



РЕЦЕНЗИЯ

от проф. д-сн Лилян Крумов Сотиров, сек. Генетика, Ветеринарномедицински
Факултет при Тракийски Университет,
Стара Загора

на дисертационен труд "Анализ на критерии за селекция по естествена резистентност към нематоди при овце" с автор ас. Виктория Емилова Маринчева и научен ръководител доц. д-р Андрей Куртенков. Област на висше образование: 6. Аграрни науки и ветеринарна медицина Професионално направление: 6.4. Ветеринарна медицина Научна специалност: „Развъждане на селскостопанските животни, биология и биотехника на размножаването”.

Биографични данни

Асистент Виктория Маринчева е родена на 02.12.1983 г. в гр. София. Начално образование завършва в 144 СОУ „Народни будители”, паралелка с разширено обучение по музика и пиано, а средно в 81 СОУ „Виктор Юго”, паралелка с разширено обучение по английски и немски език. Висшето си образование завършва през 2008 г. в Лесотехнически университет, София, специалност „Ветеринарна медицина”. От 2009 до 2016 г. работи като ветеринарен лекар в многопрофилна клиника за дребни животни, с основна сфера на отговорност вътрешни болести и кардиология. В периода 2016-2020 г. е управител и главен лекар на ветеринарна клиника „Франциска” към фондация Animal Rescue, София. През 2020 г. след спечелен конкурс постъпва на работа в ЛТУ, ФВМ, катедра „Животновъдни науки”, като асистент по дисциплините Генетика и развъждане на животните, Животновъдство и Кинология.

Представеният ми за рецензиране труд съдържа 195 стандартни машинописни страници, които включват текст, таблици, диаграми, снимки и литературен списък. Цитирани са 392 автора от които 17 на кирилица, а останалите на латиница.

Литературният преглед е доста подробен и е представен в 13 точки. Представената информация има за цел да даде представа за изследванията върху показателите, които са обект на интерес в този проект на дисертационен труд. Въз основа на направеното проучване авторката и нейния научен ръководител си поставят за цел на дисертационния труд да се направи анализ на някои критерии за отбор по белег естествена резистентност към стомашно-чревни нематоди при овцете и оценка на тяхната приложимост в практиката. За изпълнението на тази цел са формулирани 9 задачи:

1. Определяне на здравния статус на стадото.
2. Извършване на лабораторни изследвания на кръвта.
3. Провеждане на паразитологични изследвания:
4. Измерване на някои екстериорни показатели.
5. Оценка на телесното състояние (body condition scoring = BCS).
6. Оценка по замърсяване с фекалии (dag score).
7. Въвеждане на системата FAMACHA (система за степенуване на тежестта на

анемия по цветна таблица).

8. Установяване на взаимовръзка между изследваните показатели и статистически анализ.

9. Анализ на климатичните фактори в периода на пробовземане.

За реализация на проекта са използвани общо 46 опитни животни, от които 25 овце майки, 9 кочове разплодници, 12 дзвизки. Индивидите са подбрани на случаен принцип в стадо от около 800 животни, от които приблизително 450 овце майки, 15 коча разплодници и 250 дзвизки. Опитът е проведен през 2021 г. Стадото се намира в регистриран животновъден обект на територията на област Хасково и се състои от породи за мляко, като голяма част от популацията включва породата асаф на пето поколение след кръстосване с местни овце, няколко животни от породата аваси (микс или чистокръвни) и един коч Лакон.

Използван е Индивидуален протокол за изследване на опитните животни. Подробно са описани използваните реактиви, лабораторни прибори и апарати. Посочени са и кои клинични, биохимични и хематологични признаци са изследвани. За да се изпълнят поставените задачи са извършени са седем биологични опита. Резултатите от проведените опити са подложени на статистически анализ с Microsoft Excel 2016. Посочени са средните стойности при стандартно отклонение ($X \pm SD$), минимална и максимална стойност, коефициент на корелация, изчислен посредством функция CORREL и статистическа достоверност ($p < 0.05$) на базата на регресионен анализ. Част от данните са представени като процентно съотношение с цел по-ясно разбиране на резултатите.

