicine“.

От май 2019 година Наталия Караджова е на академична длъжност **асистент** в отдел „Технологии в зеленчукопроизводството“, Лаборатория по растителна защита на ИЗК „Марица“-Пловдив.

Наталия Караджова е участвала в 4 завършени научни проекта - един финансиран от Националната научна програма „Здравословни храни за силна биоикономика и качество на живот“ към МОН и участва в 6 задачи на 4 текущи научно-изследователски проекта към ССА.

Асистент Наталия Караджова, владее отлично руски (майчин) и английски езици, има добри технически и компютърни умения.

II. Обща характеристика на дисертацията и автореферата – обем и структура

Дисертационният труд се състои от общо 147 страници, в т.ч. 27 таблици и 36 фигури (графики и снимки), отразяващи резултатите от експерименталната дейност, както и онагледяващи прилаганите методи и реакцията на проучваните материали.

Дисертационният труд е добре структуриран, като следва класическия формат на изследване: увод, литературен преглед, цел и задачи, материал и метод, резултати и обсъждане, изводи, научни и научно-приложни приноси, ползвана литература.

Задължителните за една дисертация – цел и задачи, обект и предмет на изследването са добре формулирани, логически свързани със заглавието и помежду си. След извършен преглед и анализ на достигнатото ниво в изследваната област са обосновани актуалността и значимостта на изследването, тезата и хипотезите са добре формулирани и постигнатите резултати от изследването са достатъчни. Обемът и типът на събраната информация отговаря на целта на изследването, обработката на данните е коректна, визуализацията на резултатите е на добро ниво. Литературната справка е обширна, като включва 330 заглавия, от които 58 на кирилица и 272 на латиница.

Представеният автореферат е с обем от 47 страници. В него коректно и обективно е представено съдържанието на дисертационния труд, като е акцентирано на основните моменти във всяка част, получените резултати и изводи. В автореферата се съдържат задължителната справка за приносите и публикациите по дисертацията.

III. Актуалност на изследвания проблем

Гъбата *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib) de Bary е слабо специализиран фитопатоген, който заразява широк спектър растения, причиняващ стъблено гниене и има широко географско разпространение. Борбата с инфекцията е доста трудна, тъй като гъбата се обновява от склероции, съхранявани върху растителните остатъци и в почвата дълго време. Към момента няма регистрирани ефикасни фунгициди за борба с тази болест по пипера. Наред с разработването на химически и агротехнически мерки за борба важен аспект е търсенето на устойчиви или толерантни форми на растенията. Понастоящем нивото на устойчивост на сорговете пипер към бяло гниене е неизвестно и потенциални източници на резистентност към патогена в *Capsicum annuum* L. и други *Capsicum spp.* не са идентифицирани. В тази връзка, въпреки значителния брой трудове, посветени на този вид патоген, са необходими допълнителни изследвания на неговата

биология, връзката му с растението-гостоприемник и търсенето на надеждни средства за защита срещу бялото гниене чрез използване на антагонисти или хиперпаразити. Това определя актуалността на представеният ми за рецензия дисертационен труд, чиято основна цел е да се проучи биологията на патогена *Sclerotinia sclerotiorum* и възможностите за биологична борба с бяло гниене по пипера в условията на неотопляеми стоманено-стъклени оранжерии в отговор на изискванията на ЕС за намаляване риска от употреба на пестициди и получаването на здравословна храна на достъпна цена.

IV. Литературна осведоменост и теоретична подготовка на кандидата

Големият брой ползвани литературни източници от кандидата – 330 заглавия, са солидна база и показател за добро познаване на проблематиката. Изборът на тематиката на дисертационното изследване е следствие от задълбочено надграждане на знание за състоянието и развитието на проблема. Кандидатът показва добри научни познания в изследваната област, натрупани и развити в резултат на практически и изследователски опит придобит от изследователската си работа като асистент и обучението в докторантура. Съвкупността от знания и експертиза, формират добрата осведоменост и теоритична подготовка на докторанта, които са важни условия за получаване на качествен научен продукт.

