

РЕЦЕНЗИЯ

от д-р Елица Петрова Петрова-Павлова, доцент, Директор на Институт по рибни ресурси-Варна

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

в област на висше образование 4. Природни науки, математика и биоинформатика, професионално направление 4.3. Биологически науки, докторска програма Молекулярна биология

Автор: Фериха Мюмюнова Церкова

Тема: „Проучване на биоразнообразието и популационната динамика на сем. Gobiidae (Попчета) в Черно море посредством молекулярни маркери“

Научен ръководител: Проф. д-р Илия Димитров Денев, катедра „Физиология на растенията и молекулярна биология“ на ПУ „Паисий Хилендарски“; и Проф. д-р Даниела Петров Клисарова, Институт по рибни ресурси, гр. Варна

1. Общо описание на представените материали

Съгласно заповед № Р33-117 от 11.01.2018 г. съм определен за член на научното жури за осигуряване на процедура за защита на дисертационен труд на тема **„Проучване на биоразнообразието и популационната динамика на сем. Gobiidae (Попчета) в Черно море посредством молекулярни маркери“** с автор Фериха Мюмюнова Церкова 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: „Молекулярна биология“.

Представеният от Фериха Мюмюнова Церкова комплект материали на хартиен носител е в съответствие с Чл.36 (1) от Правилника за развитие на академичния състав на ПУ, включва следните документи:

1. молба по образец до ректора за откриване на процедура;
2. автобиография по европейски формат;
3. диплома за образователно-квалификационна степен „магистър“ с приложение;
4. протокол от КС за готовността на кандидата за предварително обсъждане;
5. протокол от предварителното обсъждане в катедрата;
6. автореферат;
7. декларация за оригиналност и достоверност на приложените документи;

8. справка за спазване на специфичните изисквания на съответния факултет;
9. списък на публикациите;
10. дисертационен труд;
11. копия на публикациите по темата на дисертационния труд (2 бр.);
12. заповед за зачисляване в докторантура;
13. заповед за отчисляване от докторантура;
14. заповеди за комисии за провеждане на изпитите от индивидуалния учебен план;
15. протоколи за издържани изпити от индивидуалния учебен план;
16. други документи, съобразно специфичните изисквания на ФС;

2. Кратки биографични данни за докторанта

Фериха Церкова работи в Институт по рибни ресурси - Варна от 2010 г. и има общо 7 години професионален стаж в секция Ихтиология. В института е заемала последователно длъжностите: биолог и асистент. Зачислява се в докторантура в през 2013 г. в ПУ „Паисий Хилендарски“, задочна форма на подготовка. Участник в 15 проекта на ИРР-Варна, 19 статии, от които 3 свързани с дисертацията и 3 с импакт фактор. Участвала е в тренировъчен курс “Интегрирана оценка чрез модел - Stock Synthesis (SS3)”, Рим, Италия и семинар-обучение за оценка на мерките за управление на риболова на калкан в Черно море към ГКРСМ, Национален изследователски институт за развитие на морските изседвания „Григоре Антипа“, Констанца, Румъния.

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

Семейство попчета (*Gobiidae* Regan, 1911) е един от най-многобройните сред костните риби, а и сред гръбначните животни, включващо повече от 2000 вида групирани в 5 подсемейства и 230 рода (Nelson, 1994; Hoese & Larsen, 2006).

Разграничаването на таксономичните особености в рамките на семейството *Gobiidae* включва различни видове характеристики: морфологични, физиологични, молекулярни, поведенчески, екологични и географски. Морфологичните и молекулярни символи са най-често използваните в съвременното изследване на попчетата (Kovačić, Pallaoro 2003, Ivanova, P., 2013). Използването на молекулярна систематика на попчетата ще позволи разрешаването на сравнителни еволюционни въпроси, вариращи от биогеография, еволюция и модели на диверсификация от тези риби. Поради малкия си размер и липса на таксономическа и морфологична информация, попчетата все още се разглеждат като една от най-трудните групи риби за класифициране и идентифициране (Winterbottom 1984, в Sorice, Caputo 1999).

Поради необходимостта от допълване и разширяване на изследванията по отношение на видовото разнообразие, местообитания и разпространение на тази група риби, като компонент от структурата на ихтиоценозите в Черно море, настоящата разработка е изключително актуална и навременна. Използвани са молекулярни методи, които дават светлина върху систематичните отношения на понтокаспийските видове с тези от Средиземно море, Атлантическия океан и Северно море, като се има предвид, че някои от понтокаспийските почета са силно инвазивни и са се разселили в Балтийско море, Северно море и реките в Европа и големите езера в САЩ.

