

Справка
за научните приноси
на д-р Петър Иванов Христов,

Доцент в Секция „Биоразнообразие и екология на паразитите”,
Институт по биоразнообразие и екосистемни изследвания – БАН

(във връзка с участието в конкурс за професор, професионално направление 4.3.
«Биологически науки», научна специалност “Генетика”, септември 2020 г.)

(Пояснение: в скоби са указани номерата на публикациите, в които са отразени съответните приноси; с **bold** са отбелязани номерата на публикациите след хабилитацията)

Основна част от научната ми дейност през последните десет години е съсредоточена в няколко тематични направления:

1. Проучване биоразнообразието при месната пчела *Apis mellifera rodopica*;
2. Молекулярна идентификация и мониторинг на актуални заболяванията по пчелите (паразитни и вирусни). Генетично разнообразие и произход на патогенните причинители;
3. Молекулярно-филогенетични изследвания на местни породи животни и археозоологичен материал;
4. Генетичен полиморфизъм на млечни протеини при местни и съвременни породи говеда. Популационна структура, произход и биогеография на вида.

Интересът ми към първото направление се дължи на практическия ми опит като пчелар в продължение на 10 год. Това предизвика голям брой въпроси относно биоразнообразието на популациите на домашната пчела *Apis mellifera* L. (Hymenoptera: Apidae). Съществуваха и данни за наличието на местна родопска пчела *Apis mellifera rodopica* (локален екотип на *A. m. macedonica*), изследвана основно морфо-етологично. В България бяха провеждани изследвания върху генетичната структура, както на местната, така и на интродуцираните подвидове *Apis mellifera* (*A. m. carnica*, *A. m. ligustica* и *A. m. caucasica*), основно посредством използването на протеинови и изоензимни маркери, а също и микросателитен ДНК анализ. В публикуваната литература не бяха открити изследвания относно секвенционен анализ на ядрени или митохондриални гени или генни региони при местната (локална) пчела *Apis mellifera rodopica* (с изключение на едно

проучване, направено от гръцки колеги), което даде основание за провеждането на подобно изследване.

Второто направление, което провокира научно-изследователския ми интерес, се базира на молекулярна идентификация на някои често срещани заболявания по пчелите като вароатоза, нозематоза и инфекциозни причинители (вируси). Подобни изследвания не бяха провеждани досега в нашата страна, а тези патогени се свързват с основните загуби при пчелните семейства, което налага своевременно им откриване и третиране на пчелните колонии.

Интересно беше да се проследи и генетично разнообразие на изследваните патогенните причинители, като се търси информация, изясняваща произхода им.

Споменатите досега тематични области ми предоставиха възможност за преглед на голям брой литературни източници и оформянето на две обзорни статии:

1. Значението на домашната пчела като основен опрашител;
2. Изясняване на основните биотични и абиотични фактори, водещи до значително редуциране на пчелните популации в световен мащаб.

Третото направление считам като едно от най-съществените в досегашната ми научно-изследователска кариера, поради привързаността ми като ветеринарен лекар към домашните животни. Поради факта, че местните породи животни са на границата на критичния минимум от изчезване, беше интересно да се направи генетичен анализ на съществуващите популации с оглед изясняване на произхода, одомашняването, миграционните процеси и биогеографията им. Друг съществен момент за провеждането на тези изследвания беше обстоятелството, че България, както и Балканския полуостров, оставаха бяло петно на европейската карта и аз исках да запълня с информация това петно.

Изследванията на археозоологичен материал от различни видове животни бяха осъществени съвместно с бившия директор на Националния природонаучен музей (НПМ-БАН) – проф. Николай Спасов, на когото изказвам сърдечни благодарности.

Тематиката, с която започна моята научно-изследователска дейност в областта на молекулярната биология, е свързана с генотипиране на основните млечни протеини при местни и съвременни популации говеда в нашата страна (тематична област 4). Идеята на тези изследвания беше от една страна да се генотипират животни по гени за млечни

протеини (установяване на генетичния профил на популацията с оглед произхода и биогеографията), а от друга да се повиши икономическата ефективност, конкурентоспособност и генетичното усъвършенстване на породите, чрез селекция и развъждане на индивиди, притежаващи алелни варианти на млечни протеини, които определят ценни количествени и качествени признаци.