Получените резултати са представени както следва:

Първи биологичен опит: Проследяване на степента на опаразитеност при овцемайки от следродилния период до момента на очаквано покачване в броя на СЧН. Направени са три изследвания през месеците февруари, април и май на 2021 г. Резултатите са представени като средно аритметично \pm квадратното отклонение (SD). Прави впечатление, че SD е с по-високи стойности от средното аритметично, което е странно и ако цифрите са верни това показва огромно вариране на изучавания признак, което от своя страна изисква сериозен анализ на получените резултати.

Втори биологичен опит: Проследяване на степента на опаразитеност при кочове разплодници. Резултатите са подобни на първи биологичен опит.

Трети биологичен опит: Изследване на нивото на опаразитеност при дзвизки. Същият резултат.

Четвърти биологичен опит: Измерване на някои екстериорни показатели. Измерването е направено с линеен метър в изправено положение на тялото. Изчислени са индекс на разтегнатост и индекс на сбитост, които дават допълнителна информация за конформацията на тялото при категория овце майки. Резултатите са представени в табл. 7

Пети биологичен опит: Оценка на телесното състояние (BCS). Резултатите са представени в табл. 8, 9 и 10.

Шести биологичен опит: Оценка на степента на фекално замърсяване (Dag score). Резултатите са представени в табл. 11, 9 и 13.

Седми биологичен опит: Оценка по системата FAMACHA.

Отчитане на поредността на оагване при овцете майки и други зависимости:

Има описателен характер и има значение за дискусията.

Хематологични и биохимични изследвания

В Таблица 17 са представени Референтни стойности на хематологичните показатели при овцете от различни източници. За това изследване значение имат само референтните стойности за апарата Анализатор Mindray BC-2800 Vet., защото изследването на експерименталните животни е извършено с този апарат. Останалите референтни стойности би могло да се използват в дискусията. Всички хематологични изследвания при овце майки извършени през месеците февруари и май са в границите на цитираните референтни стойности. Подобни са резултатите при кочовете и дзвизките. Биохимичните показатели креатинин, аланин аминотрансфераза, аспартат аминотрансфераза, алкална фосфатаза, гама глутамилтрансфераза, общ билирубин, глюкоза, албумин, общ белтък, глобулин, урея, холестерол, триглицериди, калций, фосфор, магнезий, калий, натрий, креатинин при овцете, дзвизките и кочовете отговарят на референтните за биохимичния Анализатор Mindray BA-88A.

Диференциална кръвна картина и процент еозинофили

Изготвянето на диференциална кръвна картина с изчисляване на процентното съдържание на еозинофили в периферната кръв цели да потърси връзка с резултата от FEC. По тази причина разстилки са правени при всяко взимане на фекална проба. Средните стойности при овцете майки са изчислени както следва: 3.3 ± 2.09 % за 27.02.2021, 4 ± 2.06 % за 4.04.2021, 6.25 ± 4.16 % за 9.05.2021 г. Процентното съдържание на еозинофили варира от 0 до 9 % на 27.02.2021, от 1 до 8 % на 4.04.2021, от 1 до 17 % на 9.05.2021 г. Средните стойности при кочовете се равняват на 5.63 ± 2.6 % на 4.04.2021 и 3.13 ± 1.69 % на 9.05.2021 г. Границите на показателя са от 0 до 11 %. При дзвизките процентът на еозинофили е 4.66 ± 1.88 % с минимална стойност от 2% и максимална от 7%.

Съотношение албумин:глобулин

За групата на овцете майки средната стойност на съотношението албумин:глобулин е 0.78 ± 0.11 на 27.02.2021 г. и 0.68 ± 0.1 на 9.05.2021 г. При кочовете средната стойност е равна на 0.84 ± 0.22 на 4.04.2021 г. и 0.79 ± 0.17 на 9.05.2021 г. При дзвизките средната стойност е равна на 0.83 ± 0.13 .