Основна цел на разработката е изследване на биоразнообразието на представителите на сем. *Gobiidae* в Черно море, посредством вариабилността на гена кодиращ цитохром б, като се акцентира на промишлено значимите видове по българското черноморско крайбрежие.

За постигане на основната цел са дефинирани следните задачи: Събиране на промишлено значими видове от сем. *Gobiidae* от различни участъци на българското черноморско крайбрежие и определяне на видовата им принадлежност по морфологични и мофрометрични белези; Изолиране на обща ДНК от уловените видове на сем. *Gobiidae* и изготвяне на праймери, които позволяват изолиране на генът кодиращ цитохром б от митохондриалния геном на представителите на сем. *Gobiidae*; провеждане на сравнителни анализи на получените секвенции, за получаване на таксономично значими резултати; анализиране на анализирани нуклеотидни полиморфизми в секвенциите на *Cyt b* и в тези анотирани в NCBI за да се изследва вътревидовото разнообразие и тенденциите в динамиката на популациите при уловените образци от различни географски райони; анализиране на междувидовите филогенетични връзки при близкородствени видове.

4. Познание на проблема

Разработката обхваща 17 местообитания пред целия български бряг от Дуранкулак до Ахтопол, които предлагат благоприятни условия за развитието им и са от значение за природозащитния им статус, който се обуславя в значителната степен от ендемизъм при почетата за отделните географски райони и водни басейни и тяхното видово разнообразие.

Литературният обзор е структуриран в 4 глави, докторант Ф. Церкова е направила детайлно описание на историческото и съвременното състояние на Черно море както и биоразнообразието на черноморските попчета в контекста на класическата систематика. Описани са биохимичните и молекулярните методи, прилагани за таксономичен и филогенетичен анализ на сем. *Gobiidae* като е обърнато внимание на перспективите за секвениране на митохондриални геноми при риби.

Литературният обзор се позовава на 221 научни публикации, голяма част от които са от последните няколко години. Доброто познаване на проблематиката е позволило на докторант Ф. Церкова да формулира целта на проведеното изследване и да обоснове задачите за нейното постигане. Специално внимание е придадено на молекулярните маркери и тяхното използване в съвременните изследвания на рибите и в частност на сем. *Gobiidae*.

5. Методика на изследването

Методиката на изследването включва необходимите класически и съвременни подходи с оглед поставената цел и задачите на дисертационния труд, а именно: Определяне на видовата принадлежност чрез морфологични белези, изолиране на ДНК, PCR – базирано изолиране на маркерни гени, секвениране и биоинформатичен анализи с цел дизайн на праймери. Изследвани са общо 302 представители на сем *Gobiidae*, от които 225 бяха уловени от различни райони по Българското, Турското и Румънското черноморско крайбрежие, 3 от Азовско море, а 74 уловени от реките Рейн и Мозел. Уловите са реализирани с различни риболовни уреди – въдици, парагради, мрежи, риболовни кошове, тралове и електрофишър. Получените в резултат на секвенирането данни са подложени на биоинформатичен анализи по методите Maximum likelihood и Neighbor joining, с прилагане на молекулен часовник посредством софтуер MEGA 7 (Kumar et al., 2016), а честотата на хаплотиповете се определя чрез програмата DnaSP Ver. 5.10.01 (Librado and Rozas, 2009).

6. Характеристика и оценка на дисертационния труд

Дисертационният труд е представен на 159 стандартни страници, структуриран в 9 раздела, включва 28 фигури и 20 таблици. Използваната литература се базира на 221 заглавия. Разделът "Резултати и обсъждане" отразяващ експерименталната част от дисертацията е структуриран в две основни направления: 1) Изследване на видовете от понто-каспийската група и 2) Изследване на попчетата мигрирали от Средиземно море. Тази глава следва логиката на поставените задачи за изпълнение на основната цел. Обхванати са 5 рода попчета – *Aphia*, *Gobius*, *Mesogobius*, *Neogobius*, *Zosterisessor* за които са изготвени праймери за

изолиране на Cyt b от митохондриалния геном; направен е биоинформатичен и молекулярно таксономичен анализ на изолираните секвенции.

От направените изводи се очертава, че извършените филогенетични анализи на базата на изолираните секвенции от гена кодиращ Cyt b показват ясно разграничаване в два клона - на понто-каспийската и средиземноморската групи видове.

Най-често срещан и най-широко разпространен има вида *Neogobius melanostomus*. На вътревидовото ниво са установени 31 хаплотипа, като преобладаващата част от тях имат локално разпространение. След прекъсване на връзката между Черно и Каспийско морета локалните хаплотипове търпят паралелна еволюция. Останалите два вида от понто-каспийската група с широко разпространение са *Neogobius cephalargoides* и *Mesogobius batrachocephalus*.