1. Избрани приноси в областта биоразнообразие при местната родопска пчела *Apis mellifera rodopica* (част от публикациите, обозначени като хабилитационен труд)

Спечеленият от мен проект относно биоразнообразието и актуални заболявания при медоносната пчела към ФНИ през 2016 г. ми даде възможност да формулирам първите два научни приноса.

Медоносната пчела в България е подложена на сериозно предизвикателство, поради неконтролирания комерсиален внос на други подвидове от различни страни. Реалната заплаха от генетична ерозия т.е. загуба на съществуващото генетично разнообразие при местната пчела наложи необходимостта от провеждане на изследване относно генетичната структура на запазените популации.

За първи път в нашата страна е използван секвенционен анализ на фрагмент от митохондриалния ген *col* (цитохром с оксидаза субединица I) при проучване генетичното разнообразие при местната пчела *Apis mellifera rodopica* (20). Данните от анализа са сравнени с наличните в генетичната база данни (GenBank) секвенции за *col* гена. Установено е, че *Apis mellifera rodopica* притежава специфичен генетичен профил т.е. наличие на допълнителен фрагмент (наречен D1). Този фрагмент не е част от митохондриалния ген и няма аналогия с публикуваните в GenBank секвенции.

Получените от това изследване резултати дават възможност за използването на *col* гена като подходящ генетичен маркер за разграничаване на *Apis mellifera rodopica* от интродуцираните в България подвидове - *A. m. carnica*, *A. m. ligustica* и *A. m. caucasica*. Проведено изследване има и консервационна стойност, т.е. съхраняване на местната пчела като част от националното биоразнообразие, като се вземат мерки за запазването на популациите и в чист вид, чрез избягване на метизация с други раси пчели. Основният принос от проучването е стремежът за обособяване на местната родопска пчела като

отделен подвид, а не като локален екотип на *A. m. macedonica*, което ще допринесе за обогатяване, детайлизиране и прецизиране на еволюционния клон С, към който тя принадлежи.

Получените в резултат на изследването секвенции са депозирани в GenBank под номера KX001967-KX001995.

Направен е подробен анализ на достъпните литературни данни относно използването на различни генетични маркери – изоензимни, белтъчни, ядрени, митохондриални и рибозомални при генотипирането на българската медоносна пчела. Литературният обзор е отразен в глава от книга в международно издателство (1).

2. Приноси в областта молекулярна идентификация и мониторинг на актуални заболяванията по пчелите. Генетично разнообразие и произход на патогенните причинители (част от публикациите, обозначени като хабилитационен труд).

Секвенционен и филогенетичен анализ на ектопаразитния акар *Varroa destructor*.

Научната общност приема ектопаразитния акар (*Varroa destructor*) като патоген, нанасящ ежегодно тежки загуби на пчеларството и вектор на разпространението на някои пчелни вируси и бактерии (*Wolbachia*). Това предизвика интерес към анализиране на генетичната структура на популациите му в нашата страна. Осъществен е секвенционен и филогенетичен анализ на два митохондриални гена (*col* и *cytb*) с оглед изясняване генетичното разнообразие и произхода на *Varroa destructor*. Получените резултати показват най-висока хомология със силно патогенния корейски хаплотип (K1). Анализът потвърждава становището, че *Varroa destructor* е ивазивен вид за европейската пчела (*Apis mellifera*). Представени са данни относно инвазирането на *Apis mellifera* след интродуцирането и в Азия (естествения гостоприемник на *Varroa destructor* е Азиатската пчела, *Apis cerana*), и последващо разпространение на вече инвазирани европейски пчели, първоначално в Европа, а след това и в различни части на света.

Предстои публикуване на резултатите от проведеното изследване.

Молекулярна детекция и филогенетичен анализ на най-често срещаните вируси по пчелните семейства.

Вирусите, открити в медоносните пчели, са известни на учените преди повече от 50 години и са смятани за безвредни до 80-те години, когато акарът *Varroa destructor* става световен проблем за пчеларството.

