

Резюмета на научните публикации
на гл.ас. д-р Деница Руменова Теофанова
за участие в конкурс за заемане на академичната длъжност „Доцент”
по 4.3. Биологически науки (Биохимия)
обявен в ДВ бр. 24/16.03.2018 г.

I. Публикации в реферирани списания в SCOPUS, ISI Web of Knowledge, в списания с IF или SJR и в нереперирани списания, но цитирани в такива с IF:

Публикации, които са свързани със защита на докторска дисертация

1. **Teofanova D.**, Kantzoura V., Walker S., Radoslavov G., Hristov P., Theodoropoulos G., Bankov I., Trudgett A. **2011**. Genetic diversity of liver flukes (*Fasciola hepatica*) from Eastern Europe. *Infection, Genetics and Evolution*. 11, 109-115. **IF: 3,223**.

Генетичното разнообразие на популациите на чернодробния метил беше изследвано в три страни в Източна Европа (Гърция, България и Полша) и сравнено с наличните данни за други страни. По-конкретно бяха използвани единичните нуклеотидни полиморфизми (SNPs) в участъци от два ядрени гена (28S рДНК и β -тубулин 3) и информативен регион от митохондриалния геном. Бяха установени две основни линии по отношение на гена за 28S рДНК, базирани на силно полиморфната 105-та нуклеотидна позиция. Тези линии бяха широко и почти еднакво разпространени не само в изследваните страни, но и в други географски райони. Две основни линии и допълнителни хаплотипове бяха дефинирани за мтДНК регион, който се състои от гена за цитохром *c* оксидаза субединица III, тРНК за хистидин и гена за цитохром *b*. Основните линии бяха наблюдавани в гръцки, български и полски популации на *Fasciola hepatica*, но разпространението на допълнителните хаплотипове се различаваше между популациите от трите държави. За β -тубулин 3 гена бяха наблюдавани множество полиморфни места, но без изразено диференциране. SNPs бяха разпространени неравномерно във всички изследвани географски райони с ясно разграничаване между гръцките и полските екземпляри. Бяха наблюдавани и допълнителни генотипове за 28S рДНК региона, както и хаплотипове за мтДНК региона, които бяха типични за гръцката или полската популация. Значимите полиморфизми за β -тубулин 3 гена присъстват с намаляваща честота в популациите в посока от Гърция към Полша. Аминокиселинна замяна в β -тубулин 3 белтъка беше установена само сред полските екземпляри. Беше изказана хипотезата, че генотипните разлики между гръцките, българските и полските популации на чернодробния метил се дължат на териториално разделение и генетичен дрифт в миналите епохи.

2. Kantzoura V., Kouam M.K., Feidas H., **Teofanova D.**, Theodoropoulos G. **2011**. Geographic distribution modelling for ruminant liver flukes (*Fasciola hepatica*) in South-eastern Europe. *International Journal for Parasitology*. 41, 747-753. **IF: 3,819**.

Моделите на екологичните ниши базирани на максималната ентропия (Maximum entropy ecological niche modelling) бяха направени с помощта на програмата Maxent и използвани за прогнозиране на географския диапазон на разпространение на генотиповете и хаплотиповете на чернодробния метил в Югоизточна Европа. Най-ниските (0.832) и най-високите (0.947) зони под стойностите на кривата бяха наблюдавани в моделите съответно за хаплотипите CtCmt1 и CtCmt2.2. Преципитацията и температурата допринасят еднакво за моделирането на генотипове на базата на 28S рДНК гена. По отношение на мтДНК генния регион, преципитацията е най-важният фактор при моделирането на обхвата на хаплотипа CtCmt1, докато температурата изглежда най-важна в моделирането на CtCmt2.1 и CtCmt2.2 хаплотипните диапазони. Най-високото ниво на вероятност за географското разпределение на генотипове и хаплотипове на *Fasciola hepatica* обхваща регионите на Южна България и Централна и Северна Гърция, които са с висока концентрация на преживни животни като потенциални гостоприемници.

Публикации, които са извън дисертацията

3. Zagorchev L., **Teofanova D.**, Hristov P. **2018**. Changes in the protein and carbohydrate profile of kefir beverage, acquired from kefir grain of unknown origin. *Asian Journal of Microbiology and Biotechnology*. **Article ID: 2018/AJMAB/6005 In Press**. (<http://www.ikpress.org/articles-press/50>).

Целта на настоящото изследване е да се сравнят хранителните качества на кефир с неконтролиран произход с тези на наличния в търговската мрежа. Двумерна белтъчна електрофореза (изоелектрофокусиране последвано от SDS-PAGE) се използва за сравнение протеиновите профили на различни етапи от процеса на ферментация. Въглехидратният профил се изследва чрез тънкослойна хроматография. И белтъците, и въглехидратите са определени количествено с колориметрични методи. Получената напитка показва сходство в свойствата с търговски достъпния кефир по отношение на рН, съдържание на белтъци и редуциращи захари между 24-ия и 36-ия час на ферментация. Не бяха открити значителни промени в белтъчните профили на 2D електрофореграмите до 24-ия час, а последващото намаляване на броя на белтъчните петна се дължи по-скоро на утаяване на протеините, а не на разграждането им до по-малки пептиди. За разлика от търговския кефир, не са намерени галактоза или други монозахариди дори след 36 часа инкубация, което предполага различни свойства. Нашето проучване показва ефикасна и евтина методология за характеризиране на ферментирани млечни продукти. Кефирената напитка в това конкретно изследване притежава малко по-различни характеристики от наличните в търговската мрежа и показва необходимостта от качествен контрол.

