СЕЛСКОСТОПАНСКА АКАДЕМИЯ
СОФИЯ
Вх. № НУ1-129
10.09. 2026 г.

СТАНОВИЩЕ

относно дисертационен труд за получаване на образователната и научна степен „Доктор" в област на висше образование 6. Аграрни науки и ветеринарна медицина, професионално направление 6.1. „Растениевъдство", научна специалност „Селекция и семепроизводство на културните растения".

Тема на дисертационния труд: Проучвания, свързани с използване на отдалечена хибридизация в селекцията на твърда пшеница (*Triticum turgidum* L. subsp. *durum* (Desf.))

Автор на дисертационния труд: ас. Боряна Петрова Хадживанова

Член на научното жури: доцент доктор Рангел Георгиев Драгов, Селскостопанска Академия, Институт по полски култури – Чирпан, България, професионално направление 6.1. Растениевъдство, научна специалност: Селекция и семепроизводство на културните растения, заповед за назначаване № РД 05-150 от 24.06.2026 на председателя на Селскостопанска академия.

I. Актуалност на изследвания проблем

Изследваният проблем, разработен в дисертационния труд, е безспорно актуален и с висока научноприложна значимост за съвременната селекция на твърдата пшеница. Ограниченото генетично разнообразие на културните форми и необходимостта от съчетаване на висока продуктивност и качество с устойчивост към биотични и абиотични стресови фактори поставят съществени ограничения пред по-нататъшния селекционен прогрес. В този контекст използването на генетичния потенциал на отдалечените родственици чрез междувидова и междуродова хибридизация представлява ефективен подход за разширяване на изходното разнообразие и въвеждане на нови генетични варианти в генофонда на *Triticum durum*.

Актуалността на разработката се определя не само от избора на отдалечената хибридизация като метод, но и от комплексното преодоляване на свързаните с нея биологични и селекционни ограничения. В дисертационния труд последователно са изследвани кръстосваемостта, приложението и оптимизирането на *in vitro* ембриоспасяването, развитието и реколтирането на хибридните и беккросни поколения, както и идентифицирането на чуждовидов генетичен материал чрез съчетаване на морфологични, цитологични и молекулярни подходи. Именно тази интегрирана методична схема е от особено значение, тъй като превръща отдалечената хибридизация от възможност за създаване на хибридни форми в реален инструмент за целенасочена интрогресия и последващо селекционно използване на ценен генетичен материал.

Съществена стойност има и проследяването на получените интрогресивни материали до напреднали беккросни поколения и тяхната последваща оценка по продуктивност, морфологични и агрономически признаци и признаци свързани с качеството на зърното. По този начин изследването излиза извън рамките на чисто експерименталното доказване на възможността за чуждовидов генетичен трансфер и

достига до практически значимия етап на оценка на селекционната ценност на получените линии.

В обобщение, дисертационният труд е насочен към един от съществените проблеми на селекцията на твърдата пшеница – разширяването на генетичната основа чрез използване на недостатъчно експлоатиран генетичен ресурс. Получените резултати имат потенциално значение както за развитието на методологията на отдалечената хибридизация, така и за обогатяване на изходния селекционен материал и създаване на предпоставки за бъдещ генетичен прогрес при твърдата пшеница.

II. Цел, задачи и методи на изследване (хипотези на дисертационния труд)

Дисертационното изследване е ориентирано към разширяване на генетичното разнообразие в селекцията на твърдата пшеница (*Triticum durum* Desf.) чрез използване на отдалечени видове и идентифициране на реализиран чуждовидов генетичен трансфер. Целта на изследването е да се установят възможностите за осъществяване на междувидова и междуродова хибридизация на твърдата пшеница с представители на родовете *Triticum* и *Aegilops* и *Triticale*, да се преодолеят репродуктивните бариери чрез *in vitro* ембриоспасяване и да се проследи интрогресията на чуждовидов генетичен материал в последващите поколения. За реализиране на поставената цел са решени шест основни задачи.