Извършена е молекулярна детекция на шест от най-често срещаните вируси по пчелните семейства (деформиращ крилата вирус – DWV; вирус на острия паралич – ABPV; вирус на хроничния паралич – CBPV; мехурчест гнилец – SBV; кашмирски вирус - KBV и вирус на черната пчелна майка - BQCV) (12, 25). Направен е филогенетичен анализ на базата на получените секвенции за изясняване на географското разпространение и произхода изследваните вируси.

Установена е принадлежността на DWV към най-патогенния щам тип А. Определено е най-голямо генетично сходство на българските щамове с щамове от Турция и Средиземноморските държави. Представени са данни, че европейските щамове на DWV образуват множество различни генетични кладове, без ясно регионално разпределение. Това предполага, че разпространението на DWV е настъпило едновременно в цяла Евразия.

Филогенетичният анализ на SBV показва ролята на *Varroa destructor* като вектор относно географското разпространение на изследвания вирус. Представени са данни относно най-голямото генетично сходство на европейските и американските щамове с азиатски такива (естественото местообитание на *Varroa destructor*). Установено е, че българските щамове показват най-голяма хомология с тези от Тихоокеанския регион, което отразява нов, неизяснен досега път на разпространение на SBV в Европа.

Анализът на BQCV отразява най-голямо сходство на българските щамове с такива от Централна Европа. Данните потвърждават обособяването на три основни центъра в Европа в зависимост от генетичното разнообразие на вируса – Западен, Централен и Югоизточен. Установено е присъствието на азиатски щамове във всеки един от основните центрове, което, подобно на SBV, потвърждава роля на *Varroa destructor* при разпространението на BQCV.

Анализираните данни от филогенетичния анализ показват най-голямо генетично сходство на ABPV с щамове от Централна Европа. Представени са данни относно

формирането на три основни клада в Европа в зависимост от генетичното разнообразие на ABPV – два от тях обхващат Централна Европа и трети генетично различен, от първите два, разпространен в Англия. Резултатите от проведеното изследване представляват съществен принос при изясняване географското разпространение на ABPV в Югоизточна Европа, поради установяването му за първи път в този географски регион.

Молекулярната детекция и филогенетичният анализ на вирусните патогени е първото изследване за България и представлява съществен принос с оглед установяването на най-често срещаните вируси по пчелните семейства и вероятния им произход.

Получените в резултат на изследването секвенции от изследваните вируси са депозирани в GenBank под номера MG599458–MG599464 и MG649495–MG649502.

Молекулярна детекция и секвенционен анализ на микроспоридийни паразити.

Нозематозата е паразитно заболяване по пчелните семейства, широко разпространено в страната (и в света), нанасящо сериозни икономически загуби на пчеларството в световен мащаб е. Причинява се от вътреклетъчните паразити *Nosema apis* и *Nosema ceranae*. Доказан е и трети вид – *Nosema neumannii*, установен в Централна Африка (Уганда).

Представени са данни от изследването на двата основни причинителя на нозематозата по медоносната пчела - *Nosema apis* и *Nosema ceranae* в България (**13, 23, 25**) на базата на дуплексен PCR анализ на рибозомалния 16S rDNA ген. Установено е присъствие единствено на по-вирулентния вид *Nosema ceranae*. Представени са данни относно естествените гостоприемници на двата микроспоридийни вида - *Nosema apis* (Европейската пчела, *Apis mellifera*) и *Nosema ceranae* (Азиатската пчела, *Apis cerana*). Направеният анализ потвърждава данните, че *Nosema ceranae* (инвазивен вид за Европа) доминира в много райони на света. Анализирани са възможни начини за интродуцирането на *Nosema ceranae* в Европа.

Получените в резултат на изследването секвенции са депозирани в GenBank под номер MG657260.

Значението на домашната пчела като основен опрашител. Изясняване на основните биотични и абиотични фактори водещи до значително редуциране на пчелните популации в световен мащаб.

Оформянето на две обзорни публикации не беше самоцел, а логично вследствие от предходните изследвания. Получените от тях данни ме провокираха да търся отговор на няколко въпроса. Колко всъщност е ценен биологичният вид *Apis mellifera*? Какви ще са последствията от установената тенденция за редуциране на пчелните популации в много региони на света, като се вземе под внимание, че тя е най-ефективният опрашител? Кои в действителност са основните причини за пчелните загуби?