4. Hristov P., **Teofanova D.**, Georgieva A., Radoslavov G. **2018**. Effect of genetic polymorphism of α S1-casein gene on qualitative and quantitative milk traits in native Bulgarian Rhodopean cattle breed. *Genetics and Molecular Research*, 17(1): gmr16039868. DOI: 10.4238/gmr16039868. **IF 0.765**.

Генетичните полиморфизми на млечните белтъци при род *Bos* провокират значителен научен интерес, главно свързан с тяхната еволюция, структура на популациите,

размножаване и хибридизация. Целта на настоящото изследване е да се проучи влиянието на генетичните варианти на генът за α S1-казеин по отношение на продуктивността и качеството на млякото на местната българска порода Българско родопско говедо. Общо 87 несвързани животни от тази порода бяха изследвани за генетичните варианти по α S1-казеиновия ген чрез PCR-RFLP анализ. Резултатите показват, че трите генотипа ВВ, СС и ВС са представени съответно с 26.4%, 2.3% и 71.3%. Честотата на алела на гена В (62,1%) е почти два пъти по-висока, сравнена с алела С (37,9%). Ефектът на оценяваните генотипове върху качествените и количествените показатели на млякото може да бъде обобщен, както следва: продуктивност и млечно масло - ВС > ВВ > СС; съдържание на мазнини и протеини - СС > ВВ > ВС. Наличието на корелация между генетичните варианти на гена за α S1-казеин и качествените и количествени признаци на млякото дава надежден подход за подбор на животни с желани млечни качества и генетично подобряване на тази местна порода като част от националния генетичен фонд.

5. Hristov P., **Teofanova D.**, Neov B., Shivachev B., Radoslavov G. **2015**. Mitochondrial diversity in autochthonous cattle breeds from the Balkan Peninsula. *Czech Journal of Animal Science*. 60 (2015): 319-326. ISSN 1212-1819. **IF 0.871**.

Българското сиво говедо (БСГ) и късорогото родопско говедо (КРГ) са местни породи от региона на Балканския полуостров. Балканите, като част от Югоизточна Европа, са важен кръстопът на култури, хора и добитък. Този регион се счита за "люлка" на цивилизацията още от праисторически времена (около 6500 г. пр.Хр.). Целта на настоящото изследване е да се разкрие генетичният профил и структурата на популациите на БСГ и КРГ според D-loop (displacement loop) контролният генен регион. Резултатите показаха, че тези древни породи говеда принадлежат към често срещаните T1, T2 и T3 хаплогрупи. В рамките на БСГ популацията, суб-хаплогрупата T3a е преобладаваща (около 80% - 31/39) с хаплотипове BGC-4.1 (33% - 13/39) и BGC-4.2 (около 40% - 16/39). Митохондриалният ДНК анализ на КРГ популацията показва хетерогенна структура, състояща се от пет основни хаplo- и суб-хаплогрупи, всички на базата на дванадесет хаплотипа с еднакви честоти. Въз основа на 173G полиморфното място беше предложена нова суб-хаплогрупа – T3c. Беше извършен подробен сравнителен анализ с останалите популации на балканските говеда. Данните показаха мтДНК профил с множество хаплотипове без филогенетични взаимоотношения между тях.

6. Hristov P., **Teofanova D.**, Neov B., Radoslavov G. **2014**. Haplotype diversity in autochthonous Balkan cattle breeds. *Animal Genetics*. Brief note. 46(1): 92–94. doi: 10.1111/age.12253. ISSN: 1365-2052. **IF 2.21**.

Българското сиво говедо (БСГ) и късорогото родопско говедо (КРГ) са балкански местни породи, които са част от съответно Подолските (Podolian) и Брахицерните (Brachicerous/Busha) групи говеда. По отношение на разнообразието от балканските породи говеда спрямо мтДНК, предишни изследвания са фокусирани върху популациите на Буша и Сиво говедо. Тези изследвания посочват произхода и миграцията по света на различните породи говеда и Балканите са посочени като важен път за разпространение на говедото в Европа. Целта на настоящото изследване е да се установи генетичното разнообразие на БСГ и КРГ спрямо митохондриалния D-loop генен регион и да се разкрие техният статус сред останалите европейски подолски и брахицерни говеда.

7. Hristov P., **Teofanova D.**, Neov B., Zagorchev L., Radoslavov G. **2014**. Population structure of two native Bulgarian cattle breeds with regard to *CSN3* and *CSN1S1* gene polymorphism. *Bulg. J. Vet. Med.* 17 (1): 18-24. ISSN 1311-1477. <http://tru.uni-sz.bg/bjvm/bjvm.htm>.

