

РЕЦЕНЗИЯ

Вх. № 84/01.03.2020.

От проф. дсн Светлин Генов Танчев

Член на Научно жури за оценка на дисертационен труд за получаване на ОНС „Доктор“ по научната специалност „Развъждане на селскостопанските животни, биология и биотехника на размножаването“, професионално направление 6.3 „Животновъдство“, област на висше образование 6 „Аграрни науки и ветеринарна медицина“

Информация за рецензента проф. дсн Светлин Танчев (определен за член на Научното жури със заповед номер РД 05-14 от 20.01.2020 г. на Председателят на ССА – гр. София

Научна организация – Тракийски университет, Аграрен факултет, Катедра „Генетика, развъждане и репродукция“.

Област на висше образование 6. Аграрни науки и ветеринарна медицина.

Професионално направление 6.3. Животновъдство

Научни специалности: „Развъждане на селскостопанските животни, биология и биотехника на размножаването“ и „Генетика“.

Тема на дисертационния труд: „Генетично разнообразие и нуклеотиден полиморфизъм на гени за месна продуктивност при свине“

Разработил дисертацията: Радостина Петрова Стойкова - Григорова

Научни ръководители: Проф. дн Пенка Маринова

Проф. дн Иван Атанасов

1. Информация за докторанта.

1.1. **Кратка биографична справка.** Радостина Петрова Стойкова – Григорова е родена в София. През периода 1997 – 2002 г. завършва висше образование в Биологически факултет на Софийски университет на ОКС „Магистър“ по специалността „Молекулярна биология“. След участие в конкурс е назначена на работа в ИЖН – Костинброд, където през периода 2003-2007 г. е

научен сътрудник III степен, а от 2007 до сега заема академичната длъжност асистент. През 2016 г. е зачислена като докторант на самостоятелна подготовка към същия институт. През целия период на своята научна кариера е публикувала 38 статии, участвала е в 10 изследователски проекта и в 13 научни форума. Ползва английски език и притежава компютърни умения и компетенции за работа с Internet, power point, word и excel.

2. Оценка на дисертационния труд.

2.1. Актуалност на темата. Развитието на свиневъдната наука в световен мащаб доведе до създаването на редица високопродуктивни породи и линии свине, които са в основата на промишленото свиневъдство, за производство на месо. Наред с икономическите интереси за високоефективно производство в това животновъдно направление, обаче световната наука фокусира перспективно своето внимание и към генетичните ресурси на автохтонните и местните породи свине, които може да са източник на уникални гени необходими за динамично променящите се изисквания на селекцията и възможностите за генетично подобряване на популациите, чрез методите на молекулярната биология. В този смисъл темата на проекта за дисертация е актуална тъй като изследванията се базират на две застрашени от изчезване български породи свине – Източнобалканска и Дунавска. От друга страна прилагането на модерни молекулярнобиологични методи за оценка на генетичното разнообразие в популациите на тези породи и търсенето на кандидат главни гени в полигенните блокове на количествени признаци, характеризиращи месната продуктивност още веднъж потвърждава актуалността на подобен род изследвания.

2.2. Структура и оформяне на дисертационния труд. Дисертацията е структурирана в десет раздела, които следват утвърдената за такъв научен труд последователност. Общо дисертационния труд включва 174 стандартни страници. Библиографската справка включва 245 заглавия на научни трудове, свързани директно или косвено с темата на изследване от които 44 на кирилица, а останалите на латиница. Наред с текстовата част в дисертацията са представени 28 фигури и 34 таблици. Като цяло дисертационния труд е структуриран много добре, което е предпоставка за постигането на добър стил в представянето на резултатите, обсъжданията и изводите.