Методологичната схема представлява последователно съчетаване на отдалечена хибридизация, *in vitro* култивиране и ембриоспасяване, беккросна селекция, цитологичен анализ на мейозата и поленовата фертилност, както и ДНК-маркерен анализ с използване на SSR и ISSR маркери. Полученият селекционен материал е оценен по комплекс от морфологични, агрономически, продуктивни и технологични показатели, като експерименталните данни са обработени чрез вариационен и дисперсионен анализ.

Изследването се основава на хипотезата, че генетично отдалечени видове от родовете *Aegilops* и *Triticum*, както и *Triticale*, представляват потенциален източник на генетично разнообразие, достъпно за включване в селекционния генофонд на твърдата пшеница чрез отдалечена хибридизация.

Предполага се, че прилагането на ембриоспасяване *in vitro* може да преодолее постзиготните бариери при част от несъвместимите комбинации, а последващото беккросиране да осигури включването и стабилизирането на чуждовидов генетичен материал в генетичния фон на *Triticum durum*. Приема се също, че интегрираното прилагане на фенотипни, цитологични и молекулярни методи позволява надеждно доказване и проследяване на интрогресионни събития и идентифициране на генетично обогатени линии с потенциална селекционна ценност.

III. Визуализация и интерпретация на получените резултати. Използвана литература

Дисертационният труд е написан на 190 стандартни страници и включва 8 основни раздела, които по обем, структура и баланс между отделните части отговарят напълно на изискванията за присъждане на ОНС „Доктор". Получените резултати са обобщени и много добре онагледени чрез умело използване на 28 таблици и 10 фигури,

които показват способността на докторанта да систематизира научната информация. В дисертационния труд са представени и 11 снимки.

Направен е обстоен и задълбочен литературен обзор по темата, като са представени виждания на редица български и чуждестранни изследователи по разглежданата проблематика. Използвани са 394 научни публикации, което свидетелства за добрата осведоменост на докторанта относно разглеждания проблем. Обсъждането на резултатите е направено последователно, компетентно и задълбочено, чрез интерпретиране на резултатите в съответствие със съвременните научни достижения в тази област. В обсъждането умело се съпоставят, сравняват и коментират получените резултати с тези, публикувани от други автори. От резултатите на дисертационния труд са изведени 19 съществени извода, показващи значимостта на разработката.

Дисертационният труд е написан на висок научен стил, като същевременно се отличава с прецизност и достъпност на изложението.

IV. Приноси на дисертационния труд

Получените резултати позволяват да се оформят две групи приноси:

Научно-теоретични

1. Получена е информация за кръстосваемостта на твърдата пшеница с голям брой отдалечени и родствени видове от род *Aegilops*, род *Triticum* и *Triticosecale* и за възможността за получаване на F_1 хибридни растения с прилагане на ембриоспасяване *in vitro*.
2. С цел преодоляване на ембрионалната несъвместимост при отдалечена хибридизация на твърда пшеница са оптимизирани основни етапи от процедурата по ембриоспасяване *in vitro*.
3. Установени са сериозни нарушения в протичането на микроспорогенезиса, които обясняват частичната или пълна стерилност на хибридните растения от кръстосването на твърда пшеница с *Aegilops umbellulata* и *Aegilops cylindrica*.
4. Демонстрирана е приложимостта и ефективността на SSR и ISSR маркерите при отдалечена хибридизация за откриване на полиморфизъм и анализ на интрогресии, доказващи хибридната природа на създадените беккросни линии.
5. Установено е, че прилаганата беккросна стратегия е ефективен инструмент за въвеждане на нови алели от отдалечени видове без влошаване на основните агрономични качества на твърдата пшеница.

Научно-приложни

1. Разработени са протоколи за ембриоспасяване *in vitro* при твърда пшеница.
2. Създадени са селекционни линии твърда пшеница чрез отдалечена хибридизация и беккросна стратегия, намиращи се в конкурсно сортоизпитване, чрез които е обогатено генетичното разнообразие по важни агрономически признаци.
3. Идентифицирани са беккросните линии, произхождащи от кръстоските с *Triticum dicoccum, Triticum polonicum* и *Triticum macha*, характеризиращи се с най-добра комбинация от признаци, свързани с продуктивността на класа и качеството на зърното и с потенциал да бъдат признати за нови сортове.