Прилагането на генно специфични молекулярни маркери при генотипиране и генетична идентификация е от съществено значение за опазване на генетичното разнообразие. Целта на изследването е да се разкрие генотипният профил на две аборигенни за България породи говеда - късорого родопско говедо (КРГ) и българско сиво говедо (БСГ). Генотипирането е по отношение на полиморфизмите в α S1-казеинов ген (*CSN1S1*) и κ -казеиновия ген (*CSN3*) чрез PCR-RFLP анализ. Резултатите показват висока честота на хомозиготния ВВ генотип и В алел (70%) от *CSN1S1* в КРГ. Анализът на *CSN3* полиморфизмите разкри, че хетерозиготния АВ генотип е представен с най-високата честота и преобладава алела В (54%). Полиморфизмите на *CSN1S1* гена при БСГ породата показват висока честота на хетерозиготния ВС генотип и В алела (57%). Резултатите за *CSN3* локуса показаха превъзходство на хетерозиготния АВ генотип и на необичайния В алел (51%). Генетичните профили на българските местни породи говеда са сравнени с други европейски популации, за да се установи позицията им по отношение на биоразнообразието. Може да се заключи, че КРГ и БСГ породите са със специфични генотипни профили, близки до тези на други говеда в Югоизточна Европа.

8. Hristov P., Neov B., Sbirikova H., **Teofanova D.**, Radoslavov G., Shivachev B. **2014**. Genetic polymorphism of kappa casein and casein micelle size in the Bulgarian Rhodopean cattle breed. *Biotechnology in Animal Husbandry*. 30 (4), 561-570. DOI: 10.2298/BAH1404561H

Настоящото проучване цели да сравни размера на казеиновия мицел в проба от краве мляко като функция на капа-казеиновия (*CSN3*) генетичен полиморфизъм. Шестнадесет крави от породата Българско родопско говедо са генотипирани с PCR-RFLP анализ. Млечни проби от трите намерени *CSN3* генотипа (АВ, АА и ВВ) бяха използвани за определяне на размера на казеиновите мицели чрез Dynamic Light Scattering (DLS). Резултатите показаха разлики в размера и полидисперсността на казеиновите мицели между млеката от крави с различни генотипове. Хидродинамичните радиуси на мицелите при ъгъл на разсейване от 90 ° С варираха от 80 до 120 nm, а полидисперсността варира от 0.15 до 0.37. В заключение, размера на казеиновите мицели на *CSN3* АА крави (~ 120 nm) надвишава с около 60% този при крави с АВ (~ 80 nm) и ВВ генотип (~ 70 nm). Тези резултати биха могли да бъдат полезни за подобряване на технологичните свойства на млякото.

9. Walker S.M., Demiaszkiewicz A.W., Kozak M., Wedrychowicz H., **Teofanova D.**, Prodohl P., Brennan G., Fairweather I., Hoey E.M., Trudgett A. **2013**. Mitochondrial DNA haplotype analysis of liver fluke in bison from Bialowieza Primaeval Forest indicates domestic cattle as the likely source of infection. *Vet Parasitol.* 191(1-2):161-4. doi: 10.1016/j.vetpar.2012.08.002. ISSN: 0304-4017, **IF 2.381**

Беше определен митохондриалния генотип на чернодробния метил, присъстващ при бизоните (*Bison bonasus*) от стадото, поддържано в Националния парк Беловежка гора, за да се определи произхода на инфекцията. Резултатите демонстрираха наличието на инфрапопулации в бизоните, които са генетично различни и вероятно са произлезли от популациите присъстващи в местните говеда. При разглеждане на генетичната структура на инфрапопулациите на чернодробния метил беше заключено, че осигуряването на сено в станциите за хранене би могло да има роля при предаването на

този паразит на бизона. Тази информация може да бъде от значение за успешното управление на стадото.

10. Zagorchev L., Dimitrova M., Odjakova M., **Teofanova D.**, Hristov P. **2013**. Electrophoretic characterization of milk proteins from Bulgarian Rhodopean cattle. *Bulg. J. Agric. Sci.* 19 (2), 197–200. ISSN 1310-0351. **SJR = 0.174**

α 1-казеинът, κ -казеинът и β -лактоглобулинът показват сравнително най-висок полиморфизъм измежду белтъците в кравето мляко. Затова те са основно изучавани с оглед да се установи връзката между този полиморфизъм и количествените и качествени характеристики на млякото. Възможно е, базирайки се на вариабилността на млечните белтъци, да се изясни филогенетичната връзка между различните породи говеда и да се събере необходимата информация с цел запазване на генофонда и биологичното разнообразие на местните породи. В настоящото изследване е използван оптимизиран метод за двумерна електрофореза за изготвяне на профили на млечните белтъци и установяване на вариациите в изоформите на α 1-казеин, κ -казеин и β -лактоглобулин при Българско родопско говедо. В допълнение възможната връзка между този полиморфизъм и качествените характеристики на млякото са дискутирани. Установени са няколко различаващи се генотипа по всеки един от млечните белтъци в изследваната популация. Предложеният метод е високочувствителна система за изследване на млечни белтъци, която може да бъде използвана за установяване на филогенетичния произход на дадена порода говеда, за поддържане на високопроизводителна селекция и стратегия за запазване. В допълнение електрофоретичният метод би могъл успешно да бъде приложен в производството по отношение на качествения контрол на търговски млечни продукти.