V. Методичен подход

Експерименталната работа е извършена в периода 2020-2022 год. в ИЗК „Марица“-Пловдив. Патогенът е избран за предмет на изследването в резултат на проведения мониторинг на болести по пипер в оранжерийни комплекси в Пловдивска област - Брестник, Пловдивско; Три водици, Пазарджик; Мало Конаре, Пазарджик; Куртово Конаре, Пазарджик. през периода 2020–2022 г.

Целта на изследването е да се проучи биологията на патогена *Sclerotinia sclerotiorum* и възможностите за биологична борба с бяло гниене по пипера в условията на неотопляеми стоманено-стъклени оранжерии. Реализирането на тази цел е осъществена чрез изпълнение на следните задачи: проучена е биологията на патогена *Sclerotinia sclerotiorum*, причиняващ бяло гниене по оранжерийен пипер в България; проучена е имунната реакция на сортове пипер към заразяване със *Sclerotinia sclerotiorum*; извършен е отбор на перспективен шам гъба от род *Trichoderma* с широк спектър на антагонистична активност спрямо *Sclerotinia sclerotiorum* и други почвени патогени, причинители на болести по пипер в култивационни съоръжения; изготвени са

- ❖ Подреждането на склероциите при *Sclerotinia sclerotiorum* е характерен таксономичен признак на гъбата. В процеса на своето формиране склероциите образуват концентрични пръстени по повърхността на хранителната среда.
- ❖ Жизнеността на склероциите зависи от размера. Способността за покълване при едрите склероции е по-висока.
- ❖ Установено е, че при условията на България, гъбата *Sclerotinia sclerotiorum* може да заразява растенията чрез аскоспори през месеците април-май, периода на масов цъфтеж и начало на плододаване при пипера. Апотечии се образуват върху склероциите 4 седмици след инкубация при +15°C. Аскоспорите заразяват растенията по дифузен път и, по този начин, гъбата минава всички фази от своята онтогенеза върху културата.
- ❖ Доказано е, че изолатът *Sclerotinia sclerotiorum* Ss1 от пипер е патогенен за зеленчуковите култури пипер, домати, патладжан, карфиол, тиква, краставици, чесън и целина, което потвърждава широката специализация на патогена.
- ❖ Установено е, че сортовете пипер Ивайловска капия, Сиврия, Джулюнска шипка и Пирует F1 имат различна чувствителност към заразяване с причинителя на бяло гниене *Sclerotinia sclerotiorum*. Различията в имунната реакция на сортовете пипер към заразяване с *Sclerotinia sclerotiorum*, се изразяват в дължината на инкубационния период и честотата на заразявания.
- ❖ Микромицетните щамове гъби, изолирани от почвените проби, са идентифицирани като сапрофитни гъби с родова принадлежност *Trichoderma* и *Gliocladium*. Изолат *Trichoderma* sp., използван за експерименталната работа, по своите макро -и микро-морфологични показатели се отнася до вид *Trichoderma viride*, щам Trv1.
- ❖ Установено е, че експерименталният щам *Trichoderma viride* Trv1 притежава изразена антагонистична активност спрямо *Sclerotinia sclerotiorum* и други почвени патогени, образуващи склероции - *Verticillium dahliae*, *Botrytis cinerea* и *Rhizoctonia solani* в in vitro условия. Коефициентът на конкурентоспособност на щам *Trichoderma viride* Trv1 е над 7.4. Щамът се характеризира с бърз растеж и колонизиране на субстрата.
- ❖ Щамът *Trichoderma viride* Trv1 е съвместим с бактерията *Bacillus subtilis* при съвместно отглеждане върху хранителна среда. Това може да послужи като база за проучване в качеството им на щамове - продуценти при създаване на комбинирани биологични препарати за борба с почвените патогени.
- ❖ Щамът *Trichoderma viride* Trv1 е подходящ за размножаване в течна хранителна среда по методиката за дълбочинно производство на биопрепарат. Върху подобрена полусинтетична хранителна среда на база пшеничени трици, *Trichoderma viride* Trv1

реализира пълен цикъл на онтогенеза в процеса на ферментацията. Култивирането на *Trichoderma viride* Trv1 при условия на непрекъснато шейкиране със скорост 120 rpm, температура +28oC в течение на 96h върху течна полусинтетична хранителна среда с начална киселинност pH 6, осигурява натрупване на биомаса 28 g/L и спори с титър не по-малко от 1x10⁸ CFU/ml.