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

Приложени са три публикации пряко свързани с дисертационния труд, които са в съавторство с научния ръководител. Една от тях е публикувана в научно издание, реферирано и индексирано в световноизвестни бази данни с научна информация Web of Science (All Databases). Сумарният брой на точките е 33 и отговаря на минимума, определен като изискване за придобиване на образователната и научна степен „Доктор" съгласно Закона за развитие на академичния състав в Република България.

Представеният автореферат отразява обективно структурата и съдържанието на дисертационния труд.

VI. Критични бележки, въпроси и препоръки към кандидата

Към представения за становище дисертационен труд нямам критични бележки и препоръки по отношение на неговата структура и научна стойност.

Бих поставил следните въпроси:

1. Какви важни признаци са прехвърлени от род Aegilops? Необходимо ли е да продължат кръстоските при установената ниска кръстосваемост?
3. Как докторантът вижда продължението на научните изследвания въз основа на получените резултати и направените изводи в дисертационния труд?

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Вследствие на задълбочените изследвания на докторанта е извършена голяма по обем научноизследователска работа, включваща прецизно проведени експерименти и лабораторни изследвания, резултатите от които са в основата на дисертационния труд. Представената дисертация е със значим иновативен и приносен характер за теорията и практиката на селекцията на твърда пшеница. Докторантката демонстрира аргументирани подходи за оценка, задълбочени теоретични познания и умения за прилагане за прилагане на различни методи на изследване и обобщаване на получените резултати. Въз основа на научната и приложната значимост на получените резултати и приноси считам, че представеният дисертационен труд отговаря на изискванията на ЗРАСРБ и на 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. Боряна Петрова Хаджииванова** образователната и научна степен **„Доктор"** в област на висше образование 6. Аграрни науки и ветеринарна медицина, професионално направление 6.1. Растениевъдство, научна специалност „Селекция и семепроизводство на културните растения".

Дата: 2.09.2026

ИЗГОТВИЛ СТАНОВИЩЕТО:

/доц. д-р Рангел Георгиев Драгов/

STANDPOINT

For PhD thesis elaborated in the higher education field 6. Agricultural Sciences and Veterinary Medicine, professional direction 6.1. Crop Science, scientific specialty: „Plant Breeding and Seed Production of Cultivated Plants"

Topic of the dissertation: Studies on the use of distant hybridization in durum wheat breeding (*Triticum turgidum* L. subsp. *durum* (Desf.))

Author of the dissertation: as. Boryana Petrova Hadzhiivanova

Member of the scientific jury: Associate Professor PhD Rangel Georgiev Dragov, Agricultural Academy, Field Crops Institute – Chirpan, Bulgaria, in the field of higher education 6. Agricultural Sciences and Veterinary Medicine, professional direction: 6.1. Crop science, scientific specialty "Plant Breeding and Seed Production of Cultivated Plants" appointed with Order № РД 05-150 of 24.06.2026 by the president of the Agricultural Academy.

I. Relevance of the studied problem

The research problem addressed in the dissertation is undoubtedly topical and of high scientific and practical significance for contemporary durum wheat breeding. The narrow genetic diversity of cultivated forms, coupled with the need to combine high productivity and end-use quality with enhanced resilience to biotic and abiotic stresses, imposes substantial constraints on further breeding progress. In this context, exploiting the genetic potential of distantly related taxa through interspecific and intergeneric hybridization represents an effective strategy for broadening the genetic base and introducing novel genetic variation into the gene pool of *Triticum durum*.

The relevance of the research is determined not only by the choice of distant hybridization as a breeding methodology, but also by the comprehensive approach adopted to address the associated biological and breeding constraints. The dissertation systematically investigates crossability, the application and optimization of *in vitro* embryo rescue, the development and harvesting of hybrid and backcross generations, as well as the identification and characterization of alien genetic material through the integration of morphological, cytological, and molecular approaches. This integrated methodological framework is of particular importance, as it transforms distant hybridization from a means of generating hybrid forms into a practical and targeted tool for the introgression and subsequent breeding utilization of valuable alien genetic material.

