

## РЕЦЕНЗИЯ

От д-р Теодора Атанасова Стайкова, доцент в ПУ “Паисий Хилендарски”

на дисертационен труд за присъждане на образователната и научна степен 'доктор'

в област на висше образование 4. Природни науки, математика и информатика  
професионално направление 4.3. Биологически науки  
докторска програма *Генетика*

Автор: *Вида Христова Георгиева*

Тема: **Генетично характеризирание на *Apis mellifera macedonica* (тип *rodopica*) – обект на Националната програма за развъждане на медоносните пчели в България**

Научни ръководители:

1. Проф. д-р Евгения Нешова Иванова - Пловдивски Университет “Паисий Хилендарски”
2. Проф. д-р Пламен Павлов Петров – Аграрен Университет, Пловдив

### 1. Общо описание на представените материали

Със заповед № Р33-3608 от 18.07.2016г. на Ректора на Пловдивския университет „Паисий Хилендарски“ (ПУ) съм определена за член на научното жури за осигуряване на процедура за защита на дисертационен труд на тема **Генетично характеризирание на *Apis mellifera macedonica* (тип *rodopica*) – обект на Националната програма за развъждане на медоносните пчели в България**, за придобиване на образователната и научна степен ‘доктор’ в област на висше образование 4. Природни науки, математика и информатика, професионално направление 4.3. Биологически науки, докторска програма *Генетика*. Автор на дисертационния труд е Вида Христова Георгиева – докторант в задочна форма на обучение към катедра Биология на развитието с научни ръководители:

1. Проф. д-р Евгения Нешова Иванова - от Пловдивски Университет „Паисий Хилендарски”
2. Проф. д-р Пламен Павлов Петров - от Аграрен Университет, Пловдив.

Представеният от докторантката Вида Георгиева комплект материали на хартиен носител е в съответствие с Чл.36 (1) от Правилника за развитие на академичния състав на ПУ и включва следните документи:

1. Молба до Ректора на ПУ за разкриване на процедура за защита на дисертационния труд.
2. Автобиография в европейски формат.
3. Диплома за завършена ОКС ‘магистър’ с приложение.
4. Заповед за зачисляване в докторантура.
5. Заповед за утвърждаване на промяна в темата на дисертационния труд.
6. Заповед за отчисляване от докторантура с право на защита.
7. Заповеди за провеждане на изпити от индивидуалния учебен план.
8. Протоколи за успешно издържани изпити по учебен план.
9. Протокол от катедрен съвет за готовност на докторанта за предварително обсъждане на дисертационния труд (протокол №328 от 31.05.2016г.).

10. Протокол от катедрен съвет за проведено предварително обсъждане на дисертационния труд (протокол №329 от 04.07.2016г.).
11. Дисертационен труд.
12. Автореферат.
13. Списък на научните публикации по темата на дисертацията.
14. Копия на научните публикации.
15. Декларация за оригиналност и достоверност на приложените документи.
16. Справка за спазване на специфичните изисквания на Биологическия факултет на ПУ.

Докторантът е приложил две публикации (едната в списание с IF), и писмо, удостоверяващо трета, която е приета за печат в международно реферирано списание.

## **2. Кратки биографични данни за докторанта**

Вида Христова Георгиева е родена на 31.12.1981 година. Завършва висше образование с ОКС „бакалавър”, специалност Зооинженер, в Аграрен Университет – Пловдив., през 2008 г. В интервала от 2008 до 2013 година завършва и ОКС „магистър” по специалности „Медицинска химия” и „Микробни биотехнологии” в ПУ „П. Хилендарски”. Притежава необходимата компютърна грамотност и владее английски език. В професионалния си път до този момент е работила като химик в клинична лаборатория, ветеринарен лаборант, рецепционист и др. Понастоящем работи като младши експерт в Регионална Здравна Инспекция – Пловдив, Микробиологична лаборатория.

Зачислена е в задочна докторантура със заповед Р 33-790 от 27.02.2013 г. Отчислена е с право на защита със заповед Р33-3101 от 16.07.2016 г.