- ❖ Микробиологичният препарат, произведен на база местен щам *Trichoderma viride* Trv1, повлиява положително биометричните показатели на растенията и увеличава ранния добив при пипера с 28%.
- ❖ Инокулирането на почвата с *Trichoderma spp.* регулира състава на почвената микробна общност. Плътноста на *Trichoderma spp.* в почвата е основният регулиращ фактор.

Изводите са добре обосновани и съответстват на получените резултати

VII. Приноси на дисертационния труд

В настоящия дисертационен труд се открояват приноси, които са лично дело на автора и произтичат от изследването.

Приноси с оригинален и научен характер

1. За пръв път в България са описани симптомите на заболяването бяло гниене по пипер, специфични само за тази култура.
2. За пръв път в България е проучена биологията на патогена *Sclerotinia sclerotiorum*, причиняващ бяло гниене по оранжериян пипер.
3. За пръв път в България е установено, че гъбата *Sclerotinia sclerotiorum* минава пълен цикъл на развитие при отглеждане на пипер в неотопляеми култивационни съоръжения.
4. За пръв път в България е проучена имунната реакция на сортове пипер към заразяване с *Sclerotinia sclerotiorum* и са установени различия в показателите "инкубационен период" и "честота на заразявания".
5. От изолираните микромицетни гъби от род *Trichoderma* е избран щам с висока антагонистична активност спрямо *Sclerotinia sclerotiorum* и други почвени патогени, образувачи склероции - *Verticillium dahliae*, *Botrytis cinerea* и *Rhizoctonia solani*.
6. Проучени са основните параметри за дълбочинно производство на биопрепарат на база селектирания щам *Trihoderma viride* Trv1 - хранителна среда, температура, светлина, pH на средата, условия за ферментиране и размножаване.
7. Установено е, че щамът *Trihoderma viride* Trv1 е съвместим с бактерията *Bacillus subtilis* при съвместно отглеждане върху хранителна среда. Това може да послужи като база за проучване в качеството им на щамове -

продуценти, при създаване на комбинирани биологични препарати за борба с почвените патогени.

Научни приноси с потвърдителен характер

1. Проучени са културалните признаци на патогена *Sclerotinia sclerotiorum*. Изследвано е влиянието на източниците на въглехидрати върху нарастването на мицела, формирането на склероции и натрупването на биомаса; способността на гъбата към образуване на склероции при различни режими на температура и светлина; съхранението и жизнеността на склероциите, в зависимост от тяхната маса; условията за образуване на апотеции и аскоспори.
2. За размножаване на биомаса на *Trichoderma viride* Trv1 е избрана подобрена полусинтетична хранителна среда на база пшеничени трици, която позволява на гъбата да реализира пълен цикъл на онтогенеза в процеса на ферментацията и осигурява висок титър на получения биопрепарат.

Приноси с научно-приложен характер

1. Разработена е методика за дълбочинно производство на биопрепарат на база местен щам *Trichoderma viride* Trv1 с висока антагонистична активност спрямо причинителя на бяло гниене по пипер.
2. Проучено е влиянието на биопрепарат на база *Trichoderma viride* Trv1 върху имунната реакция на растенията към заразяване с бяло гниене, растежните прояви, продуктивността и биологичната активност на почвата при отглеждане на пипер в оранжерийни условия.
3. Разработена е технология за приложение на биопрепарат на база *Trichoderma viride* Trv1, съчетаващ свойства на биофунгицид, биотор и препарат за биоремедиация при отглеждане на пипер в оранжерийни условия.

VIII. Оценка на качеството на научните публикации, отразяващи резултатите в дисертацията

Във връзка с дисертационния труд Наталия Караджова е представила 3 научни публикации (едната под печат с приложен сертификат за това). В две от публикациите кандидата е самостоятелен автор, а в третата първи автор в съавторство. Две от публикациите са в реферирани и индексирани списания в световна база данни с научна информация (Agricultural Science and Technology и Bulgarian Journal of Agriculture Science) и една в нереферирано списание с научно рецензиране (Journal of Research in Agriculture and Animal Science), които покриват изискванията на ЗРАСРБ и Правилника на ССА за неговото приложение.