Значението на домашната пчела като основен опрашител.

Направеният обзор беше провокиран от големия брой литературни източници, обезпокоени от намаляването на пчелните популации от началото на 21-ви век в световен мащаб (3). Безпокойството беше свързано с ролята на медоносната пчела като основен опрашител на значителен брой земеделски култури, голяма част от които традиционно присъстват в менюто на човека.

В този аспект съм анализирал и подбрал голям брой литературни източници, отразяващи значението на опрашването в няколко аспекта.

На първо място съм обърнал внимание върху най-зависимите от опрашване земеделски култури, както и калкулираната икономическа стойност от опрашването.

Анализираните данни показват, че зеленчуците и плодовете са най-зависими, като калкулираната икономическа стойност от опрашването им възлиза на 50 милиарда евро годишно. В по-малка степен са зависими от опрашване маслените култури, т.нар. култури стимулатори (напр. кафе, какао и др.), ядки и подправки (3). Отражена е връзката между намаляването на опрашителите в световен мащаб и човешкото здраве. Представени са данни относно световната икономическа стойност за приноса на опрашителите към производството на култури, използвани директно за човешка консумация.

На второ място съм обобщил и представил литературни данни относно значението на опрашването и намаляване биоразнообразието на опрашителите върху здравето на човека.

Използваните данни отразяват, че зависимите от опрашители култури са основни източници на редица микроелементи, като витамини А и С, калций, флуорид, фолиева

киселина киселина и др. Отразени са проучвания, според които, промяната на хранителния режим, в резултат на намаляването на опрашители, е свързана с риск от три групи заболявания: незаразни (неинфекциозни, хронични заболявания) - рак, диабет и сърдечни заболявания; заразни (трансмисивни заболявания) - туберкулоза и грип и заболявания, свързани с недоимъчни състояния (напр. недостиг на витамини като рахит и др.) (3).

Представил съм информация за ролята на голям брой пчелни продукти (мед, цветен прашец, пчелно млечице, прополис, пчелна отрова, восък и пчелен хляб) като важни хранителни източници за човека, както и за производството на фармацевтични продукти и хранителни добавки. Това позволява използването на голяма част от тях като подходяща алтернативна терапия при лечението на редица заболявания.

На трето място съм отразил екологичното значение на медоносната пчела. Представил съм проучвания, че глобалният спад в популациите на медоносната пчела, ще повлияе негативно върху възпроизводството и популационната динамика на голям брой растителни видове (някои от които ендемити) в природните зони, което налага интродуцирането на различни подвидове на *A. mellifera* в много региони на света (3).

Определяне на основните биотични и абиотични фактори водещи до значително редуциране на пчелните популации в световен мащаб.

В този обзор съм се опитал да обобщя и представя информация относно т. нар. кризи в пчелните популации през различни периоди в исторически аспект, както и да посоча най-съществените биотични и абиотични фактори, които имат отношение към драстично намаляване на пчелните популации в световен мащаб (5).

Представената информация отразява, че биотичните фактори са свързани с наличието на около 29 заболявания и вредители по пчелните семейства, които ежегодно причиняват съществени загуби на пчеларството. Като най-значими от тях се посочват ектопаразитния кърлеж (*Varroa destructor*), вирусни заболявания, микроспоридийни паразити (*Nosema apis* и *N. ceranae*), гъбички (*Ascophaera apis*) и бактериални заболявания (*Paenibacillus larvae*, *Melissococcus plutonius*), амеби (*Malpighamoeba mellificae*), малък кошерен бръмбар (*Aethina tumida*), голям восъчен молец (*Galleria mellonella*) и др (5).

Обобщената от мен информация показва като най-значими абиотични фактори – промяна в климата; стрес в резултат от подвижното пчеларство т.е. транспортирането на

пчелни семейства на дълги разстояния за опрашване на култури; загуба на местообитания и промени в ландшафта; различни практики при отглеждането на пчелните семейства и др.