Като член на изпитните комисии, пред които докторантката е полагала изпитите си от индивидуалния учебен план, мога да изкажа задоволството си от много добрата ѝ подготовка в хода на обучението и формираните умения за интерпретация на данни.

## **3. Актуалност на тематиката и целесъобразност на поставените цели и задачи**

Изучаването на вътрепопулационната и междупопулационна генетична изменчивост при стопанско ценните видове животни е от голямо значение за селекционните програми, в които са въведени. Дълги години селекцията на медоносната пчела в България е водена стихийно, като генофонда на местния подвид е бил подложен на генетичен натиск, резултат от безразборно и комерсиализирано внасяне на чужди подвидове. От 1999 г. се работи по утвърдена Програма за селекционна работа с пчелите и организация на майкопроизводството, насочена към типизиране на метизираните пчелни семейства от чисторасови български пчели и преминаване към чистопордното им развъждане. Програмата е базирана на морфо-етологични белези за расова принадлежност и продуктивни качества, и се ръководи от НРАП.

Целенасочени мащабни генетични проучвания на местните медоносни пчели, обект на сега действащата Национална селекционна програма, базирани върху изоензимни маркери обаче, не са провеждани. В този смисъл дисертационният труд на Вида Георгиева е актуален както в научен, така и в научно-приложен аспект, тъй като получените резултати не само внасят допълнителна яснота относно расовия статут на местната пчела, но и предпоставят методи за съхраняване на нейния генофонд.

Поставената в дисертационния труд цел е ясно и точно формулирана, а подбраните методи за последователното изпълнение на конкретните задачи, дават възможност за обективното ѝ разрешаване.

#### **4. Познаване на проблема**

Представената дисертационна разработка показва, че докторантката е добре запозната със състоянието на проблема в национален и световен мащаб, което ѝ позволява да направи подходяща интерпретация на получените в хода на изследването резултати. Литературният обзор (17 стр.) се базира на 112 от общо цитирани в работата 154 източника, публикувани в периода от 1935 до 2015 година, от които 86% са на латиница. Структуриран е в четири основни подраздела: история на пчеларството в България, класификация, разпространение и значение на медоносните пчели, състояние на изследванията върху изменчивостта на този вид в България и методични подходи, използвани за проучване на медоносните пчели. Включени са морфо-етологични и генетични проучвания, ползващи различни методики. Съдържанието на цитираната литература в последните два подраздела е оценено творчески и е използвано при описанието и интерпретирането на получените резултати.

Като забележка към този раздел, бих препоръчала изследванията, които са посветени на включените в дисертацията изоензимни маркери, да бъдат представени по-детайлно в литературния обзор. Би могло да се прецизира по-внимателно разпределението на информацията, включена в двата последни подраздела на обзора: „Състояние на изследванията върху изменчивостта на медоносните пчели в България” и „Методични подходи, използвани за проучване на медоносните пчели”, с оглед на това, че някои от методичните подходи (визирам популационно-генетичния анализ, базиращ се на изоензимни маркери) са използвани при изследване на български популации за анализиране именно на степента на генетична изменчивост. Самият раздел „Състояние на изследванията върху изменчивостта на медоносните пчели в България” е базиран изцяло на морфологични и етологични проучвания, което би следвало да бъде уточнено в заглавието на раздела.

#### **5. Методика на изследването**

Използваните методи и изследователски техники, са подходящо подбрани и адекватни на формулираната цел. Изследвани са общо 851 пчели работнички от 21 популации от различни бази на НРАП, които са разположени на територията на цялата страна и са под селективен контрол. Докторантката е усвоила метода на полиакриламидна нативна гел електрофореза на ензими, специфичните техники на хистохимично оцветяване, регистриране и интерпретиране на електрофоретичния спектър. Статистическата обработка на резултатите е направена със софтуерния пакет GenAIEx v.6.501. Въз основа на констатираната генетична дистанция, чрез PHYLIP софтуерния продукт, са построени дендрограми.