A further significant contribution lies in the tracking of the resulting introgression materials through advanced backcross generations and their subsequent evaluation for productivity, morphological and agronomic traits, and grain quality-related characteristics. In this respect, the study extends beyond the purely experimental demonstration of the feasibility of alien genetic transfer and reaches the practically important stage of assessing the breeding value and agronomic potential of the derived lines.

In summary, the dissertation addresses one of the key challenges in durum wheat breeding—broadening the genetic base through the exploitation of underutilized genetic

resources. The results obtained have potential significance both for advancing the methodology of distant hybridization and for enriching the available breeding germplasm, thereby providing a foundation for further genetic improvement and sustained breeding progress in durum wheat.

II. Purpose, tasks and research methods (hypotheses of the dissertation)

The dissertation research is focused on broadening the genetic diversity available for durum wheat breeding (*Triticum durum* Desf.) through the utilization of distantly related species and the identification of successful alien genetic transfer. The primary objective of the study is to determine the feasibility of interspecific and intergeneric hybridization of durum wheat with representatives of the genera *Triticum* and *Aegilops*, as well as with *Triticale*, to overcome reproductive barriers through *in vitro* embryo rescue, and to monitor the introgression of alien genetic material across subsequent generations. To accomplish this objective, six principal research tasks were undertaken.

The methodological framework comprises a sequential integration of distant hybridization, *in vitro* culture and embryo rescue, backcross selection, cytological analysis of meiosis and pollen fertility, and DNA marker-based analysis employing SSR and ISSR markers. The resulting breeding materials were evaluated using a comprehensive set of morphological, agronomic, yield-related, and technological traits, while the experimental data were subjected to analysis of variance and variation analysis.

The study is grounded in the hypothesis that genetically distant species belonging to the genera *Aegilops* and *Triticum*, as well as *Triticale*, constitute a potential source of genetic diversity that can be incorporated into the breeding gene pool of durum wheat through distant hybridization.

It is hypothesized that the application of *in vitro* embryo rescue may overcome postzygotic barriers in a proportion of incompatible crosses, while subsequent backcrossing may facilitate the incorporation and stabilization of alien genetic material within the genetic background of *Triticum durum*. It is further assumed that the integrated application of phenotypic, cytological, and molecular approaches enables the reliable detection and monitoring of introgression events and the identification of genetically enriched lines possessing potential breeding value.

III. Visualization and interpretation of the results obtained. Literature used

The dissertation comprises 190 standard pages and is structured into eight main sections, whose volume, organization, and balance fully comply with the requirements for the award of the educational and scientific degree "Doctor". The results obtained are comprehensively synthesized and effectively illustrated through the judicious use of 28 tables and 10 figures, demonstrating the doctoral candidate's ability to systematically organize, synthesize, and present scientific information. In addition, the dissertation includes 11 photographic illustrations.

A comprehensive and in-depth review of the relevant scientific literature has been conducted, encompassing the contributions and perspectives of numerous Bulgarian and international researchers on the research topic. A total of 394 scientific publications have been consulted, which is indicative of the doctoral candidate's extensive knowledge of, and familiarity with, the scientific literature relevant to the investigated problem. The discussion of

the results is presented in a coherent, competent, and thorough manner, with the findings being interpreted in the context of contemporary scientific advances in the field. Particular merit lies in the critical comparison and discussion of the results obtained in the present study with findings previously reported by other authors. Based on the results of the dissertation research, 19 substantive conclusions have been formulated, underscoring the scientific and practical significance of the study.

The dissertation is written in a high-level scientific style, while at the same time demonstrating precision, clarity, and accessibility of presentation.