В публикувания обзор съм обърнал специално внимание и към един наболял проблем за пчеларството през последните години - широката употреба на пестициди и инсектициди като средство за растителна защита и последствията от тяхното прилагане за пчелните семейства. В тази връзка по-подробни данни съм представил за влиянието на най-широко използваните през последните години ново поколение инсектициди – неоникотиноидите, с невротропно въздействие, водещо до парализа и смърт при насекомите (5).

3. Избрани приноси в областта Молекулярно-филогенетични изследвания на местни породи животни и археозоологичен материал.

Молекулярни и популационни изследвания при вида *Bos taurus*.

Началото на тези изследвания беше поставено през последния етап на ръководения от мен проект „Млади учени“ към ФНИ.

Анализирано е генетичното разнообразие на две местни породи говеда – Късорого родопско и Сиво на базата на секвенционен анализ на митохондриалния D-loop регион (4, 5, 7). Представени са данни относно ролята на Балканския полуостров като ключов регион за развитието на древните европейските цивилизации и исторически важен кръстопът при разпространението на одомашнени животни. Установени са специфични генетични профили при двете породи говеда. Анализиранияте резултати показват, че по-голяма част от дефинираните хаплотипи при Късорого родопско говедо са специфични за Балканския полуостров. Предложена е хипотеза за древен произход и одомашняване на Късорого родопско говедо, като част от балканските брахицерни популации. Данните от анализа на Българско сиво говедо показват различен генетичен профил спрямо Късорогото родопско говедо. Представено е генетично сходство с други популации сиви говеда в Югоизточна Европа и Апенинския полуостров. Получените резултати потвърждават схващането за принадлежността на Българското сиво говедо към голямата популация сиви говеда, разпространени на Балканския полуостров, с вероятен произход от географската област Подолие (югозападната част на Украйна).

Резултатите от проведеното изследване представляват съществен принос, тъй като за първи път в България е проведено целенасочено изследване относно генетичното разнообразие и произход на двете местни породи говеда. Те показват по-късно формиране и разпространение на популациите на Сивите в сравнение с Късорогите говеда.

Получените в резултат на изследването секвенции са депозирани в GenBank като популационен сет PopSet Acc. no. 530540029.

Споменатите по-горе изследвания бяха задълбочени при участието ми в Общоакадемичния интердисциплинарен проект „Траките – генезис и развитие на етноса, културни идентичности, цивилизационни взаимодействия и наследство от древността“.

За първи път в България беше успешно изолирана и намножена ДНК от археозоологичен материал при този вид (Новокаменна епоха, края на 7th-6th хилядолетие пр. Хр.).

Анализирани са древни проби от говедо и неговия предшественик тур (*Bos primigenius*) обхващащи периода Новокаменна епоха-Средновековие на базата на митохондриалния D-loop регион (17). Извършен е секвенционен и филогенетичен анализ на успешно намножените ДНК фрагменти. Получените резултати показват две специфични нуклеотидни замени на позиции 16057A-16133C (при тур и говедо). Анализът на всички налични в GenBank секвенции от D-loop региона при древни и съвременни проби не установи подобни полиморфни позиции. Това даде основание да бъде дефинирана нова хаплогрупа, **наречена Т6**, специфична само за Балканския полуостров. Съществен момент в проведеното изследване е анализът на популацията на тура в Югоизточна Европа. За разлика от широко разпространената в древна Европа Р хаплогрупа и локалната Е (Германия), получените резултати показва принадлежността на българския тур към макрохаплогрупа Т, специфична за южноевропейските популации. Дискутирани са две основни хипотези, свързани с одомашняване на говедото: 1. Общоприетата, в района на Мала Азия с последващи миграционни процеси към Европа посредством Средизимноморски или Дунавски път; 2. Процеси на локално одомашняване в някои географски региони в Неолитна/Халколитна Европа. Получените от нас данни подкрепят теорията за локални процеси на одомашняване, поради присъствието на **Т6 хаплогрупа** само на Балканския полуостров, както и установяването на специфични европейски хаплотипове при древни и съвременните популации на говедото.