2.3. **Оценка по раздели.** *Заглавието на дисертацията* ясно дефинира обхвата на проведените изследвания. *Въведението* е кратко, но целенасочено, ориентира читателя към въпросите и проблемите свързани с необходимостта за прилагане на съвременни методи на изследване с оглед подобряване на месната продуктивност в свиневъдството. *Литературният преглед* е много добре фокусиран върху темата и периметъра на изследването. Подреден е тематично в петнадесет раздела със съответни подраздели, които конкретизират насоките и постиженията в избраното научно направление. Изследванията на цитираните автори показват необходимостта от провеждането на задълбочени проучвания върху месната продуктивност в свиневъдството, чрез прилагането на съвременни методи на молекулярната биология. Това създава условия за откриването на генетични маркери и използването им в процеса на развъдната и селекционна дейност. *Целта* е поставена точно и ясно. Научния интерес и усилията на дисертанта са насочени към определяне на генетичното разнообразие чрез микросателитни маркери и молекулярно ДНК генотипиране по локусите на 3 гена свързани с месната продуктивност – Рианодин рецепторен (RYR 1), Миостатинов (MSTN) и Калпастатинов (CAST) при Източнобалканска (ИБС) и Дунавска (ДБС) породи свине. За изпълнение на тази цел са формулирани много добре седем конкретни задачи. Те показват определена етапност в процеса на проучването. *Материал и методи.* За разработване на дисертацията са използвани в съчетание подходящи съвременни и класически генетични, развъдни, физико-химични и статистически методи на изследване. Определянето на броя животните от двете породи за генетични изследвания, методите за вземане и обработка на пробите, броя на микросателитните локуси, както и дейностите по генотипирането са съобразени с критериите и препоръките на ФАО за провеждане на подобен род изследвания при свине (доклад-2011 г.). Въз основа на това за молекулярно генетични изследвания са използвани 63 женски и мъжки прасета от породата Дунавска бяла, от тях са генотипирани 53 животни (в.т.ч. 11 млади нерезчета). Същите проучвания при Източнобалканската порода свине са извършени върху 34 животни от две стада (стадо 1 n=20 и стадо 2 n=14). За микросателитния анализ са използвани 8 микросателитни маркера от ISAG/FAO - панел за свине. Генотипирането е извършено чрез PCR-RFLP анализ (анализ на полиморфизма по

дължината на рестрикционните фрагменти). Анализирани са алелното състояние на Рианодин рецепторен (RYSR 1), Миостатинов (MSTN) и Калпастатинов (CAST) гени, които имат отношение към месната продуктивност при животните. Молекулярно генетичните изследвания са проведени в Агробιο институт - ССА гр. София. Изследванията на контролираните селекционни признаци характеризиращи месната продуктивност са извършени върху 68 ремонтни прасета (в.т.ч. 11 нерезчета) от породата Дунавска бяла, отглеждани в Земеделски институт – Шумен. Контролирани са признаците живо тегло при раждане и на 21 ден, средно дневен прираст и възраст за достигане на 90 кг. жива маса. Прижизнената оценка на кланичните показатели е извършена *in vivo* с апарат PIGLOT 105 и включва измервания на дебелината на гръбната сланина, дебелината на M. longissimus dorsi и изчисляване на прогнозния процент постно месо. Физико-химичният анализ на месото и в частност на мускулите - м. longissimus dorsi и м. semimembranosum е извършен в лабораторията по месото на ИЖН Костинброд. Пробите от двата проучени мускула са взети от 14 животни от породата ДБС и 16 животни от породата ИБС. Проучени са следните показатели, характеризиращи качеството на месото – рН на 45 min. p.m. и на 24h., протеин, интермускуларни мазнини, миоглобин, водозадържаща способност, цвят, влага и пепел. Статистическите обработки на данните са извършени с подходящи софтуерни продукти (GENAlex) и математически модели на F – статистиката.

Резултати и обсъждане. Получените резултати може да бъдат разделени на 4 групи. Към първата група се отнасят резултатите, характеризиращи генетичното разнообразие определено чрез микросателитни маркери в популациите на двете проучвани породи. Установените алели и алелни честоти по изследваните локуси показват полиморфизъм в осемте микросателитни маркери. В стадо 1 на ИБС са идентифицирани общо 37 алела, а в стадо 2 – 33 алела. При породата ДБ са наблюдавани общо 58 алела. Изчислените средни стойности на очакваната (H_e) и наблюдавана (H_o) хетерозиготност, както и тези на F-индекса не показват наличие на хетерозиготен дефицит в стадата от двете породи. Установеният коефициент за генетична диференциация по отношение на всички локуси, изчислената стандартна генетична дистанция (D_{st}) и анализа на построената дендограма показват отчетлива генетична дистанция между двете стада на автохтонната