Статистически анализ

Установена е корелация между показателите на червения кръвен ред (еритроцити, хемоглобин, хематокрит) и стойностите получени при FEC, която варира от слаба до висока с положителен или отрицателен знак. Подобни са и резултатите за връзка между FEC и биохимичните показатели. Взаимовръзката между оценката по системата FAMACHA и FEC варира от умерена до висока. Корелацията между някои телесни измервания и FEC варира от слаба при овцете майки до висока при кочовете, но винаги е отрицателна, което означава, че при едрите и добре развити животни броят на паразитните яйца е нисък. Връзката между Dag score и FEC варира от слаба отрицателна при кочовете до висока при овцете майки и

дзвизките. Поредността на оагнянето не влияе върху стойностите на FEC, израз на което е ниския корелационен коефициент. Процентът на животни с ВИСОК и НИСЪК FEC при овцете майки и кочовете варира от 12% до 56%. Представени са и метеорологични данни за времето на експеримента.

ДИСКУСИЯ

В този раздел се прави анализ на получените резултати. Според авторката подборът на разплодни животни, които отговарят на определени качества, представлява важен принцип в развъдната практика и цели устойчиво предаване в потомството. При овцете майки при първите две изследвания най-висок е процентът на животните със среден до висок FEC (EPG 250-750) - 44%, като тези стойности намаляват до 32% в края на опитния период. Животните с висок FEC (EPG над 750) обхващат 36% през следродилния период и впоследствие намаляват до 20% и накрая до 12%. При животните с нисък FEC процентът постепенно нараства: от 4% до 8% и 28% с EPG 50 в началото на месец май, като от началото на месец април се установяват 4% с EPG 0. При кочовете за разлика от овцете майки се установява постоянно процентно съотношение на индивидите с нисък FEC - 33%. Увеличава се процентът на тези с висок FEC, като от 11% достига 44%. При дзвизките поради извършеното обезпаразитяване на 10 февруари 2021 г. резултатите не могат да се приемат за обективни. Според авторката имунологичната реактивност осигурява експулсия на възрастните форми и потискане на плодовитостта на женските паразити. Известно е явлението самоизлекуване, при което ларвите или възрастните стадии се изхвърлят от организма без да се налага използването на лекарствени средства. Експулсията се основава на хиперсекреция на муцин, повишена концентрация на хистамин и левкотриени, а също на засилена перисталтика. Способността на индивида да ограничи или намали паразитното натоварване е част от явлението резистентност. Друга важна категория са овцете майки, които показват постоянен НИСЪК FEC или под 250 EPG. Отбора по белег НИСЪК FEC е широко използван особено в опитните и комерсиалните стада на Австралия и Нова Зеландия. От икономическа гледна точка това означава по-малко загуби заради намалена продуктивност, болест, използване на лекарствени средства и в някои случаи дори смърт. Развъждането на стада резистентни към СЧН се оценява като наложително в световен мащаб заради понижената ефективност на познатите обезпаразитяващи средства и търсенето на храни с ограничено съдържание на химически остатъци. Когато се разглеждат овцете със СРЕДЕН FEC (250-750 EPG), трябва да се направи оценка доколко паразитната инвазия повлиява общото състояние и продуктивността. Оказва се за щастие, че овцете с постоянно ВИСОК FEC (над 750 EPG) не са много. Ако тези животни не проявяват никакви други изключително ценни качества, които следва да бъдат запазени, то те трябва да бъдат бракувани като основни разпространители на СЧН, които освен това ще изискват разходи за обезпаразитяващи средства и с голяма вероятност ще понижат продуктивността си. Изследвана е и зависимостта между обезпаразитяване и FEC при овце майки. Установено е, че въпреки извършеното обезпаразитяване в следродилния период при значителна част от животните (9 броя) се установяват високи стойности в EPG (над 750). Подобен анализ е

направен и за кочовете като е подчертано, че изборът на резистентни разплодници е много важен поради факта, че тези разплодници оказват сериозно влияние върху потомството си по отношение устойчивост срещу паразити. За селекцията с най-голямо значение са тези с постоянно НИСЪК FEC. При ВИСОК FEC селекцията става отрицателна и такива индивиди би следвало да се бракуват.