Прецизното изпълнение на конкретизираните задачи, поставени в дисертационния труд, доказва, че Вида Георгиева е придобила необходимия методичен опит за провеждане на научен експеримент.

Като забележка към този раздел, отбелязвам, че не са цитирани първоизточниците на методиките за проявяване на ензимите PGM, HK и ALP, въпреки, че самите методики са подробно описани.

#### **6. Характеристика и оценка на дисертационния труд**

Дисертационният труд е с обем от 138 страници, включително 17 таблици и 42 фигури. Спазено е добро структурно съотношение между отделните раздели: Увод – 2стр., Литературен обзор – 16стр.; Цел и задачи – 1стр.; Материал и методи – 22стр., основен превес има главата „Резултати и обсъждане” – 66стр., Заключение и изводи – 2стр.; Приноси – 2стр.; Цитирана литература – 12стр. Като приложение са включени още 7 таблици представящи сравнителни данни за изследваните популации (10 страници). Липсва съдържание и списък на използваните съкращения.

Дисертационният труд на Вида Георгиева представлява задълбочено научно изследване, в което въз основа на внимателно проучената литература, са подбрани и анализирани шест ензимни ситеми, демонстриращи генетично детерминиран полиморфизъм при вида *Apis*

*mellifera* L. Извършена е сериозна по обем експериментална работа. Констатирани са общо 21 алела на шест локуса. Сред изследваните 21 популации на *Apis mellifera macedonica* (тип *rodopica*) е установен триалелен полиморфизъм по MDH-1, ME, PGM и ALP локусите, четириалелен полиморфизъм по HK локус и пет алелен полиморфизъм по EST-3 локуса. Много добро впечатление прави фактът, че резултатите от проведения електрофоретичен анализ и направената интерпретация на спектъра, са добре онагледени с богат снимков материал, подготвен от докторантката. Въз основа на констатирания полиморфизъм са анализирани популационно-генетични параметри, характеризиращи генофонда и генотипната структура на популациите, степента на генетична изменчивост и диференциация. Получените резултати относно фиксационния индекс на Wright ( $F_{ST}$ ) и потока на гени ( $Nm$ ) корелират и показват ниско ниво на генетична диференциация в извадката от популации. Те са в съответствие и с данните от проведения асигнационен тест, който сочи изключително високо ниво на консолидация на изследваните популации медоносни пчели *Apis mellifera macedonica* (тип *rodopica*), резултат от продължителния и стриктен селекционен контрол, на който са били подложени през годините. Липсата на частни алели също показва генетична хомогенност на популациите, контролирани от НРАП.

Част от изчислените популационно-генетични параметри (среден брой алели за локус, среден брой ефективни алели, средни стойности на наблюдавана и очаквана хетерозиготност) показват, че популациите от развъдните бази за пчелни майки имат по-висок селекционен потенциал от тези на базите – производителки на рояци. Тези данни са изключително ценни за селекционерите и очертават приложния аспект на изследването.

На базата на публикувани вече резултати е направено сравнение между пчелните популации на *Apis mellifera macedonica* (тип *rodopica*), подложени на селекционен контрол и други български популации, както и популации на *Apis mellifera carnica* от Сърбия и Косово, също подложени на селекционен контрол. Сравнителният анализ показва, че сред отглежданите без прилагане на целенасочени селекционни мероприятия пчелни популации от територията на България, нивата на полиморфизъм рядко достигат 100%, за разлика от изследваните от развъдните бази. Констатираната генетична изменчивост в двете групи български популации е основно вътрепопулационна. По-високи нива на генетична диференциация са установени между българските популации *A. m. macedonica* (тип *rodopica*) и косовските *A. m. carnica*.

Дисертационният труд на Вида Георгиева попълва съществена ниша от липсваща информация за българската медоносна пчела, тъй като за пръв път предоставя данни за популационно-генетичния полиморфизъм по 6 ензимни локуси в популации, подложени на дългогодишен селекционен контрол и използвани като обект на целенасочена национална програма за развъждане, като ги сравнява, както с други български популации, които не са подлагани на целенасочена селекция, така и със селекционно контролирани популации на подвида *A. m. carnica*.