IX. Критични бележки, въпроси и препоръки към кандидата

Високо оценявам положеня труд и постигнатите резултати от докторантката. Нямам критични забележки към работата на докторантката. Забелязаните от мен пропуски и неточности са предимно към оформянето на дисертацията, като например неправилното отбелязване на мерните единици в някои таблици, където те не са представени съобразно Международната система единици (SI-система). Някои от цитираните литературни източници не са отразени коректно. Тези пропуски и неточности по никакъв начин не омаловажават постигнатите резултати от експерименталната дейност и качеството на дисертационния труд.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Въз основа на приложените 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 за условията и реда за придобиване на научни степени и за заемане на академични длъжности в ССА.

Това ми дава основание да оценя **положително** дисертационния труд и да предложа да се присъди на **ас. Наталия Георгиева Караджова** 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)“.

MM

Дата: 14.08.2024 год.

Пловдив

ИЗГОТВИЛ РЕЦЕНЗИЯТА:

/ проф. д-р Христо Бозуков /

REVIEW

on a dissertation for obtaining the educational and scientific degree "PhD" in the field of higher education 6. "Agrarian sciences and veterinary medicine", professional field 6.2. "Plant protection", scientific specialty "Plant protection (phytopathology)"

Author of the dissertation: Assistant Nataliya Georgieva Karadzova, PhD student in independent study at Institute of Vegetable Crops /IVC/ „Maritsa“ - Plovdiv.

Dissertation topic: "WHITE ROT (*SCLEROTINIA SCLEROTIORUM* (LIB.) DE BARY) OF PEPPER (*CAPSICUM ANNUM* L.) IN CULTIVATION FACILITIES AND POSSIBILITIES FOR BIOLOGICAL CONTROL"

Member of the scientific jury: Professor Hristo Georgiev Bozukov, PhD, from the Institute of Tobacco and Tobacco Products - Markovo, habilitated in the field of higher education: 6. "Agrarian Sciences and Veterinary Medicine", professional direction 6.2. "Plant protection", scientific specialty: "Plant protection" (Phytopathology), appointed as a member of the scientific jury by Order No. RD 05-159/10.06.2024 of the Chairman of the Agricultural Academy-Sofia.

I. Brief introduction of the PhD student.

Natalia Georgieva Karadjova was born on 10.01.1986 in the city of Plovdiv.

She completed her higher education in 2018 at the Agricultural University-Plovdiv with a "Bachelor's" degree in "Animal Engineering".

In 2021, she acquired the educational and qualification degree "Master" after a two-year course of study at the Agricultural University-Plovdiv under an international master's program in the specialty "Plant Medicine".

Since May 2019, Natalia Karadzhova has been an academic position - assistant in the "Technologies in vegetable production" department, Plant Protection Laboratory of IVC "Maritsa"-Plovdiv.

Natalia Karadjova participated in 4 completed scientific projects - one funded by the National Scientific Program "Healthy Foods for a Strong Bioeconomy and Quality of Life" at the Ministry of Education and Culture and participated in 6 tasks of 4 ongoing scientific research projects at the Agricultural Academy-Sofia.

Assistant Nataliya Karadjova, has excellent level of Russian (native) and English languages, has good technical and computer skills.

II. General characteristics of the dissertation and abstract - volume and structure

The dissertation has a total volume of 147 pages, incl. 27 tables and 36 figures (graphs and photos) reflecting the results of the experimental activity, as well as illustrating the applied methods and the reaction of the studied materials.

The dissertation work is well structured, following the classic research format: introduction, literature review, aim and objectives, material and method, results and discussion, conclusions, scientific and scientific-applied contributions, literature review.

Mandatory for a dissertation - goal and tasks, object and subject of the research are well formulated, logically connected with the title and with each other. After a review and analysis of the level reached in the researched area, the relevance and significance of the research are substantiated, the thesis and hypotheses are well formulated and the achieved results of the research are sufficient. The volume and type of collected information corresponds to the purpose of the research, the data processing is correct, the visualization of the results is at a good level. The literary reference is extensive, including 330 titles, of which 58 are in Cyrillic and 272 are in Latin.