Резултатите от проведеното изследване имат съществен принос относно изясняване процесите на одомашняване и миграция на вида в Неолитна/Халколитна Европа. Възстановяването на историята при този вид посредством филогенетична реконструкция допринася съществено и за разбирането ни за човешката история. Съществен момент от проведеното проучване е направеният анализ за възникването и развитието на човешките цивилизации през изследвания период. Литературните данни представяха древна Европа като приемник на знания и постижения от възникналите древни цивилизации в Мала Азия. Получените от нас резултати относно одомашняване на говедото и датирането на

изследваните проби, показват ясно, че на Балканския полуостров, паралелно с Мала Азия, са присъствали също толкова развити, първите в Европа човешки цивилизации.

Получените в резултат на изследването секвенции са депозираны в GenBank под номера KP682315–KP682330.

Балканските брахицерни говеда – първите одомашнени в Европа

Балканските брахицерни говеда (*Bos primigenius f. taurus*) представляват една от най-примитивните и дребна порода говеда (известни под името Буша порода), разпространени единствено на Балканския полуостров. Съпоставени са данните от получените резултати при изследване генетичното разнообразие при Късорогото родопско говедо и от археозологичния материал от тур и говедо. Установено е присъствието на **новооткритата Т6** от древни проби при популацията на Късорогото родопско говедо (15). Публикуваните в генетичната база GenBank секвенции не откриха подобен генетичен профил при всички съвременни проби, с изключение при Буша животни от Хърватия и Сърбия. Присъствието на **хаплогрупата Т6** само при Късорогите говеда на Балканския полуостров и при изследваните древни проби, дават основание да се определи тази порода като най-старата европейска порода говеда. Друго доказателство в тази насока е забележително малкия размер на породата, поради стремежа на първите скотовъдци към намаляване размера на животните (около 2 пъти) непосредствено след процеса на одомашняване - от Неолита до Средновековието.

Получените резултати от изследването на Късорогото родопско говедо показват неговата уникалност, което налага разработване на стратегия за съхраняване на малко останалите типични представители на породата, като част от националното биоразнообразие.

Молекулярни и популационни изследвания при вида *Equus caballus*.

Анализирана е генетичната структура на популациите на три местни планински породи коне – Каракачански, Старопланински и Рило-Родопски на базата на митохондриалния D-loop регион (16). Получените данни са сравнени с резултатите от изследванията на географско близки популации с оглед изясняване на произхода и одомашняването на местните породи. Установен е специфичен генетичен профил при трите изследвани породи. Каракачанският и Старопланинският кон показват сходен,

типичен европейски профил, доказателство за древен и местен произход. При Рило-Родопският кон е установен напълно различен генетичен профил – обмяна на генетичен материал (интродукция) с централно-азиатски породи коне. Разгледани са възможни хипотези относно произхода на трите местни породи.

Получените данни представляват съществен принос с оглед произхода и одомашняването на този вид в един нов, неизследван досега географски регион – Балканския полуостров.

Получените в резултат на изследването секвенции са депозирани в GenBank под номера KU601624-KU601744.

Анализирано е генетичното разнообразие на две съвременни български породи коне – Плевенски и Източнобългарски с оглед изясняване на произхода им, поради невъзможността да бъдат изследвани основните породи участвали при създаването им - Делиормански и Камчийски, съответно (4). Получените данни показват различна генетична структура на изследваните породи. Популацията на Плевенски кон показва хомогенна структура с типично европейски профил. Установена е хетерогенна структура при популацията на Източнобългарския кон т.е. Камчийският кон участвал при формирането на тази порода е с възможен смесен европейско-азиатски профил.

Получените в резултат на изследването секвенции са депозирани в GenBank под номера MK465388-MK465426 (Източнобългарски кон) и MK465427-MK465437 (Плевенски кон).

Представени са данни от изследване генетичното разнообразие при диви коне на базата археозологичен материал обхващащ периода Ранен Неолит – Ранна Бронзова епоха (26,29). Получените резултати са сравнени с данните от анализа при местни и съвременни популации в България. Установен е специфичен средноазиатски профил при изследваните древни проби. Подобен профил показва и местният Рило-Родопски кон. Получените резултати са дискутирани в контекста на първия известен център на одомашняване на вида – територията между Северното Черноморие и Централна Азия (средата на 4 хилядолетие пр. Хр.).