Като резултат от прецизно изпълнената и обемна експериментална работа и детайлното обсъждане на резултатите, са формулирани 7 извода, които отразяват коректно получените резултати и показват успешното изпълнение на поставените задачи и постигането на изследователската цел.

Напълно приемам формулираните в края на дисертационната разработка приноси.

## **7. Приноси и значимост на разработката за науката и практиката**

Показателни за значимостта на дисертационното изследване са изведените приноси с научен и научно-приложен характер, които бих могла да обобща по следния начин:

1. Установени са конкретни данни за генофонда, генотипната структура и степента на генетична диференциация на популации български медоносни пчели *Apis mellifera macedonica* (тип *rodopica*), които са подложени на дългогодишен селекционен контрол и са включени в Националната програма за развъждане.

2. Установени са специфични генетични показатели (диагностични алели), подходящи за разграничаване на популациите *Apis mellifera macedonica* (тип *rodopica*), подложени на селекционен контрол и селекционно контролирани популации на *Apis mellifera carnica*.
3. Установено е, че изследваните български популации *Apis mellifera macedonica* (тип *rodopica*), подложени на селекционен контрол се характеризират с ниско ниво на генетична диференциация, високо ниво на консолидация и общ висок селекционен потенциал.

Потвърдителните приноси са свързани с удачно подобрените маркерни системи, констатирания множествен ателизъм по изследваните локуси и сравнително ниското ниво на генетична диференциация на българските популации медоносни пчели.

Всички тези данни имат както фундаментално значение за апидологията изобщо, така и приложно значение, тъй като могат да бъдат използвани в разработваните програми за селекция и консервацията на генетичния ресурс на този вид у нас.

### **8. Преценка на публикациите по дисертационния труд**

Във връзка с дисертационния труд са представени 3 публикации в реферирани списания (*Acta Zoologica Bulgarica*, *Journal of BioScience and Biotechnology* и *Journal of Central European Agriculture*), написани на английски език. Едната от тях е публикувана в списание с IF. Две от публикациите са излезли от печат, а едната е приета за печат, което е удостоверено с официално писмо. Докторантката има и едно участие във Втората Национална конференция за млади учени “Биологически науки за по-добро бъдеще”, проведена на 30-31 Октомври 2015 г. в Пловдив, България. В две от публикациите, както и в материала, докладван на конференцията, тя е първи автор.

### **9. Лично участие на докторантката**

Представеният дисертационен труд е успешният завършек на положения от Вида Георгиева труд в хода на обучението ѝ като докторант, под вещото ръководство на научните ѝ ръководители. Тя е първи автор в две от представените три публикации, както и в докладвания на Втората Национална конференция за млади учени “Биологически науки за по-добро бъдеще”, 2015г. материал. Това също доказва личното ѝ участие в разработването на дисертационната теза, интерпретацията на получените резултати и извеждането на формулираните приноси.

### **10. Автореферат**

Представеният автореферат е оформен според изискванията в обем от 52 страници и отразява основните резултати, описани в дисертационния труд.

### **11. Критични забележки и препоръки**

Имам следните забележки и въпроси към дисертационния труд и докторантката, които са свързани с описаните резултати и предложената интерпретация:

1. Допуснато е неточно означаване на генотиповете при отчитане на някои електрофореграми. Например: Във фиг. 4, която представя електрофоретичния спектър на MDH, генотипът на индивид №21 е хомозиготен по алела MDH-1<sup>65</sup>, а не хетерозиготен, както е посочено. Фенотипът на индивиди №17, 18, 19, 20, 21, 22 и 23, онагледен чрез фиг.8 е различен, а в легендата към фигурата е посочено, че всички тези индивиди са от един и същи генотипен клас.
2. На стр. 47 са изброени популациите, в чийто генофонд е констатиран двуалелен полиморфизъм по MDH-1 локуса. Популацията Торос липсва, въпреки, че в генофонда ѝ е отчетен същия тип полиморфизъм.