11. Neov B., **Teofanova D.**, Zagorchev L., Radoslavov G., Hristov P. **2013**. Milk protein polymorphism in Bulgarian Grey cattle population. *Bulg. J. Agric. Sci.*, 19 (2), 194–196, ISSN 1310-0351. **SJR = 0.174**

Прилагането на генно специфични молекулярни маркери при определяне на генотипа и генетичната идентификация е от съществено значение за опазването на генетичното разнообразие. Целта на настоящото изследване е да се изследва генотипния профил на местното българско сиво говедо по отношение на гените за млечните белтъци капа-казеин и α 1-казеин чрез PCR-RFLP анализ. Резултатите за капа-казеиновия локус показват преобладаване на хетерозиготния АВ генотип и разпространение на необичайния алел В. Анализът на полиморфизма на алфа1-казеин гена показва висока честота на хетерозиготния ВС генотип и С алела. Генетичният профил на породата е сравнен с други популации говеда, за да се установи позицията ѝ спрямо други европейски такива. Може да се заключи, че българското сиво говедо е с точно определени генотип, подобен на популациите говеда от Югоизточна Европа.

12. Hristov P., **Teofanova D.**, Mehandzhiski I., Zagorchev L., Radoslavov G. **2013** Significance of milk protein genes polymorphism for Bulgarian Rhodopean cattle: comparative studies. *Biotechnol. & Biotechnol. EQ.*, 27 (2), 3659–3664. DOI: 10.5504/bbeq.2012.0132, ISSN 1310-2818, **IF 0.622**

Целта на настоящото изследване е да се установи генотипния профил на популацията на Българското родопско говедо по отношение α 1-казеин, капа-казеин и β -лактоглобулиновите гени, чрез PCR-RFLP анализ и двумерна 2D PAGE. Според тези профили е възможно да се определи връзката между всеки генотип и качествените и количествени характеристики на млякото и да се установи позицията на породата по отношение на генетично разнообразие спрямо други породи европейските говеда.

Изследването също разкрива високата значимост на генетичните варианти на трите гореспоменати гени за млечните протеини по отношение на:

Изясняване на влиянието на други породи върху популацията на Българското родопско говедо;

Получаване на данни за генетичния дрифт сред популациите на Българското родопско говедо, аборигенното Късорого родопско говедо като порода предшественик и Джерсей като основна порода за подобряване;

Събиране на необходимата информация за запазване на тази местна порода, което е важно за генофонда в българското биоразнообразие.

13. **Teofanova D.**, Hristov P., Yoveva A., Radoslavov G. **2012**. Native and recombinant fatty acid binding protein 3 from *Fasciola hepatica* as a potential antigen. *Biotechnol. & Biotechnol. EQ.* 26(1), 60-64. DOI: 10.5504/50YRTIMB.2011.0011. **IF: 0.760**

Липид-свързващите белтъци са членове на широко разпространено протеиново семейство. Те участват в метаболизма на различни липофилни лиганди и имат роля във физиологичната активност, метаболизма и разпределението на основни хидрофобни съединения (мастни киселини, фосфолипиди, ейкозаноиди, ретиноиди и др.), които са важни молекули, участващи в редица клетъчни процеси, включително генна транскрипция, имунни отговори и др. Липид-свързващите белтъци (FABPs) са предимно цитозолни, но някои от тях са екскреторно-секреторни (ES) протеини. Има много данни, че хелминтовите екскреторно-секреторни FABPs причиняват антигенни и алергични реакции.

Целта на настоящото проучване е да се направи подробно изследване на нативния и произведен рекомбинантен FABP3 като потенциален антиген за създаване на ваксина. Нативният FABP3 от *Fasciola hepatica* беше пречистен, а рекомбинантният беше експресирал в *E. coli*. Поликлонално антитяло беше произведено срещу рекомбинантния FABP3 и тествано на нативния. Получените резултати дават възможност да се изследва ефективността на нативния и рекомбинантния FABP3 като имунотерапевтичен агент и дали би могъл да се използва за имунопрофилактика.

14. Hristov P., **Teofanova D.**, Mehandzhiyski I., Yoveva A., Radoslavov G. **2012**. Genotyping of endemic for Rhodopy mountain Shorthorn Rhodopean cow breed. *Biotechnol. & Biotechnol. EQ.* 26(1), 12-15. DOI: 10.5504/50YRTIMB.2011.0003. **IF: 0.760**

Късорогото родопско говедо е една от двете ендемични за България породи. Породата се характеризира с висока жизненост и плодородие, лекота на отелване, устойчивост към болести и ниски изисквания за храна. Добива на мляко е нисък, но съдържанието на мазнини и протеини в него е високо. По тази причина е от голямо значение да се разкрие генотипният профил на популацията на тази порода, което представлява и целта на настоящото изследване. 38 животни от тази порода са генотипирани по два лактопротеинови гена (капа-казеин и алфаS1-казеин) чрез PCR-RFLP анализ. Резултатите за капа-казеиновия локус показват леко превъзходство на хетерозиготния АВ генотип и разпространението на необичайния алел В. Анализът на полиморфизмите на алфаS1-казеиновия ген показва, че около 53% от животните са с хомозиготен ВВ генотип, около 34% - с хетерозиготен ВС генотип и само ~ 13% (5 крави) - с хомозиготен СС генотип. Може да се направи изводът, че Късорогото родопско говедо е със специфичен генотипен профил, подобен на други популации от Югоизточна Европа.