IV. Contributions of the dissertation

The results obtained provide a sound basis for distinguishing two groups of contributions:

Scientific and Theoretical Contributions

1. Information has been obtained on the crossability of durum wheat with a broad range of distantly related and related species belonging to the genera *Aegilops* and *Triticum*, as well as *Triticosecale*, and on the feasibility of producing F_1 hybrid plants through the application of *in vitro* embryo rescue.
2. In order to overcome embryonic incompatibility in distant hybridization involving durum wheat, key stages of the *in vitro* embryo rescue procedure have been optimized.
3. Pronounced abnormalities in the progression of microsporogenesis have been identified, providing an explanation for the partial or complete sterility observed in hybrid plants derived from crosses between durum wheat and *Aegilops umbellulata* and *Aegilops cylindrica*.
4. The applicability and effectiveness of SSR and ISSR markers in distant hybridization have been demonstrated for the detection of polymorphism and the analysis of introgressions, thereby confirming the hybrid nature of the developed backcross lines.
5. It has been established that the applied backcrossing strategy constitutes an effective tool for introducing novel alleles from distantly related species without compromising the principal agronomic attributes of durum wheat.

Scientific and Applied Contributions

1. Protocols for *in vitro* embryo rescue in durum wheat have been developed.
2. Durum wheat breeding lines have been developed through distant hybridization and a backcrossing strategy. These lines are currently undergoing competitive variety testing and contribute to broadening the genetic diversity for important agronomic traits.
3. Backcross lines derived from crosses involving *Triticum dicoccum*, *Triticum polonicum*, and *Triticum macha* have been identified as exhibiting the most favorable combination of traits associated with spike productivity and grain quality, with potential for recognition and release as new cultivars.

V. Quality evaluation of scientific publications, presenting the dissertation results

Three publications directly related to the dissertation research have been submitted, all of which were co-authored with the doctoral candidate's academic supervisor. One of these publications has been published in a scientific journal indexed and abstracted in the

internationally recognized Web of Science (All Databases) bibliographic and citation database. The cumulative score amounts to 33 points, thereby meeting the minimum threshold stipulated for the award of the educational and scientific degree "Doctor" under the Law on the Development of the Academic Staff in the Republic of Bulgaria.

The submitted abstract accurately and objectively reflects the structure and content of the dissertation.

VI. Critical remarks, questions and recommendations to the candidate

I have no critical comments or recommendations regarding the structure or scientific merit of the dissertation submitted for review.

I would, however, like to raise the following questions:

1. Which important traits have been introgressed from species of the genus *Aegilops*? In view of the low crossability observed, does the doctoral candidate consider it necessary to continue pursuing these hybridization crosses?
2. How does the doctoral candidate envisage the further development of the research based on the results obtained and the conclusions drawn from the dissertation?

CONCLUSION

As a result of the doctoral candidate's comprehensive and in-depth investigations, an extensive body of research has been conducted, encompassing meticulously designed and executed experiments and laboratory studies, the results of which constitute the scientific foundation of the dissertation. The dissertation presented is characterized by substantial innovative and original contributions to both the theoretical foundations and practical applications of durum wheat breeding. The doctoral candidate demonstrates a well-founded and methodologically sound approach to the evaluation and interpretation of experimental evidence, profound theoretical knowledge, and a high level of competence in the application of diverse research methodologies, as well as in the analysis, synthesis, and generalization of the results obtained. In view of the scientific and practical significance of the results and contributions presented, I consider that the dissertation meets the requirements stipulated by the Law on the Development of the Academic Staff in the Republic of Bulgaria and by the Regulations governing the conditions and procedures for the acquisition of scientific degrees and the appointment to academic positions within the Agricultural Academy.

These considerations provide sufficient grounds for me to give a **positive assessment** of the dissertation and to recommend that **As. Boryana Petrova Hadzhiivanova** be awarded the educational and scientific degree **"Doctor"** in the field of higher education 6. Agricultural Sciences and Veterinary Medicine, professional field 6.1. Plant Production, scientific specialty "Breeding and Seed Production of Cultivated Plants"

Date: 2.09.2026

Member of the scientific jury:
Associate Professor PhD Rangel Georgiev Dragov