Екстериорни показатели и индекс

Установено, е че телесните измерения и изведените от тях индекси показват сравнително добра изравненост на стадото. Това от своя страна отразява условията на отглеждане, степента на охраненост и здравословното състояние на животните.

Оценка на телесното състояние

Авторката констатира, че общото телесно състояние на овцете е в пряка връзка със степента на опаразитяване като посочва конкретни примери. При овца № 1 се установява значително понижение на FEC от 900 до 50 EPG и съответно подобрене в BCS. При овце № 9 и 20, които показват ВИСОК FEC за целия период, BCS се понижава до 2.

Според представените резултати BCS при кочовете показва по-високи нива, които се обясняват с едрината на тялото и по-добрата замускуленост при мъжкия пол. Животните са в много добра кондиция и оценката по BCS се равнява на 3, а при коч № K2 на 3.5 за двете дати. Коч № K4 с оценка 3 на 4.04. и 2.5 на 9.05. се отчита повишаване на FEC от 700 на 2650 EPG, като едновременно с това оценката по FAMACHA се променя от 3 на 4.04. на 4 на 9.05. При дзвизките телесното състояние за опитните животни от тази група се приема за задоволително.

Оценка на степента на фекално замърсяване (Dag score)

При оценката по Dag score се установява значително влошаване на показателя с излизане на овцете, кочовете и дзвизките на паша. Авторката правилно обяснява, че освен от опаразитяването този показател силно се влияе и от други фактори като гъбични ендозити, диета и физиологично състояние.

Оценка по системата FAMACHA

Според авторката и други цитирани автори тази система за оценка е доста субективна, защото зависи от състоянието на изследващия, осветеността на помещението или слънчевата светлина. При конкретното стадо поне по мнение на авторката нормалният цвят на конюнктивата при клинично здрави животни съответства на 3 по системата FAMACHA. Според литературните данни такива животни трябва да се преглеждат редовно, особено ако попадат в категорията на агнетата и лактиращите овце, като обезпаразитяване се прилага при първите признаци на заболяване.

Хематологични и биохимични изследвания

Както се констатира в раздел „Резултати“ при болшинството животни хематологичните и биохимични показатели са границите на референтните стойности установени за използвания биохимичен анализатор. Отклоненията установени при отделни животни може да се дължат на възпалителен и/или инфекциозен процес – например копитен гнилец, от който страда голяма част от популацията, която се използва за експериментите и животните

с изразена куцота са били изключени още в началото на изследванията; друга причина може да бъде субклиничен мастит и др.

Показатели свързани с функцията на бъбреците

Стойностите на показателя креатинин са в рамките на референтните граници, което потвърждава запазената бъбречна функция при всички изследвани групи. Установено е, че екскрецията на този метаболит не зависи от типа на приемания фураж. Коефициентът на корелация спрямо FEC е равен на 0.036 за овцете майки, - 0.084 за кочовете и 0.026 за дзвизките. Тъй като резултатите са близки до нула не може да се изведе взаимовръзка между двата показателя.

Показатели свързани с чернодробния метаболизъм

Изследването на тези показатели може да бъде добър индикатор за стрес, включително такъв причинен от опаразитяване със СЧН. Цитират се автори, които посочват, че чернодробните ензими сериозно се влияят от сезона и степента на опаразитяване. Липсата на общовалидни референтни стойности при овцете налага да се работи с границите, определени от конкретната лаборатория и апаратурата, с която тя разполага.