порода ИБС. При Дунавската порода стандартната генетична дистанция (Dst) и дендограмата не показват обособени клъстери, което е критерий за консолидация на стадото. Към втората група се отнасят резултатите от генотипирането по локусите на трите гена за месна продуктивност – RYR 1, MSTN и CAST. По отношение на Рианодин рецепторния ген при ИБС всички изследвани животни са имали хомозиготен доминантен генотип „NN“, което показва отсъствие на рецесивния алел „n“, който в дихомозиготно състояние обуславя стрес чувствителност при свине. Подобно е и положението при Дунавската порода, където при пълно отсъствие на неблагоприятния за селекцията хомозиготен рецесивен генотип „nn“ сред изследваните 53 животни е установено само едно с генотип „Nn“, което определя много ниска честота на хетерозиготната генотипна конфигурация. При изследване на породата ДБ по отношение на Миостатиновия ген (MSTN) е установен структурен частичен полиморфизъм. Той се отнася преди всичко до промоторния участък (MSTN promoter DraI) на гена. При другия промоторен участък (MSTN promoter MnlI), както и при екзон 3 (MSTN exon-3 TaqI), не е установен генетичен полиморфизъм. Третата група включва резултати характеризиращи фенотипните параметри на контролираните признаци за месна продуктивност на ремонтни прасета, представители на 8 линии на породата ДБ. Установени са средните стойности и коефициентите на вариране на признаци, детерминиращи тегловното развитие, угоителните качества и кланичните показатели определени чрез метода на in vivo оценка, като са изчислени коефициентите на фенотипни корелации между проучваните признаци. На пръв поглед тази група изследвания имат преди всичко потвърдителен характер, но в конкретния случай те са задължително условие и база за търсене на зависимости между признаците, обуславящи месната продуктивност и молекулярно генетичните характеристики като маркери за високо ефективна селекция. Именно в това се изразява и същността на четвъртата група резултати, които показват стремежа на докторанта да търси връзка между изследваните молекулярно генетични маркери и месодайните признаци на животните от двете породи. Интерес в това отношение представлява установеното достоверно влияние на хомозиготния генотип „DD“ на Калпастатиновия ген (CAST), генотипиран с рестриктазния ензим MspI върху живото тегло при раждане.

Като цяло раздел „Резултати и обсъждане“ е оформен много добре. В отделните подраздели се прави сполучлива съпоставка на получените резултати с резултатите на други автори.

Въз основа на получените резултати *в края на дисертационния труд са формулирани 13 извода и две препоръки*. Подредени в определена последователност всички те произлизат от същността на изследването и представляват важни финални елементи на дисертацията, придавайки и вид на окончателно завършен научен труд.

2.4. Оценка на научните приноси. Като елемент на самооценка в края на дисертационния докторанта е представил общо 5 научни приноса, от които 3 с теоретичен и 2 с научно-приложен характер. Без да променяме съществено тяхната формулировка считаме, че приносите може да бъдат представени по следния начин:

Група А – Научни приноси с теоретичен характер.

- За първи път чрез изследване на микросателитни маркери е направен анализ на генетичното разнообразие и генетичната структура на популациите на автохтонната порода ИБС и местната културна порода ДБ.

- Проучен е нуклеотидния полиморфизъм в локусите на гените Рианодин рецепторен (RYR 1), Миостатинов (MSTN) и Калпастатинов (CAST) и връзката му с някои угоителни и кланични признаци на свинете от двете породи.

Група Б – Научни приноси с приложен характер.

- Получената информация за алелното вариране въз основа на микросателитен ДНК анализ дава възможност за оценка и периодичен контрол на генетичното разнообразие в популациите на двете застрашени от изчезване български породи свине и набелязване на мероприятия за съхраняване и поддържане на генетичните им ресурси в оптимални граници.

- Установеният нуклеотиден полиморфизъм в локусите на проучваните гени и връзката му с признаци, характеризиращи месната продуктивност при свинете е основа за разработване на високо ефективни селекционни програми, базирани на молекулярно генетични маркери. Всичко това чертае нови перспективи за прилагане на съвременни подходи в управлението на селекционния процес в българското свиневъдство.

2.5. Оценка на публикациите. Във връзка с изследванията извършени съобразно целта и задачите на дисертационния труд са публикувани в съавторство общо четири научни статии. В авторските колективи докторанта винаги е на първо място. Три от тях са публикувани на български език в списание „Животновъдни науки“, а една в сборник доклади от научна конференция организирана от ИЖН Костинброд.