The presented **Abstract** has a volume of 47 pages. It correctly and objectively presents the content of the dissertation, emphasizing the main points in each part, the obtained results and conclusions. The author's abstract contains the mandatory reference for the contributions and publications of the dissertation.

III. Relevance of the researched problem

The fungus *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib) de Bary is a poorly specialized phytopathogen that infects a wide range of plants, causing stem rot, and has a wide geographic distribution. The fight against the infection is quite difficult, because the fungus is renewed by sclerotia stored on plant residues and in the soil for a long time. Currently, there are no registered effective fungicides to combat this pepper disease. Along with the development of chemical and agro technical control measures, an important aspect is the search for resistant or tolerant plant forms. The level of resistance of pepper cultivars to white rot is currently unknown and potential sources of resistance to the pathogen in *Capsicum annum* L. and other *Capsicum spp.* are not identified. In this regard, despite the considerable number of works devoted to this type of pathogen, further studies are needed on its biology, its relationship with the host plant and the search for reliable means of protection against white rot by using antagonists or hyper parasites. This determines the relevance of my dissertation submitted for review, the main objective of which is to investigate the biology of the pathogen *Sclerotinia sclerotiorum* and the possibilities of biological control of pepper white rot in unheated steel-glass greenhouses in response to EU risk reduction requirements from the use of pesticides and obtaining healthy food at an affordable price.

IV. Literary awareness and theoretical preparation of the candidate

The large number of literary sources used by the candidate - 330 titles - are a solid base and an indicator of good knowledge of the issue. The choice of the topic of the dissertation research is a consequence of a thorough upgrading of knowledge about the state and development of the problem. The candidate demonstrates good scientific knowledge in the research area.

accumulated and developed as a result of practical and research experience gained from his research work as an assistant and doctoral studies. The totality of knowledge and expertise form the good awareness and theoretical preparation of the doctoral student, which are important conditions for obtaining a quality scientific product.

V. Methodical approach

The experimental work was carried out in the period 2020-2022 at the Institute of Vegetable Crops „Maritsa“ - Plovdiv. The pathogen was chosen as the subject of the research as a result of the monitoring of pepper diseases in greenhouse complexes in the Plovdiv and Pazardzhik regions - Brestnik, /Plovdiv/; Tri Voditsi, /Pazardzhik/; Malo Konare, /Pazardzhik/; Kurtovo Konare, /Pazardzhik/ in the period 2020-2022.

The purpose of the research is to study the biology of the pathogen *Sclerotinia sclerotiorum* and the possibilities of biological control of white rot on pepper in the conditions of unheated steel-glass greenhouses. The realization of this goal was accomplished by performing the following tasks: the biology of the pathogen *Sclerotinia sclerotiorum*, which causes white rot on greenhouse pepper in Bulgaria, was studied; the immune response of pepper varieties to infection with *Sclerotinia sclerotiorum* was studied; a promising strain of *Trichoderma* fungus with a wide range of antagonistic activity against *Sclerotinia sclerotiorum* and other soil pathogens causing pepper diseases in cultivation facilities was selected; experimental batches of a biopreparation based on a selected strain of *Trichoderma* sp. in liquid nutrient medium (deep cultivation); the influence after the application of biological and organic products on the immune response of plants to infection with white rot, the growth manifestations, the productivity of pepper variety Pirouet F1 and the biological activity of the soil was studied.

Analysis of variance (ANOVA) was used for data processing.

VI. Significance and persuasiveness of the obtained results, interpretations and conclusions

The results in the dissertation work are original and fully achieved by the doctoral student in fulfillment of the set goal and tasks.

□ The pathogen *Sclerotinia sclerotiorum* has been found to cause dry necrosis on stems or branches in pepper with pronounced concentricity. The concentricity of necroses caused by white rot is a symptom characteristic only of the pepper crop.

□ It has been confirmed that in Bulgaria the fungus *Sclerotinia sclerotiorum* goes through a full cycle of development when growing pepper in cultivation facilities. It is preserved in plant residues and the soil in the form of sclerotia and mycelium. Plants are infected by ascospores and mycelium.

