

РЕЦЕНЗИЯ

от Нася Борисова Томлекова

Професор в Институт по зеленчукови култури „Марица“, Селскостопанска академия

на дисертационен труд за присъждане на образователната и научна степен „доктор“

по област на висше образование: 4. Природни науки, математика и информатика

професионално направление: 4.3. Биологически науки

докторска програма: „Молекулярна биология“

Автор: Даринка Каменова Бояджиева–Дойчинова

Тема: Молекулярно таксономично изследване на семейство Clupeidae (селдови) в българската акватория на Черно море

Научен ръководител: доц. д-р Атанас Димов Арnaudов

1. Общо описание на представените материали

Със заповед № РД-22-2040 от 23.10.2025 г. 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 „Молекулярно таксономично изследване на семейство Clupeidae (селдови) в българската акватория на Черно море“ 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. Автор на дисертационния труд е Даринка Каменова Бояджиева–Дойчинова – редовен докторант към катедра „Молекулярна биология“ на Биологическия факултет (БФ), с научен ръководител доц. д-р Атанас Димов Арnaudов от ПУ „Паисий Хилендарски“.

Представеният от Даринка Бояджиева–Дойчинова комплект материали на хартиен носител е в съответствие с Чл.36 (1) от Правилника за развитие на академичния състав на ПУ. Той включва следните документи:

- молба за разкриване на процедурата за защита на дисертационен труд;
- автобиография в европейски формат;
- протокол от катедрения съвет, отразяващ готовността за откриване на процедурата и предварителното обсъждане на дисертационния труд;
- дисертационен труд;
- автореферат;
- списък на научните публикации по дисертационната тема;

- копия на научните публикации;
- декларация за оригиналност и достоверност на приложените документи;
- справка за спазване на минималните национални изисквания.

Приложени са 3 броя публикации от докторанта, отразяващи коректно основните резултати от изследването. Те надвишават минималните национални изисквания за обучението в ОНС „доктор“.

Материалите са оформени правилно, без липсващи документи, като са предадени на хартиен и електронен носител.

2. Кратки биографични данни за докторанта

Даринка Каменова Бояджиева–Дойчинова е завършила с отличие специалност „Биология и химия“ на БФ при ПУ през 1999 г. Използва английски език. Научната ѝ активност включва работа като асистент от 2000 до 2021 г. с извеждане на упражнения по Физиология на човека и животните, а от 2021 г. досега - с подготовката на упражнения. Автор е на общо 8 публикации и 4 участия в научни конференции, които показват последователна научноизследователска мотивация. Тя е докторант в редовна форма на обучение към катедра „Молекулярна биология“ на Биологическия факултет при Пловдивския университет „Паисий Хилендарски“. Образованието и професионалната ѝ подготовка са в областта на биологическите науки, с акцент върху молекулярната биология, екологията и методите за изследване на биологичното разнообразие. В пряка връзка с тематиката на дисертационния труд са придобитите знания и умения в областта, които създават добра основа за провеждане на качествено научно изследване.

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

Дисертационната работа предлага практически целенасочено изследване, много необходимо за България. Тя съчетава черноморската биология, отговаря на екологичното направление, тъй като дискутира динамичните изменения в Черно море, свързани с климат и интродуцирани видове и не на последно място антропогенния натиск. Значението на видовете *Sprattus sprattus*, *Alosa immaculata*, *Alosa caspia* е голямо за риболовната индустрия. Таксономичното изследване на сем. Clupeidae в Черно море е актуална тематична област, поради необходимостта от надеждна идентификация на видовете в семейството. Съвременната молекулярна таксономия в дисертационния труд чрез PCR на таксономично значими гени, както и данни за нуклеотидните секвенции на ампликони от тях, я извежда на научно обосновано ниво.

4. Познаване на проблема

Докторантът демонстрира задълбочено познаване на таксономичните особености на сем. Clupeidae, правилен подбор на гени, както и методите за тяхното изследване, като ги прилага за бар-

кодиране на видовете, филогенетичен анализ и биоинформатика. Представената литература е актуална, съвременна и правилно интерпретирана.

5. Методика на изследването

Материалът, обект на изследванията, е събран от различни райони на българската акватория, ясно посочени на изготвената за целта карта и таблици 1 до 5 в Приложението.

Методите, включени в проучването са: (1) морфологични и морфометрични измервания; (2) ДНК изолиране; (3) PCR амплификация на подходящи маркери; (4) ампликонно секвениране с последващ биоинформатичен анализ; (5) филогенетичен анализ.