Представените данни са първите отразяващи генетично разнообразие на изчезналия див кон, съществувал до Късния Холоцен. Получените резултати предоставят

допълнителна информация за дивите предшественици и произхода на домашния кон. Те допринасят и за изясняване процесите на възникване, миграция и формирането на местни породи коне. Тази информация е пряко свързана с разбирането за миграционните и културно-исторически процеси в нашия регион.

Получените в резултат на изследването секвенции са депозирани в GenBank под номера MG420991–MG420994.

Молекулярни и популационни изследвания при вида *Canis lupus familiaris*.

Анализирано е генетичното разнообразие на три местни породи кучета – Каракачанско, Български барак и Българско гонче с оглед изясняване на произхода и еволюцията им (11). Извършен е секвенционен и филогенетичен анализ на базата на получените секвенции от митохондриалния D-loop регион. Получените от изследването данни показват различен генетичен профил при ловните породи (Български барак и гонче) спрямо овчарското Каракачанско куче. При ловните породи е установена необичайно висока честота на клад С, застъпена в много по-нисък процент при съвременни европейски популации. Представена е хипотеза относно произхода на ловните породи базирана на установената висока честота на клад С при изследвани древни европейски популации. За разлика от ловните породи, при овчарското куче е установен клад D2, специфичен за Средиземноморските популации.

Получените данни са от съществено значение относно изясняването произхода на българските местни породи кучета в един неизследван досега географски регион – Балканския полуостров. Анализираният данни показват типичен европейски профил и различен произход при ловните породи и овчарското куче. Генетичният профил показва възможен произход на ловните породи от древни централно европейски популации, а при овчарското куче от популации от Средиземноморския регион.

Получените в резултат на изследването секвенции са депозирани в GenBank под номера MG920357–MG920486.

Представени са данни относно генетичното разнообразие на древни кучета, датирани от Ранен Неолит (8th хил. пр. Хр.) до Късната Античност (до 3 век сл. Хр.) в България (6). Извършен е филогенетичен анализ на получените секвенции от D-loop региона с цел

изясняване на произхода, одомашняването и еволюцията. Получените резултати са сравнени с наличната информация в генетичната база данни GenBank относно генетичния профил при древни популации в Енеолитна Евразия. Установено е генетично сходство на древните български кучета с италиански (А, В и С кладове) и иберийски (кладове А и С) популации. Получените от изследването резултати дават възможност за поставяне на ясна граница между генетичната структура на Южноевропейските популации и популациите в Западна и Централна (клад С), Източна (клад D) и Северна Европа (кладове А и С).

Анализирана е информацията относно генетичната структура на популациите на древния вълк, като прародител на домашното куче, с оглед търсенето на генетично сходство с установените кладове при изследваните древни кучета.

Получените данни представляват съществен принос относно произхода и процесите на одомашняване и породообразуване при древните Балкански кучета. Установено е за първи път присъствието на клад В в древна Евразия, едновременно при балкански кучета и вълци. Тези резултати дават основание да се предположи възможен Балкански произход на клад В, поради установената му висока честота и при древни популации вълци от същия регион.

Получените в резултат на изследването секвенции са депозирани в GenBank под номера MN937186–MN937206.

Молекулярни и популационни изследвания при вида *Sus scrofa domestica*.

Анализирано е генетичното разнообразие на популацията на Източнобалканската свиня в Югоизточна България (7). Извършен е секвенционен и филогенетичен анализ на изследвания митохондриален D-loop регион с оглед изясняване на произхода. Генетичната структура на популацията показва висока честота на Азиатския клад А, спрямо Европейския E1a1. Установеният генетичен профил показва сходство на местната популация с популации от Мала Азия, което предполага най-вероятния и произход, поради териториалната близост на двата географски региона.

Известни са две популации на Източнобалканската свиня в България – едната разпространена в Източна Стара планина (Варна, Бургас и Шумен), другата в Странджа планина, развъждана в Научен Център по Земеделие - Средец. Африканската чума по

свинете унищожи почни напълно източната популация, като се запази само съществуващата в Югоизточна България.