□ It was established that the formation of sclerotia, their mass, shelf life and vitality, the formation of apothecia with asci and ascospores in the fungus *Sclerotinia sclerotiorum* depends

□ The arrangement of sclerotia in *Sclerotinia sclerotiorum* is a characteristic taxonomic feature

of the fungus. In the process of their formation, sclerotia form concentric rings on the surface of the nutrient medium.

□ Viability of sclerotia depends on size. The ability to germinate in large sclerotia is higher.

□ It has been established that under the conditions of Bulgaria, the fungus *Sclerotinia sclerotiorum* can infect plants through ascospores during the months of April-May, the period of mass flowering and beginning of fruiting in pepper. Apothecia form on sclerotia 4 weeks after incubation at +15°C. Ascospores infect plants by a diffuse route and, in this way, the fungus passes all phases of its ontogenesis on the culture.

□ The *Sclerotinia sclerotiorum* Ss1 isolate from pepper has been shown to be pathogenic to the vegetable crops pepper, tomato, eggplant, cauliflower, pumpkin, cucumber, garlic and celery, confirming the broad specialization of the pathogen.

□ It has been established that the pepper varieties Ivailovska capia, Sivria, Zhulyunska hipa and Pirouet F1 have different susceptibility to infection with the causative agent of white rot, *Sclerotinia sclerotiorum*. Differences in the immune response of pepper varieties to infection with *Sclerotinia sclerotiorum* are expressed in the length of the incubation period and the frequency of infections.

□ The micromycete fungal strains isolated from the soil samples were identified as saprophytic fungi belonging to the genera *Trichoderma* and *Gliocladium*. Isolate *Trichoderma* sp., used for the experimental work, according to its macro- and micro-morphological indicators, refers to the species *Trichoderma viride*, strain Trv1.

□ It was established that the experimental strain *Trichoderma viride* Trv1 has a pronounced antagonistic activity against *Sclerotinia sclerotiorum* and other soil pathogens forming sclerotia - *Verticillium dahliae*, *Botrytis cinerea* and *Rhizoctonia solani* in vitro conditions. The competitiveness coefficient of the strain *Trichoderma viride* Trv1 was above 7.4. The strain is characterized by rapid growth and colonization of the substrate.

□ The strain *Trichoderma viride* Trv1 is compatible with the bacterium *Bacillus subtilis* when co-cultivated on nutrient medium. This can serve as a basis for research in their quality as strains - producers in the creation of combined biological preparations to combat soil pathogens.

□ The *Trichoderma viride* Trv1 strain is suitable for multiplication in a liquid nutrient medium according to the methodology for the deep production of a biopreparation. On an improved semi-synthetic nutrient medium based on wheat bran, *Trichoderma viride* Trv1 realizes a complete cycle of ontogenesis in the fermentation process. Cultivation of *Trichoderma viride* Trv1 under conditions of continuous shaking at a speed of 120 rpm, a temperature of +28°C for 96 h on a liquid semi-synthetic nutrient medium with an initial acidity of pH 6, provides an accumulation of biomass of 28 g/L and spores with a titer of not less than 1x10⁸ CFU/ml.

□ The microbiological preparation, produced on the basis of the local strain *Trichoderma viride* Trv1, positively affected the biometric indicators of the plants and increased the early yield of pepper by 28%.

□ The inoculation of soil with *Trichoderma* spp. regulates the composition of the soil microbial community. The density of *Trichoderma* spp. in the soil is the main regulating factor.

The conclusions are well justified and correspond to the obtained results.

VII. Dissertation Contributions

The present dissertation highlights contributions that are the author's personal work and stem from the research.