3. На стр. 50, 56 и др. в текстовата част, в която се описват изчислените стойности на получена и очаквана хетерозиготност по MDH-1, ME и другите локуси, не е посочена таблица, представяща тези резултати.
4. При определяне на степента на полиморфизъм неправилно е посочен използваният критерий 0.95.
5. Допуснати са някои технически грешки, като например във формулирания извод 2 посочените стойности на получена и очаквана хетерозиготност са разменени.

Във връзка с липсата на някои обяснения към установени резултати, имам следните въпроси:

1. На стр. 51 са описани отчетените генотипни комбинации по ME locus, които демонстрират триалелен полиморфизъм. Как бихте обяснили липсата на шестия възможен генотип по този locus (ME<sup>90</sup>/ME<sup>106</sup>)?
2. Имате ли хипотеза, обясняваща факта, че от всички изследвани популации, в чийто генофонд е констатиран полиморфизъм по EST-3 locus (общо 18 популации), само в една (популацията от Димовци), не се констатира равновесие по закона на Харди – Вайнберг по този locus?
3. Кой критерий за полиморфизъм е използван в изследването – 0.95 или 0.99?
4. Как си обяснявате факта, че повечето от наблюдаваните отклонения от генотипното равновесие по Харди-Вайнберг са в полза на хетерозиготите (стр.90)?
5. За проведения сравнителен анализ между популации на двата подвида *A. m. carnica* - от Сърбия и Косово, и *A. m. macedonica* (тип *rodopica*) - от България, сте подбрали седем от българските популации, намиращи се под селекционен контрол. Въз основа на какво (на какъв критерий) избрахте точно тези популации?
6. Във връзка с формулирания извод №6, бихте ли конкретизирали кои са тези „специфични генетични показатели“, подходящи за разграничаване на популациите на *Apis mellifera macedonica* (тип *rodopica*) и *Apis mellifera carnica*!

## 12. Лични впечатления

Като член на катедра „Биология на развитието“ и част от екипа по Генетика, познавам Вида Георгиева от деня, в който тя се яви на конкурсния докторантски изпит. От този момент нататък съм пряк свидетел на огромния труд, който тя положи в хода на обучението си, минавайки през изпитите от индивидуалния план, усвоявайки методите на популяционно-генетичния анализ. Мога да споделя, че Вида Георгиева е прецизен млад човек, който с упоритост и всеотдайност проведе всички лабораторни експерименти, обработи и интерпретира получените резултати.

## 13. Препоръки за бъдещо използване на дисертационните приноси и резултати

Препоръчвам резултатите от направеното генетично характеризирание на популациите от *Apis mellifera macedonica* (тип *rodopica*) да бъдат предоставени на селекционерите, за да могат да бъдат използвани в по-нататъшните програми по консервация на местната медоносна пчела.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Дисертационният труд на Вида Георгиева представлява цялостно и задълбочено популяционно-генетично изследване, което съдържа научни и научно-приложни резултати, които представляват оригинален принос в науката и отговарят на всички изисквания на Закона за развитие на академичния състав в Република България (ЗРАСРБ), Правилника за прилагане на ЗРАСРБ и съответния Правилник на ПУ „Паисий Хилендарски“. Представените материали и дисертационни резултати напълно съответстват на специфичните изисквания на Биологическия факултет, приети във връзка с Правилника на ПУ за приложение на ЗРАСРБ.

Дисертационният труд показва, че докторантката Вида Георгиева притежава задълбочени теоретични знания и професионални умения по научна специалност Генетика и в хода на обучението си е придобила умения за самостоятелно провеждане на научно изследване.

Поради гореизложеното, убедено давам своята **положителна оценка** за проведеното изследване, представено от рецензираните по-горе дисертационен труд, автореферат, постигнати резултати и приноси, и **предлагам на почитаемото научно жури да присъди образователната и научна степен 'доктор'** на Вида Христова Георгиева в област на висше образование: 4. Природни науки, математика и информатика, професионално направление 4.3. Биологически науки, докторска програма Генетика.

20.09. 2016 г.

Рецензент: .....

Доц. д-р Теодора Стайкова