Показатели свързани с метаболизма на въглехидратите и белтъчния метаболизъм

Получените от това изследване резултати при различните категории животни са в рамките на референтните стойности определени за използваната апаратура. Важно е да се подчертае запазенния белтъчен баланс на фона на установена паразитна инвазия. Животните са способни да понесат опаразитяването без да развият хипоалбуминемия или хипопротеинемия. Дори при индивидите с ВИСОК FEC нивата остават сходни с тези на другите индивиди от опитната група. Хипоалбуминемия може да се очаква при белтъчен недостиг и кахексия. И при трите категории животни не е намерена взаимовръзка между FEC и концентрацията на глобулините. Намерена е обаче корелацията между нивата на общ белтък/албумин и общ белтък/глобулини. Изведените корелации, представени в таблици 54 и 55 в раздел резултати, показват, че съществува статистически значимо отношение между FEC/общ белтък/глобулини в околородилния период при овцете майки, когато са отчетени и най-високите нива на паразитна инвазия. На по-късен етап тази връзка е по-слабо изразена. При кочовете това отношение е по-ясно изразено при изследванията на 9.05., които съвпадат с повишаване на броя на паразитните яйца. При дзвизките корелацията е слаба и с отрицателен знак. Може да се направи заключението, че нивата на общ белтък и глобулини показват положителна корелация с FEC само при високи стойности на EPG, но тази връзка не е постоянна и не може да послужи като показател при анализа на клиничното състояние на животни заразени със СЧН.

Показатели свързани с метаболизма на мазнините, макро и микрелементите

Стойностите на тези показатели при болшинството животни от трите категории са в рамките на референтните стойности характерни за използваната апаратура.

Процентно съдържание на еозинофили и FEC

Установено е, че еозинофилията представлява показател за реактивността на организма спрямо паразитна инвазия. Овце, селектирани за резистентност към *Haemonchus contortus*,

се характеризират с повишено процентно съдържание на еозинофили. При експериментална инфекция на агнета с *Trichostrongylus colubriformis* нивото на еозинофилия е използвано като индикатор за развитие на резистентност на гостоприемника. На базата на получените резултати при естествена инфекция със СЧН може да се изкаже мнението, че липсва ясна взаимовръзка между показателите процент еозинофили в периферната кръв и FEC. За да се повиши достоверността на изводите диференциална кръвна картина е правена при всяко взимане на фекална проба. Въпреки това голяма част от експерименталните данни на други автори не могат да бъдат потвърдени. Направен е анализ на получените собствени резултати с тези на други автори.

Установяване на взаимовръзка между показателите на червения кръвен ред (еритроцити, хемоглобин, хематокрит), FAMACHA и стойностите от FEC

Овце майки:

При овцете майки коефициентът на корелация между стойностите на FEC и оценката по FAMACHA на 27.02 е равен на 0.4 (0.416); на 9.05 коефициентът се повишава до 0.8 (0.813), което се дължи на намаляване на броя на паразитните яйца при запазване на оценката по FAMACHA за групата. Тези стойности са близки до + 1 и дават статистически значима връзка между изследваните характеристики. Когато обаче се направи сравнение на индивидуално ниво, резултатите не са така еднозначни, особено когато в оценката се добавят кръвните изследвания. Според мен това не трябва да се прави, защото статистическите показатели характеризират извадката, а чрез нея и генералната съвкупност като цяло и те не могат да характеризират отделната единица. Изводи се правят на база средни статистически показатели, а не на отделни резултати. При кочовете и дзвизките резултатите са сходни.

Установяване на взаимовръзка между Dag score и FEC

При оценката по Dag score на овцете майки в началото на опитния период (27.02) животните са класифицирани като 1 (52%) или 2 (48%), а фекалиите са предимно оформени и по-рядко меки неформени. На базата на изведените данни авторката заключава, че съществува корелация между Dag score и FEC - при по-висок Dag score се очаква също повисок FEC; това важи за 48% от овцете майки. Установява се коефициент на корелация 0,7 (0.698), който показва значима статистическа зависимост. В края на опитния период (9.05) се изчислява следното разпределение: 20% с Dag score 2, 56% с Dag score 3 и 24% с Dag score 4. Коефициентът на корелация е 0.3 (0.275) и съответно взаимовръзката между двата показателя става значително по-ниска. Тук отново трябва да се подчертае, че Dag score зависи от редица други фактори и най-вероятната причина за повишаване на показателя е прясната паша през пролетния сезон. При сравняване на данните за Dag score на 27.02. и 9.05. при овцете майки е установена статистически значима разлика ($p < 0.05$). Dag score при повечето кочовете на 4.04. е 2 като фекалиите са предимно оформени, а FEC варира от 50 до 800 EPG.