Методиката е правилно подбрана с оглед постигане на целта на изследването. Позволява изпълнение на поставените задачи и отговаря на съвременните изисквания за научна валидност.

6. Характеристика и оценка на дисертационния труд

Дисертационният труд е структуриран в дванадесет раздела, проследява логично изследователския процес от формулиране на проблема до анализ на резултатите и има ясна научна обоснованост.

Увод и литературен обзор – представена е актуалността, систематиката и биоразнообразието на семейство *Clupeidae*, стопанското им значение и съвременните биохимични и молекулярни методи за таксономични и филогенетични анализи. Таблица 1 систематизира морфологични характеристики по данни от водещи автори и подпомага съпоставката с молекулярните данни. Най-обширно е разгледан наборът от молекулярни маркери и тяхното приложение за семейството.

Цел и задачи – формулирани ясно.

Материали и методи – подробно описание на образците, морфологичните подходи, молекулярните протоколи за ДНК изолиране, конструиране на праймери, PCR, секвениране, както и биоинформатичната обработка, статистиката и визуализацията. Разпределението на образците по установени SNPs е представено чрез кладограми.

Избраните митохондриални гени *Cyt b* и *NADH1* са от най-често използваните маркери за риби, а ядреният маркер *ITS1* осигурява независима информация за разграничаване на близкородствени таксони; *ITS* се използват широко като ядрени маркери, въпреки че подлежат на специфични еволюционни ограничения, което допълнително оправдава комбиниран подход.

Резултати – изчерпателен раздел с анализи на *NADH1* (975 bp), *Cyt b* (~350 bp) и *ITS1* (~300 bp) при родовете *Alosa*, *Sprattus*, *Sardina* и *Sardinella*, включително праймери, PCR продукти, алайнменти, SNP варианти и кладограми. Данните са обработени с подходящ софтуер за всеки маркер. Например, *in silico* транслация показва, че SNPs в *Cyt b* при *Alosa* са тихи мутации, при *Sprattus* *NADH1* замените също са тихи мутации; множественият алайнмент разкри, че част от морфологично определените *S. pilchardus* всъщност, принадлежат към други видове. При род *Sardina* показва, че четири екземпляра, морфологично определени като *S. pilchardus*, не принадлежат към този вид: образец 1 е *A. immaculata*, а образци 2–4 са *S. aurita*. Резултатите при анализа на *ITS1* по видове са следните: *A. immaculata* (n=7) – групират се заедно, вероятно обща популация. *A. caspia* (n=2) – не образува хомогенна група; образува общ клъстер с *A. immaculata*, като двата вида са ясно различни. *S. pilchardus* (n=2) – идентични

секвенции, представляват една популация. *S. sprattus* (n=11) – разделени в южна и северна подгрупа, вероятно са две субпопулации в Черно море.

Обсъждане – сравнено е с литературни данни; при *Alosa* се откриват стабилни генетични групи с ниска диференциация и частично припокриване. *A. caspia* – ясно разграничима чрез две специфични SNP позиции, *A. immaculata* – генетично хомогенна група. *A. species* – най-отдалечена генетично група; 11/13 уникални SNPs и вътрешна хетерогенност, поради което е възможно да са представители на нова популация, нов таксон или хибридна линия; ~99% сходство с *A. fallax*/ *A. immaculata*. В редки случаи се установява несъответствие между морфологичните и молекулярните данни вероятно, обусловено от ниската генетична дистанция (0,8–1%) между *A. immaculata* и *A. caspia*, която затруднява надеждната им морфологична диференциация. При *Sprattus* – нехомогенна популационна структура в Черно море, вероятни местни популации.

Изводи – морфологичните определения на 155 образци са потвърдени чрез *NADH1*, *Cyt b* и *ITS1* с малки изключения; ясно генетично разграничение между *A. immaculata* и *A. caspia*; генетична хетерогенност при род *Sprattus*; съпоставими топологии от различни методи на реконструкция, което потвърждава надеждността на резултатите.

Общата оценка е висока: структурата е логична, материалът достоверен, методите последователни, таксономичният подход аналитичен, кладограмите правилно обработени, популационните връзки изведени. Графики, таблици и фигури добре представени; заключенията и изводите са аргументирани.

7. Приноси и значимост на разработката за науката и практиката

Дисертационният труд представя първото молекулярно-таксономично изследване на сем. Clupeidae в българската акватория на Черно море и въвежда нови данни за филогенетичните отношения между представените в него таксони чрез анализ на митохондриалните гени *NADH1* и *Cyt b*, както и на ядрения маркер *ITS1*. Сред основните приноси се откроява аотирането и депозирането в NCBI на 48 нови последователности на гена *NADH1* при рода *Alosa*, което значително разширява глобалния генетичен ресурс. Важен резултат е и изграждането на колекция от 155 ДНК проби от представители на родовете *Alosa*, *Sprattus*, *Sardina* и *Sardinella*, осигуряваща надежден референтен материал за бъдещи таксономични, популационни и консервационни проучвания.