От видовете принадлежащи към групата на средиземноморските мигранти само *Gobius niger* е широко разпространен в Черно море. Хаплотип б преобладава и е в етап на разширение и заемане на нови ниши. Вече са се формирали локални популации представени от хаплотипове Н7 в района на н. Калиакра, Н8 в района на Трабзон - Турция и Н1 в Ялтенския залив.

Докторантката е вложила изключително много усилия при събиране и съхраняване на биологичните образци използвани за анализите. В целостта си резултатите представени в разработката са добре структурирани и документирани, подкрепени с необходимата съвременна литература по темата, което показва че докторантката е усвоила теоретически и практически използваните методи както и да интерпретира данните. Изолирането на ДНК, определянето на количеството изолирана ДНК, PCR с дегенеративни праймери за цитохром б и субединица 1 на цитохром оксидазата, екстракция на PCR фрагментите от гел, секвениране и биоинформатични анализи, показва че Ф. Церкова успешно прилага използваните методи необходими за решаване на задачите и постигане на основната цел.

7. Приноси и значимост на разработката за науката и практиката

Приносите на дисертационния труд са разделени на три части: оригинални, научно-приложни и с потвърдителен характер.

Оригинални приноси: Извършено е първото широкомащабно изследване на черноморските попчета чрез ДНК секвенции и подробно кладистично преразглеждане и реконструкцията на филогенетичните отношения на понто-каспийските попчета и

средиземноморските мигранти, основани на ДНК последователности в България; Изолирани са нови 302 секвенции на цитохром б от сем. Gobiidae и е заявено тяхното аотиране в NCBI;

Научно приложни приноси: Разработени са набор от праймери, които позволяват да се изолира почти цялата секвенция на Cyt b между позиции 1 и 856, които са ген-специфични за всеки отделен вид от трите рода и могат да се използват като PCR базирани молекулярни маркери разграничаващи видове попчета сходни по морфологични белези дори без секвениране;

Приноси с потвърдителен характер: Потвърждава се родовата принадлежност на черноморските попчета *Neogobius melanostomus* с тези, които обитават Евразия и Големите езера в Северна Америка, както и родовата принадлежност на средиземноморските мигранти навлезли в Черно море с видовете, които обитават Средиземно море.

8. Преценка на публикациите по дисертационния труд

От представените три публикации, свързани с дисертационния труд, първата е публикувана в Bulgarian Journal of Agricultural Science, втората в Journal of BioScience and Biotechnology, а третата в Acta Zoologica Bulgarica [IF(2017) =0.413].

И в трите публикации докторантката е първи автор, което свидетелства, че има основен принос и активно участие в изследванията довели до публикуването им.

Една от публикациите е цитирана в списание Aquatic Invasions , 2017, 12: 551– 564.

9. Автореферат

Авторефератът отразява съдържанието на дисертацията и е оформен съгласно изискванията. Представени са основните раздели и резултати от дисертационния труд.

10. Препоръки за бъдещо използване на дисертационните приноси и резултати

Дисертационният труд е добре структуриран и подкрепен с онагледяващи фигури и снимки. Допуснати са неточности и грешки при изписване на отделни съкращения, напр. Цитохром б – на места е отбелязан с латинска буква b, а на други места с българска буква б. Неправилно, е написаното че попчетата са втория най-значим обект след тризоната в нашия промишлен риболов, въпреки че се реализират известни количества при стопански и спортен улов. Бих препоръчала да се продължат изследванията, които ще дадат по-ясна представа за разпространението и разграничаването на видовете от сем. Gobbies с оглед на природозащитния им статус, навлизането на инвазивни видове и мигранти от Средиземно море.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Дисертационният труд *съдържа оригинални научни, научно-приложни резултати, които представляват оригинален принос в науката* и отговарят на изискванията 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 Биологически факултет, приети във връзка с Правилника на ПУ за приложение на ЗРАСРБ.

Дисертационният труд показва, че докторантката Фериха Мюмюнова Церкова притежава задълбочени теоретични знания и професионални умения по научна специалност „Молекулярна биология“ като демонстрира качества и 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 образователната и научна степен ‘доктор’ на **Фериха Мюмюнова Церкова** в област на висше образование: 4. Природни науки, математика и биоинформатика, професионално направление 4.3. Биологически науки, докторска програма Молекулярна биология.

31.01.2018 г.

Рецензент:

/Доц. д-р Елица Петрова – Павлова/