15. Hristov P., **Teofanova D.**, Radoslavov G. **2011**. Effects of genetic variants of milk protein genes on milk composition and milk yield in cows of the Bulgarian black pied cattle. 2011. Comptes rendus de l'Académie bulgare des Sciences. 64 (1), 75-80. ISSN 1310-1331. **IF: 0,204**

Кравето мляко съдържа различни видове протеини и в много случаи се характеризира с явни различия в добива и функционалните свойства. Целта на настоящото проучване е да се изследва влиянието на генетичните варианти на κ -казеиновия и β -лактоглобулиновия ген върху производството и състава на млякото при Българското черношарено говедо. 21 животни бяха генотипирани по κ -казеиновия и β -лактоглобулиновия ген чрез PCR-RFLP анализ. Резултатите показаха превъзходство на алела А на κ -казеиновия ген по отношение на производството на мляко и съдържанието на мазнини. Генотипирането на животните за β -лактоглобулиновия ген показва положителния ефект на алела В по отношение на производството на мляко и съдържанието на мазнини в млякото. Според резултатите от изследването, по отношение на влиянието на κ -казеиновия и β -лактоглобулиновия генотипи върху добива и качеството на млякото, е възможно да се сертифицират говеда със специфичен произход като се селектират генетично крави, бикове и тяхната сперма, тествани по гени определящи конкретен качествен състав на млякото.

16. Radoslavov G., Jordanova R., **Teofanova D.**, Georgieva K., Hristov P., Salomone-Stagni M., Liebau E., Bankov I. **2010**. A novel secretory poly-cysteine and histidine-tailed metalloprotein (Ts-PCNTP) from *Trichinella spiralis* (Nematoda) PLoS ONE 5(10): e13343. **IF: 3,223**. doi:10.1371/journal.pone.0013343.

Бекграунд: *Trichinella spiralis* е необичаен паразитен вътреклетъчен нематод, причиняващ дедиференциране на гостоприемниковите миофибрили. Протеомните анализи на *Trichinella* са идентифицирали протеини, които действат на взаимодействието между паразита и гостоприемника и вероятно са важни за инфекцията и патогенезата. Много паразитни белтъци, включително редица металопротеини, са уникални за нематодите и трихинелидите и следователно представляват добри цели за бъдещи терапевтични разработки. Освен това, подробна информация за такива протеини и тяхната функция в нематодния организъм би осигурила по-добро разбиране на взаимодействията паразит - гостоприемник.

Методология/Основни констатации: В това изследване се включват идентификацията, биохимичната характеристика и локализирането на нов металопротеин съдържащ поли-цистеинови и хистидин-крайни домени (Ts-PCNTP). Нативният Ts-PCNTP беше изолиран и пречистен от мускулни ларви на *T. spiralis*, които са изолирани от заразени плъхове като моделна система. Анализът на секвенцията му не показва хомология с други протеини. В аминокиселинната последователност на Ts-PCNTP са открити два уникални поли-цистеинови домена. Този протеин също е първият докладван естествен белтък с хистидинова опашка. Предполага се, че Ts-PCNTP има метал-свързващи свойства. Общата рефлекторна рентгенова флуоресценция (TXRF, Total Reflection X-ray Fluorescence) показва, че той свързва значителни концентрации на желязо, никел и цинк при съотношение белтък: метал около 1:2. Имунохистохимичният анализ показва, че Ts-PCNTP е локализиран в кутикулата и във всички тъкани на ларвите, но не се екскретира извън паразита.

Заключение/Значение: Нашите данни показват, че Ts-PCNTP е първият описан член на ново нематодо полицистеиново протеиново семейство и неговата функция може да бъде съхранение и/или транспорт на метали. Тъй като това протеиново семейство е

уникално за паразитите от суперсемејство Trichinelloidea потенциалните приложения в диагностиката и лечението може да бъдат използвани в бъдеще.

17. Zlatarev S., Hristov P., **Teofanova D.**, Radoslavov G. **2008.** The impact of genetic polymorphism of kappa-casein and beta-lactoglobulin loci on milk production traits in cows of the Bulgarian Rhodopean cattle. *Comptes Rendus de l'Academie Bulgare des Sciences.* 61 (12), 1577-1582. **IF: 0,204. ISSN: 13101331.**

Основната цел на млечната промишленост е да идентифицира ефективен и икономически изгоден начин за подобряване на добива и качеството на млякото. Изборът на животни с желани генотипове и чифтосването им, за произвеждането на следващо поколение е било в основата на подобряването на добитъка и това ще продължи да е така и през следващите години. Целта на настоящото проучване беше да се изследва влиянието на капа-казеиновите (CSN3) и бета-лактоглобулиновите (LGB) локуси върху производството и качеството на млякото на Българското родопско говеда. 55 животни бяха генотипирани за гените CSN3 и LGB чрез PCR-RFLP анализ. Резултатите показаха значителна асоциация между генетичните полиморфизми на млечните протеини с качествените и количествените показатели на млякото. Относно CSN3 локуса са установени значителни ефекти върху производството на мляко (генотип AA > генотип AB > генотип BB). CSN3 В алелът е свързан с по-високо съдържание на мазнини в сравнение с алела CSN3 А. Генотипирането на животните за LGB гена показва положителен ефект на алел В по отношение на добива на мляко. Съдържанието на мазнини при генотипа LGB BB е по-високо от това при LGB AA и LGB AB генотипове. В заключение, гените на млечните протеини биха могли да бъдат полезни като генетични маркери при селекцията, развъждането и генетичното подобряване на млекодайните говеда.