2.6. Оценка на автореферата. Представения автореферат отразява обективно структурата и съдържанието на дисертационния труд. Общия му обем включва 36 страници включително 26 фигури и 17 таблици.

2.7. Забележки, въпроси и препоръки. Тъй като участвах официално в заседанието на Разширения научен съвет на ИЖН Костинброд, където беше разгледан проекта на дисертацията мога да отбележа, че при окончателното му оформяне докторанта се е съобразил с по-голямата част от направените от мен и членовете на разширеното звено забележки и препоръки. Въпреки това си позволявам да повтора някои от тях и да формулирам няколко допълнителни елементи към този раздел, които се изразяват в следното:

- В раздел „Литературен обзор“ , в края на подраздел „Проучване на генетичното разнообразие при свине.....стр. 23“ е отбелязано „В достъпната ни литература понастоящем не намерихме изследвания базирани на съвременни методи на ДНК анализ за оценка на генетичните ресурси на породите свине отглеждани в България“. Още веднъж както и при предварителното обсъждане на дисертацията подчертавам, че така формулиран този абзац е неточен и некоректен. Изследвания чрез ДНК анализ и то върху една от породите, обект на настоящия дисертационен труд ДБС са извършени и от други български автори (например Методиев 2006, Стоянова 2011, Събев 2018), които дори са цитирани от докторанта (стр. 42). Можем само да предположим, че докторанта вероятно е имал предвид израза „.....базирани на микросателитен ДНК анализ....“.

- На какво се дължи сравнително високата степен на хетерозиготност и отсъствие на хетерозиготен дефицит установени във Вашите изследвания, въпреки силно редуцирания обем на популациите на двете породи, което ги характеризира като „застрашени от изчезване“ (извод 2).

- Защо според Вас влиянието на различни средови „негенетични“ фактори е причина за проява на стрес синдром при автохтонната порода ИБС, при която всички изследвани животни по RYR 1 са показали отсъствие на рецесивния алел „n“, свързан с проявата на PSE месо. Средовите фактори оказват не по малко влияние и върху индивидите на културната Дунавска порода свине, където обаче въпреки генотипното наличие на рецесивния алел „n“ в хетерозиготна конфигурация (макар и с ниска честота) не са установени стрес чувствителни животни и дефекти в качеството на месото. Това сравнение между двете породи налага допълнителни разяснения.

- Във втората препоръка за практиката е отбелязано, че установеното достоверно влияние на хомозиготния доминантен генотип „DD“ по отношение на CAST гена върху живото тегло при раждане определя този генетичен маркер като подходящ за включване в селекционната практика. А какъв ще бъде селекционният ефект, имайки предвид отрицателната корелация между живата маса на прасетата и броят им в прасилото?

- Получените резултати от изследванията в дисертацията са интересни, но считам, че в перспектива докторанта трябва да публикува резултатите от своите изследвания в авторитетни списания с импакт фактор (IF) и импакт ранг (SJR).

Направените малко на брой забележки и препоръки не намаляват научната стойност на дисертационния труд, а зададените въпроси дават възможност на докторанта, чрез съответни отговори да покаже своите научни познания и академични умения да говори пред аудитория.

3. Заключение. Представената ми за рецензиране дисертация притежава качествата на един завършен научен труд, който съчетава в себе си актуалност на темата, правилен избор на методите на изследване, много добре формулирани цел и задачи, много добре структурирани и представени резултати, както и финализиране на разработката, чрез конкретни изводи и препоръки. Без съмнение разработения дисертационен труд характеризира неговия автор Радостина Петрова Стойкова – Григорова като компетентен и изграден изследовател, който притежава знанията, уменията и потенциала да решава самостоятелно научни задачи в областта на генетиката и селекцията на животните. Всичко това ми позволява да дам много добра оценка и своя положителен вот, като препоръчвам

на Уважаемите членове на Научното жури да гласуват също положително за присъждането на ОНС „Доктор“ на Радостина Петрова Стойкова - Григорова по научната специалност „Развъждане на селскостопанските животни, биология и биотехника на размножаването“, професионално направление 6.3. Животновъдство, област на висше образование 6. Аграрни науки и ветеринарна медицина.

Гр. Стара Загора
17.08.2019 г.

Член на Научното жури и рецензент:.....

Проф. дсн Светлин Генов Танчев