Конструираниите ген-специфични праймери и оптимизирани PCR условия гарантират възпроизводима амплификация на целия ген *NADH1* и фрагменти от *Cyt b* и *ITS1*, като по този начин поставят методологична основа за прецизна молекулярна идентификация на селдови. Трудът за първи път предлага цялостен методологичен подход за разглежданите видове, комбиниращ четири филогенетични методи – максимална пестеливост, максимално подобие, Баезиева статистика и групиране по съседство. Той създава научна база, която може да бъде използвана в бъдеще за популационно-генетични и природозащитни усилия, свързани със стопански значими за рибарството и екологията видове.

Изследването има както фундаментално научно значение, така и практическа стойност за управлението на рибните ресурси и природозащитните дейности в Черно море.

8. Преценка на публикациите по дисертационния труд

Статиите са публикувани в *Acta Zoologica Bulgarica* (международно рецензирано списание) на английски език, с трима и повече съавтори. Те са от периода на зачисляване на дисертанта. Докладите са представени в трудове на научни конференции с международно участие – 3 броя. Показателите отговарят на минималните национални изисквания. Публикациите коректно отразяват основните резултати на дисертацията. Индивидуалният научен принос на докторанта е ясно очертан с факта, че е първи автор в трите публикации.

9. Лично участие на докторанта

Въз основа на анализа на използваните методи, оформлението на дисертационния труд и представените публикации считам, че докторантът е осъществил самостоятелно по-голямата част от експерименталната работа, включително провеждането на молекулярните анализи, обработката на данните и тяхната интерпретация. Документираните резултати свидетелстват за реален научен принос от страна на докторанта.

10. Автореферат

Авторефератът е изготвен в пълно съответствие с установените изисквания и представя по ясен и систематичен начин структурата, методите, резултатите и приносите на изследването. Неговото съдържание напълно съответства с това на дисертационния труд.

11. Критични забележки и препоръки

В бъдеще може да се разгледа възможността за включване на допълнителни молекулни маркери, които да засилят филогенетичната резолюция и да подпомогнат разграничаването на близкородствени таксони. Предложената препоръка не намалява научната стойност на труда, а очертава полезни направления за неговото надграждане.

Въпроси:

1. Как бихте оценили генетичното разнообразие на видовете от сем. *Clupeidae* (селдови) в българската акватория на Черно море и какви действия трябва да се предприемат за управлението на рибните ресурси?

2. Обяснете причините за избора на именно тези три маркера – *NADH1*, *Cyt b* и *ITS1*. Какви са техните предимства и ограничения? Какви са основните предизвикателства при прилагането на молекулярните маркери за идентификация на видове от сем. *Clupeidae*?

12. Лични впечатления

В работата си докторантът проявява висока научна ангажираност, изразено внимание към детайла, добра подготовка. Процедурните дейности са изпълнени професионално и с прецизност.

13. Препоръки за бъдещо използване на дисертационните приноси и резултати

Дисертационният труд има потенциал за бъдещо приложение чрез включването на получените резултати в мониторинга на Черно море. Той може да послужи за подобряване на националните бази данни за биологичното разнообразие. Разработената методика може да бъде внедрена в ИАРА и в специализирани научни лаборатории. Препоръчва се използването ѝ при разработване на стратегии за консервация на рибните ресурси. Препоръчва се разширяване на изследванията към популационната генетика.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Дисертационният труд **съдържа научни, научноприложни и приложни резултати, които представляват оригинален принос в науката и отговарят на всички** изисквания на Закона за развитие на академичния състав в Република България (ЗРАСРБ), на Правилника за прилагане на ЗРАСРБ и на съответния Правилник на ПУ „Паисий Хилендарски“.

Дисертационният труд показва, че докторант Даринка Каменова Бояджиева-Дойчинова **при- тежава** задълбочени теоретични знания и професионални умения по докторска програма „Молекулярна биология“, като **демонстрира** качества и умения за самостоятелно провеждане на научно изследване.

С оглед 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 Даринка Каменова Бояджиева-Дойчинова в област на висше образование: 4. Природни науки, математика и информатика, професионално направление: 4.3. Биологични науки, докторска програма: „Молекулярна биология“.

14.12.2025 г.

Рецензент:

(подпис)

Проф. д-р Нася Томлева