II. Публикации в нерепубликани списания и доклади от конференции в пълен текст

Публикации, които са свързани със защита на докторска дисертация

1. Radoslavov G., **Teofanova D.**, Bankov I. **2008.** Biochemistry and molecular biology in parasitology. Biodiversity and ecology of parasites of earth and water biocenose. Proceedings international scientific conference Acad. Scriabin. Moscow. 9-11 2008. 305-309.

В секцията по Биохимична паразитология на ИЕПП-БАН са разработени две основни научни направления – анализ на специфични белтъчни антигени и молекулярна таксономия на паразити. До момента са получени следните резултати:

изолиране, пречистване и характеризиране на няколко липид-свързващи белтъци с антигенни свойства (от *Fasciola hepatica*, *Hymenolepis nana*, *Moniezia expansa*, *Trichinella spiralis* *Ascaris suum* и *Ascaridia galli*);

флуоресцентен анализ на свойствата на липид-свързващите белтъци от различни хелминти;

нуклеотидните и аминокиселинни секвенции на Ag-LBP55 са идентифицирани и депозирани в GenBank под номер AY587609, нуклеотидните и аминокиселинни секвенции на липид-свързващ белтък от *Ascaridia galli* са идентифицирани и депозирани в GenBank под номера AF95383 и AAC17174;

за първи път са получени резултати за молекулярно таксономични изследвания на различни групи хелминти чрез успешно използване на различни молекулярно-генетични методи (PCR-RFLP, RAPD и секвениране на отделни ДНК локуси).

2. **Деница Теофанова. 2011.** Автореферат на дисертация за присъждане на научната и образователна степен „Доктор“, „ДНК полиморфизми определящи популационните групи на чернодробния метил *Fasciola hepatica* (Platyhelminthes: Trematoda) в Източна Европа“.

Изследвана е генетичната структура на популациите на големия чернодробен метил в три страни от Източна Европа (Гърция, България и Полша) на базата на SNP анализ на три различни генни региона (28S рДНК, мтДНК и β -тубулин 3 гена). Прямо специфичните нуклеотидни полиморфизми в 28S рДНК генния регион са дефинирани две основни линии (b105G и b105A), относително равномерно разпределени в проучваните страни и допълнителни групи, специфични само за гръцката или само за полската популация. Аналогично, за мтДНК генен регион са определени две основни линии (CtCmt1 и CtCmt2), повсеместно разпространени в трите изследвани страни. Линията CtCmt2 обхваща седем хаплотипа, специфични само за южната (Гърция) или северна (Полша) популация на *F.hepatica*. Данните от анализа на β -тубулин 3 гена не показаха наличието на ясно изразени линии или групи. Въпреки това се запазва тенденцията към разграничаване на северната и южната популации, изразяващо се в намаляваща честота на полиморфизмите в посока от Гърция към Полша. Резултатите от настоящото изследване показват наличието на обособено генетично структуриране на популациите на *F.hepatica* в Източна Европа с ясното им разграничаване в северните и южни райони. Предложени са две възможни хипотези обясняващи наличието на това диференциране. Те се основават съответно на териториалната и популационна дистанция в миналото, и на генетичния дрейф при реколонизацията на *F.hepatica* в освободените от ледниковите шапки географски райони след последната ледникова епоха. Сравнението на трите анализирани генни региона определя мтДНК регион като най-подходящ молекулен маркер при изследването на генетичната структура на популациите на големия чернодробен метил. рДНК и изследваният соматичен ген са неподходящи молекулни маркери при популационни и филогенетични изследвания, но имат принос при интерпретацията на резултатите и детайлизиране на получената информация. Като цяло дисертационния труд представя актуална информация за генетичната структура на популациите на големия чернодробен метил в Източна Европа, като дава възможност и за бъдещ сравнителен анализ с популации от други страни или с представители на *F.hepatica* при дивите животни.

Публикации, които са извън дисертацията

3. Tsocheva-Gaytandzhieva N., Petkova S., Radoslavov G., **Teofanova D.**, Hrusanov, D. **2012.** Biochemical characteristics of thermostabile biologically active substance inhibitor of cell proliferation isolated from livers of *Trichinella spiralis* infected rats. Scientific conference “Traditions and modernity in veterinary medicine”, 2012, Yundola, Bulgaria. 319-324.

Изолирани са термостабилни биологично активни вещества (БАВ) – инхибитори на клетъчната пролиферация от черен дроб на здрави и инвазирани с *Trichinella spiralis* плъхове. Направена е SDS-електрофореза на двете БАВ. Установено е наличието на 6 протеинови банда. Направено е SE-HPLC разделяне при нативни условия. При БАВ изолирано от черен дроб на здрави плъхове са установени три фракции, а при БАВ изолирано от черен дроб на плъхове инвазирани с *T. spiralis* – две фракции с по-силен

интензитет. Предполагаме, че различията се дължат на промяна на имунитета от инвазията.