Като представител на най-древните популации в Европа, Източнобалканската свиня представлява особен интерес предимно в две насоки - като част от националния генофонд и за производство на екологично месо и сертифицирани биологични продукти.

Получените в резултат на изследването секвенции са депозирани в GenBank под номера MK618760-MK618763.

4. Избрани приноси в областта Генетичен полиморфизъм на млечни протеини при местни и съвременни породи говеда. Популационна структура, произход и биогеография на вида.

Началото на тази тематична област беше поставено след спечения от мен проект “Млади учени” към ФНИ през 2009 г. относно изследване полиморфизма на млечни протеини при млечни породи говеда в България. Това ми даде възможност да навляза в една нова, непозната за мен изключително интересна област – Молекулярната биология.

Представени са данни относно генотипирането на съвременни млечни породи говеда (Българско родопско и Черношарено) в България по основните гени за млечни протеини - казеини (α s1-казеин (CSN1S1) и κ -казеин (CSN3)) и суроватъчен протеин (β -лактоглобулин (LGB)) посредством PCR-RLFP анализ (полиморфизъм по дължината на рестрикционните фрагменти) (1,11,13,15,20-23,27,29,14). Установени са най-често срещаните алелни варианти на изследваните млечни протеини при всяка порода. Направена е връзка между отделни алели с количествени (млечна продуктивност кг) и качествени (общ белтък %, масленост % и млечно масло кг) показатели на кравето мляко. Представена е схема относно селекция и развъждане на животни притежаващи алели, обуславящи ценни признаци с цел генетичното усъвършенстване на млечните породи говеда.

Проведеното изследване е осъществено за първи път в България и представлява принос с подчертано приложен характер. То дава възможност за интегрирането му в практиката посредством маркер асистираща селекция.

Направен е литературен анализ на основните методи използвани за генотипиране на млечни протеини при говедото. Данните са отразени под формата на обзорна статия (22).

За първи път в България е осъществено проучване относно определяне големината на казеиновите мицели в млечни проби посредством метода динамично светоразсейване (Dynamic Light Scattering, DLS) (10). Установена е корелация между големина на мицела с някои алелни варианти на к-казеина (CSN3). Проведеното изследване представлява приложен принос и дава възможност за повишаване количеството продукция при някои млечни продукти (сирене, кашкавал и др.).

Обобщени са представените в научната литература резултати относно определяне големината на казеиновия мицел посредством DLS анализ. Данните са отразени в глава от книга в международно издателство (2).

Представени данни относно генотипиране на местни породи говеда (Късорого родопско и Сиво) по някои гени от казеиновия локус (α S1-казеин (CSN1S1) и к-казеин (CSN3)) с цел изясняване популационната структура, произхода и биогеография на вида (12-14,19). Използвана е методологията PCR-RFLP анализ. Анализирани са получените резултати относно честотите на установените алелни форми на изследваните гени за всяка порода. Получените данни са сравнени с резултатите от изследванията относно географско разпространение на същите алели при различни породи говеда.

Направеният анализ показва най-голямо генетично сходство на Късорогото родопско говеда с популации от Средиземноморския регион. Установен е генетично сходен профил на популацията на Сивото говеда с други европейски популации сиви говеда в Югоизточна Европа.

Получените данни са първите в България относно изясняване произхода и биогеографията на двете местни породи говеда. Резултатите от проведеното изследване бяха впоследствие потвърдени при секвенционния и филогенетичен анализ на митохондриалната ДНК при популациите на Късорогото родопско и Сиво говеда.

Други приноси

Освен тези научни приноси, които считам за основни и са реализирани при мое участие като водещ автор и експерт по молекулярно-генетичен анализ, съм участвал също и в изследвания върху паразитни червеи (3,8,9,16,18,26,28,9) и почвени нематоди (6,8,18,19,21).

Участвал съм в изследвания относно анализиране на генетичната структура при Късорогото родопско и Българското родопско говедо на базата на ДНК микросателитен анализ по пет полиморфни локуса (24,30).

25.09.2020 г.

Подпис:
(Доц. д-р Петър Христов)