Установяване на взаимовръзка между поредността на оагване и FEC

Коефициентът на корелация между посочените признаци е с отрицателна стойност: - 0.005 спрямо FEC на 27.02. и - 0.05 спрямо FEC на 4.04. и 9.05, което означава, че няма връзка между тях.

Установяване на взаимовръзка между пол и FEC

Наблюдавано е трайно понижаване в средния брой паразитни яйца при овцете майки и повишаване при кочовете без да е извършвано обезпаразитяване. На базата на тези данни авторката изказва мнение, че мъжките животни са относително по-чувствителни към инфектиране със СЧН. Според цитираните автори това може да се обясни с имunosупресивния ефект на тестостерона и по-високата консумация на трева.

Анализ на климатичните фактори в периода на пробовземане

Авторката установява връзка между климата и опаразитяването на животните, което е в синхрон с цитираните автори, според които затоплянето дава по-добри възможности за развитие на паразитите в умерените региони и като следствие се наблюдава модифициране в нивото и времето за проява на инфекцията.

На базата на цитираните по-горе резултати авторката и научния ръководител заключават, че разпространението на гастроинтестинални нематоди и зачестяването на случаите с понижена или липсваща ефективност на познатите обезпаразитяващи средства налага преоценка на досегашните стратегии за справяне с този тип инфекции и разработване на нови методи за ограничаване на икономическите загуби в овцевъдството. Един от най-перспективните и дълготрайни подходи представлява отбора по белег НИСЪК FEC, като целта е да се установят породи или да се формират популации с естествена резистентност. Друга възможност е установяването на животни, които проявяват толерантност спрямо паразитите и съответно тяхната продуктивност се повлиява в по-ниска степен.

Изводи. Изводите са 19 на брой и отразяват в концентриран вид получените резултати.

Приноси. Представени са общо 13 приноса, от които 5 са с оригинален характер, а останалите са потвърдителни.

Препоръки за практиката. Поради факта, че направените изследвания имат не само научна насоченост, но и същевременно са интересни и за развъдната и ветеринарномедицинска практика авторката предлага 8 конкретни препоръки, които ако евентуално бъдат приложени в практиката биха довели до по-големи успехи в борбата с паразитите при овцете, но и биха ограничили използването на антипаразитни лекарствени препарати, което от своя страна би намалило резистентността на паразитите към лекарствата.

На базата на получените резултати кандидатката е публикувала три научни статии:

1. **Marincheva V.** (2021) Selective criteria for resistance to gastrointestinal nematodes in sheep. *Zhivotnovadni Nauki* 58(4): 64-75.
2. **Marincheva V., Kurtenkov A.** (2022). Body condition scoring and body measurements of ewes with gastrointestinal nematode infection from Bulgaria. *Zhivotnovadni Nauki* 59(4): 10-15.
3. **Marincheva V., Kanchev K., Manev I.** (2023) Fecal Egg Count and FAMACHA Score in Ewes. *Global Journal of Animal Scientific Research*, 11(1), 1-15.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Констатирах, че в този проект на дисертационен труд е извършена много детайлна работа върху разпространението, възможностите за опаразитяване и естествената устойчивост на овчия вид като цяло срещу стомашно-чревните нематоди. Изследвани са много фактори, които влияят върху този сложен биологичен процес на борба за оцеляване на гостоприемниците и паразитите. Извършена е много по обем работа, която е изпълнена със съдържание и считам, че получените резултати ще са полезни не само за науката, но и за селекционната работа в овцевъдството. На базата на тези констатации препоръчвам на почитаемите членове на Научното жури да присъдят на ас. Виктория Емилова Маринчева образователната и научна степен „ДОКТОР“.

РЕЦЕНЗЕНТ:

Проф. д-р Л. Сотиров