4. **Teofanova D.**, Radoslavov G., Mehandzhiyski I., Yoveva A., Zagorchev L., Hristov P. **2011.** Selection and breeding of Bulgarian Rhodopean cattle with respect to milk proteins polymorphism. *Analele IBNA*. 27, 15-25

Алелните варианти на гените за млечните белтъци играят съществена роля в генетичното подобряване на млекодайнните породи животни. Настоящото изследване показва влиянието на генетичните варианти на капа-казеиновия и бета-лактоглобулиновия ген върху производството и качеството на млякото на Българското родопско говедо. Чрез PCR-RFLP анализ 63 животни от тази порода бяха генотипирани по капа-казеиновия ген и 86 за бета-лактоглобулиновия. Резултатите за капа-казеиновото генотипиране показват превъзходство на хетерозиготния АВ генотип по отношение на млекодобива и млечно масло и доминирането на хомозиготния АА генотип по отношение на съдържанието на белтъци и мазнини. За разлика от данните за капа-казеина, алелът В на бета-лактоглобулиновия ген се свързва с по-високи стойности на млекопроизводството, млечно масло и съдържание на мазнини. По-високото съдържание на протеини в млякото се определя от АА генотипа. Анализът на полиморфизмите в капа-казеиновия и бета-лактоглобулиновия ген акцентира върху влиянието на генетичните варианти върху количествените и качествените характеристики на млякото. Това дава възможност да се контролира селекцията и развъждането на млекодайни говеда с определени млечни характеристики и да се запази генофонда на Българското родопско говедо.

5. **Teofanova D.**, Hristov P., Yoveva A., Radoslavov G. **2011.** Application of mitochondrial DNA as a molecule marker for definition of genetic structure of liver fluke (*Fasciola hepatica*) populations. Anniversary Scientific Session "110 years NDSRVMI". 8-9 November. Sofia. Bulgaria. 167-172.

Паразитните заболявания са сериозен проблем за хуманната и ветеринарната медицина, икономиката и селското стопанство. Едно от тези заболявания е фасциолозата, причинявана основно от *Fasciola hepatica* (големия чернодробен метил). Понастоящем загубите за животновъдството в световен план в следствие на фасциолозата се оценяват на около 3,2 милиарда USD на година. Инвазията при хората дълги години се е смятала за случайна, но в днешни дни се приема за сериозен проблем. Имайки предвид всички тези факти е очевидна необходимостта от увеличаване на познанията за популационната структура и генетичното разнообразие на *F. hepatica*. Множество молекулярни и генетични техники се използват за тази цел. Част от тези методи се базират на идентификацията на молекулни маркери за дефиниране на генетичната вариабилност или за генетичното разграничаване на географски изолати. В това отношение анализът на единичните нуклеотидни полиморфизми след директно секвениране на митохондриални гени се е доказал като най-надеждния метод при изследванията на генетичното разнообразие на *F. hepatica*. Информацията за тези вариации би могла да увеличи познанията за видовата принадлежност, разграничаването на близкородствени видове и вътревидовата структура на популациите на големия чернодробен метил.

6. Hristov P., **Teofanova D.**, Mehandzhiyski I., Yoveva A., Radoslavov G. **2011.** Selection of dairy cows with respect to kappa-casein gene polymorphism. *Journal of Mountain Agriculture on the Balkans*. 14 (4), 667-677.

Използването на генетичния полиморфизъм на капа-казеиновия ген е обективна и надеждна стратегия при селекцията и развъждането на селскостопанските животни.

Целта на изследването е да се проучи влиянието на алелните форми на посочения ген върху млечната продуктивност и качествените показатели на кравето мляко при Българското родопско говедо. 63 животни от породата бяха генотипирани по капа-казеиновия ген посредством PCR-RFLP анализ. По отношение на млечната продуктивност и млечното масло беше установено доминантното влияние на хетерозиготния АВ генотип. Животни хомозиготни по А алела на гена показват най-високо съдържание на протеини и мастни вещества в кравето мляко. Анализът на полиморфизма на капа-казеиновия ген подчертава влиянието на генетичните му варианти върху количествените и качествени показатели на кравето мляко. Това дава възможност да се направлява селекцията и развъждането на млечните породи говеда с оглед съвременните изисквания на световната млечна индустрия.

7. Hristov P., **Teofanova D.**, Zlatarev S. **2008**. Genetic polymorphism of the principal milk proteins in the species *Bos taurus*. Diffusion and influence of the genetic variants with the quantitative and qualitative milk traits. *J. Anim. Sci.* 3, 227-236.

Основната цел в млечната индустрия е да се дефинира ефикасен и икономичен начин за увеличаване на добива и качеството на млякото. Специфичните белтъци на кравето мляко включват четири казеина (α S1-, α S2-, β - и κ -казеин) и два суроватъчни белтъка (α -лакталбумин и β -лактоглобулин). Много изследвания показват, че вариантите на тези белтъци вероятно са асоциирани с добива и състава на млякото и производството на сирене. Следователно гените за млечните протеини могат да бъдат полезни като допълнителен критерий за селекция на определени млекодайни породи говеда. Целта на този обзор бе да се даде информация за дефинирането и разпределението на генетичните варианти на шестте основни млечни протеина при вида *Bos taurus*. Специално внимание е отделено на връзката между генетичните варианти и качествените и количествени характеристики на млякото, както и на технологичните му свойства.