Contributions of an original and scientific nature

1. For the first time in Bulgaria, the symptoms of the disease white rot on pepper, specific only to this crop, have been described.
2. For the first time in Bulgaria, the biology of the pathogen *Sclerotinia sclerotiorum*, which causes white rot on greenhouse pepper, was studied.
3. For the first time in Bulgaria, it was established that the fungus *Sclerotinia sclerotiorum* goes through a full cycle of development when growing pepper in unheated cultivation facilities.
4. For the first time in Bulgaria, the immune response of pepper varieties to infection with *Sclerotinia sclerotiorum* was studied and differences were found in the "incubation period" and "infection frequency" indicators.
5. A strain with high antagonistic activity against *Sclerotinia sclerotiorum* and other soil pathogens forming sclerotia - *Verticillium dahliae*, *Botrytis cinerea* and *Rhizoctonia solani* - was selected from the isolated micromycete fungi of the genus *Trichoderma*.
6. The main parameters for in-depth production of a biopreparation based on the selected strain *Trichoderma viride* Trv1 were studied - nutrient medium, temperature, light, pH of the medium, conditions for fermentation and multiplication.
7. The strain *Trichoderma viride* Trv1 was found to be compatible with the bacterium *Bacillus subtilis* when co-cultivated on nutrient medium. This can serve as a basis for research in their quality as strains - producers, when creating combined biological preparations to combat soil pathogens.

Scientific contributions of a confirmatory nature

1. The cultural signs of the pathogen *Sclerotinia sclerotiorum* were studied. The influence of carbohydrate sources on mycelial growth, sclerotia formation and biomass accumulation was investigated; the ability of the fungus to form sclerotia under different regimes of temperature and light; the storage and vitality of sclerotia, depending on their mass; the conditions for the formation of apothecia and ascospores.
2. For multiplication of biomass of *Trichoderma viride* Trv1, an improved semi-synthetic nutrient medium based on wheat bran was chosen, which allows the fungus to realize a full cycle of ontogenesis in the fermentation process and ensures a high titer of the biopreparation obtained.

Contributions of a scientific and applied nature

1. A methodology has been developed for the in-depth production of a biopreparation based on a local *Trichoderma viride* Trv1 strain with high antagonistic activity against the causative agent of white rot on pepper.
2. The influence of a biopreparation based on *Trichoderma viride* Trv1 on the immune response of plants to infection with white rot, growth manifestations, productivity and biological activity of the soil during pepper cultivation in greenhouse conditions was studied.

3. A technology has been developed for the application of a biopreparation based on *Trichoderma viride* Trv1, combining properties of biofungicide, biofertilizer and bioremediation preparation for growing pepper in greenhouse conditions.

VIII. Assessment of the quality of scientific publications reflecting the results in the dissertation

In connection with the dissertation work, Nataliya Karadjova has presented 3 scientific publications (one under seal with attached certificate for this). In two of the publications, the candidate is the sole author, and in the third, the first co-author. Two of the publications are in refereed and indexed journals in a global database of scientific information (Agricultural Science and Technology and Bulgarian Journal of Agriculture Science) and one in a non-refereed peer-reviewed journal (Journal of Research in Agriculture and Animal Science) that meet the requirements of Low for Development of Academic staff in Republic of Bulgaria and the Regulations of the Agricultural Academy for its application.

IX. Critical notes, questions and recommendations to the candidate

I highly appreciate the work put in and the results achieved by the doctoral student.

I have no critical remarks about the doctoral student's work. The omissions and inaccuracies I noticed are mainly related to the design of the dissertation, such as the incorrect notation of the units of measurement in some tables, where they are not presented according to the International System of Units (SI-system). Some of the cited literary sources are not reflected correctly. These omissions and inaccuracies in no way detract from the achieved results of the experimental activity and the quality of the dissertation work.

CONCLUSION

Based on the various research methods applied by the doctoral student, the experiments correctly carried out, the summaries and conclusions drawn, I accept that the presented dissertation meets the requirements of the Low for Development of Academic staff in Republic of Bulgaria and the Regulations for the terms and conditions for obtaining scientific degrees and taking academic positions in the Agricultural Academy.

This gives me the reason to **positively evaluate the dissertation work** and propose to award **Assistant Nataliya Georgieva Karadjova** the educational and scientific degree "**PhD**" in the field of higher education 6. "Agrarian Sciences and Veterinary Medicine", professional direction 6.2. "Plant Protection", scientific specialty "Plant Protection (Phytopathology)".

Date: 14.08.2024

Plövdv

PREPARED THE REVIEW:


/ Prof. Hristo Bozukov PhD/