III. Глави от книги в международни издателства – формата на изданията на публикации 2-4 не включва резюмета.

1. **Teofanova D.**, Odjakova M., Abumhadi N., Zagorchev L. **2018**. Strigolactones in interspecies interactions: mediators of abiotic stress response, weak point in parasite attraction. **Chapter in** “Plant Tolerance to Environmental Stress: Role of Exogenous Phytoprotectants” Editors: Mirza Hasanuzzaman, Masayuki Fujita, Hirosuke Oku and Md. Tofazzal Islam. Publisher: Taylor & Francis Group, LLC, 6000 Broken Sound Parkway NW, Suite 300, Boca Raton, Florida 33487, U.S.A. **In press.**

Стриголактоните са растителни хормони, получени от каротеноидния биосинтетичен път. Първоначално те са идентифицирани като ключови химични сигнали, отговорни за кълняемостта и локализирането на гостоприемниците от кореновите паразитни цъфтящи растения от родовете *Striga* и *Orobanche*. Оттогава много от техните функции са изяснени, включително стимулирането на растежа, разклоняването на хифите на симбиотичната арбускуларна микориза и развитието на корена. Стриголактоните са също важни регулатори на стресовия отговор, свързвани с толерантността към абиотични стресови условия като суша, засоляване, топлина, недостиг на хранителни вещества и т.н. Позитивният им ефект се постига чрез подобряване на кореновата архитектура, взаимодействие с класическите хормони при стрес (най-вече абсцисиева киселина) и подобрена микоризна

симбиоза, което води до повишаване на толерантността към стрес. Екзогенното приложение на синтетични аналози на стриголактоните като GR24 и повлияването на биосинтетичния път потвърждава тяхната роля в стресовия отговор. В същото време повишеното производство на стриголактони може да доведе до повишена чувствителност на културните растения към инфекция с паразитни растения, а вероятно и с други патогени. Тази двойна роля на стриголактоните създава ново поле за изследвания в манипулирането на устойчивостта към стрес на културните растения.

2. Zagorchev L., **Teofanova D.**, Odjakova M. **2016**. Ascorbate–Glutathione Cycle: Controlling the Redox Environment for Drought Tolerance. **Chapter in** “Drought Stress Tolerance in Plants”, Vol 1. pp. 187-226. Mohammad Anwar Hossain, Shabir Hussain Wani, Soumen Bhattacharjee, David J Burritt, Lam-Son Phan Tran (Eds.), Springer International Publishing. DOI 10.1007/978-3-319-28899-4; Print ISBN 978-3-319-28897-0; Online ISBN 978-3-319-28899-4.
3. Hristov P., **Teofanova D.**, Mehandzhiyski I., Zagorchev L., Radoslavov G. **2012**. Application of Milk Proteins Genetic Polymorphism for Selection and Breeding of Dairy Cows in Bulgaria, **Chapter in** “Milk Production - Advanced Genetic Traits, Cellular Mechanism, Animal Management and Health”, Narongsak Chaiyabutr (Ed.), ISBN: 978-953-51-0766-8, InTech, Available from: <http://www.intechopen.com/books/milk-production-advanced-genetic-traits-cellular-mechanism-animal-management-and-health/application-of-milk-proteins-genetic-polymorphism-for-selection-and-breeding-of-dairy-cows-in-bulgar>.
4. **Teofanova D.**, Hristov P., Yoveva A., Radoslavov G. **2012**. Issues associated with genetic diversity studies of the Liver Fluke, Fasciola hepatica (Platyhelminthes, Digenea, Fasciolidae). **Chapter in** “Genetic Diversity / Book 4”. InTech Open Access Publisher. Prof. Mahmut Caliskan (Ed.), InTech, Available from: <http://www.intechopen.com/books/genetic-diversity-in-microorganisms/issues-associated-with-genetic-diversity-studies-of-the-liver-fluke-fasciola-hepatica-platyhelminthes>.

IV. Публикации в научно-популярни издания – формата на изданията не включва резюмета.

1. Hristov P., **Teofanova D.**, Radoslavov G. **2010**. Usage genetic polymorphism of milk proteins for selection and breeding of dairy cattle in Bulgaria. NOVOSTI-BAS. 2 (78), 3-4. (Христов П., Теофанова Д., Радославов Г. 2010. Използване на генетичния полиморфизъм на млечните протеини при селекцията и развъждането на млечните породи говеда в Р. България. НОВОСТИ-БАН. 2 (78), 3-4.)
2. **Теофанова Д. 2016**. Древните житни култури – генетичен ресурс за устойчиво земеделие и подобро качество на живот. Списание “Българска наука”, брой 86, 24-33. ISSN: 1314-1031. (**Teofanova D. 2016**. Ancient cereals - genetic resource for sustainable agriculture and improved quality of life. Bulgarian Science journal. 86, 24-33. ISSN: 1314-1031)

05.2018 г.

София



/гл.ас. д-р Д. Теофанова/