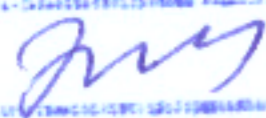


Вх №	799
Дата:	03.09.2018
Дело №	НО-05
Подпис:	

СТАНОВИЩЕ

Относно дисертационния труд на Хелиана Иржи Дундарова на тема „Молекулярна филогения на морфо-групата: *Myotis mystacinus* (Chiroptera: Vespertilionidae) на балканския полуостров“ за присъждане на ОНС „Доктор“ по Професионално направление 4.3. „Биологични науки“, Научна специалност „Зоология“ (01.06.02)

от проф. д-р Румяна Миронова, Институт по молекулярна биология „Академик Румен Цанев“ към БАН

Конвергирането на морфологичните и етологични признаци на индивидите от различни видове, обитаващи едни и същи екологични нисши, често създава проблем при таксономичното им определяне. Такъв е случаят с видовете прилепи от морфо-групата на мустакатите нощници (*Myotis mystacinus*), които се характеризират с голяма морфологична пластичност, наличие на видове-двойници, разпространение на генния поток предимно от мъжките индивиди и честа замяна на митохондриалния геном в резултат на хибридизация. В такива случаи е наложително прилагането на молекулярни и в частност на молекулярно-генетични методи за изясняване на таксономичния статус и филогенетичните връзки на видовете. В своя дисертационен труд Хелиана Дундарова прилага методите на баркодинг и мултилокусен анализ за изясняване на филогенията в морфо-групата на *Myotis mystacinus* и на таксономичния статус на вида *Myotis mystacinus* от Централна Европа, който показва генетични прилики с *M. davidii* от Балканския полуостров.

ЛИТЕРАТУРНИЯТ ОБЗОР е написан задълбочено и аналитично. Подробно са разгледани филогенетичните взаимоотношения в род *Myotis* с акцент върху различната им интерпретация от традиционната и молекулярно-базираната таксономия. По този начин за читателя става експлицитна необходимостта от прилагането на генетични методи за изясняване на еволюционните връзки в рода, тъй като биогеографският произход и морфологичното подобие често са подвеждащи. В обзора е направена задълбочена характеристика на морфо-групата на *M. mystacinus* по отношение на морфологични признаци и ареали на разпространение. В тази част е направена препратка към литературни данни, залегнали в основата на дисертационния труд, а именно: Чрез анализ на митохондриален участък Майер и сътр. (2001, 2007) констатират генетично сходство между *M. davidii* от Балканския полуостров и *M. mystacinus* от Централна Европа като намират, че повечето от анализираните индивиди имат митохондриалния хаплотип на *M. mystacinus*. В края на обзора е разгледано влиянието на ледниковите периоди върху съвременното видово разнообразие, което по-късно помага на докторантката да лансира хипотезата за страната ни като „рефугиум в рефугиума“ на Балканския полуостров. Литературният обзор логично води към основната ЦЕЛ НА ДИСЕРТАЦИЯТА „Да се изясни филогенията в морфо-групата на *Myotis mystacinus* на Балканския полуостров“, за чието реализиране кратко и ясно са формулирани общо 5 задачи.

За целите на генотипирането са събрани общо 550 тъканни проби от представителни на мустакатите нощници в Централна и Западна Европа, на Балканския полуостров, в Кавказ и Монголия. В раздела МАТЕРИАЛИ И МЕТОДИ са описани методите за анализ на тези проби, включващи изолиране на ДНК, PCR-амплификация на маркерните области от митохондриалния и ядрен геном с подходящи за целта праймери и секвениране на ампликоните. За анализа на данните, получени от секвенирането, е използван богат арсенал от компютърни алгоритми (основно на програмите DNAsp 5.10 и Arlequin 3.5.) за генотипиране, за реконструиране на филогенетични връзки и оценка на генетични различия, за анализ на популационната структура и статистическа обработка на данните. Смятам, че използваните експериментални и теоретични подходи са напълно адекватни на поставените цел и задачи. Към този раздел имам само някои **несъществени забележки**: 1) Изразът „изоляция на ДНК“ е по-правилно да се замени с „изолиране на ДНК“, тъй като в българския език думата „изоляция“ има друг смисъл; 2) За ядрените интрони е правилно да се посочат гените, в които те са разположени и съответния номер на интрона, а не номерата на хромозомите; 3) В графи „С_{крайна концентрация}“ на Таблици 1 и 3 за матрицата (ДНК) и ензима (Таq ДНК полимераза) са посочени не концентрации, а количества. Предполагам, че това са количествата матрица и ензим, съдържащи се в 25 µl реакционна смес.

РЕЗУЛТАТИТЕ, получени чрез баркодинга, потвърждават обособяването на мустакатите нощници в два клада, в единия от които попадат *M. mystacinus* и *M. davidii* - основен обект на изследване в дисертацията. Видна е още дивергенцията на тези два вида, които се различават с 10%. Интересни резултати са получени от анализа на ядрените маркери в 76 екземпляра *Myotis* с различни местообитания, от Централна Европа до Монголия. За двете крайни точки на тази ос молекулярно-генетичното определяне съвпада с морфологичното и показва „чистота“ на видовете. Екземплярите от Централна Европа се отнасят към вида *M. mystacinus*, а тези от Монголия – към *M. davidii*. За повечето от балканските и кавказките екземпляри *M. davidii*, обаче, мултилокусният анализ показва, че ядрените им интрони са с хибриден характер, а мтДНК на балканските екземпляри е от *M. mystacinus*. Наблюдавано е добро съвпадение на данните от анализа на популационната структура с тези от оценката на генетичните различия, базирани на ядрените интрони. Това прави убедителен направеният извод за протекла хибридизация между двата вида *M. mystacinus* и *M. davidii*.

ОБСЪЖДАНЕТО е направено умело, без излишни спекулации, в светлината на получените собствени и публикувани литературни данни. Предложен е сценарий, според който по време на последния ледников период Балканският полуостров е бил рефугиум за *M. mystacinus*, който след това отново колонизира Европа. Това може да обясни както възникването на „хибридни“ *M. davidii* на Балканите, така и наличието на „чисти линии“ *M. mystacinus* в Централна Европа. Във връзка таксономичния статус на подвида *Myotis mystacinus bulgaricus*, докторантката изказва мнението, че за разграничаването му от *M. davidii* е необходим анализ на по-голям брой ядрени маркери. По-категорично е

заклучението ѝ за вида, определен като *M. hajastanicus* от района на езерото Севан в Армения. Генетичните анализи не дават основание за обособяването на този вид като различен от *M. davidii*.

Направените ИЗВОДИ и формулираните ПРИНОСИ отразяват вярно и точно съдържанието на дисертационния труд. Приемам ги и изразявам съгласието си с начина, по който в достатъчно информативна форма е представен авторефератът на дисертацията.

По темата на дисертацията са публикувани две статии в рефериращи се списания с импакт-фактор, в едната от които докторантката е първи автор. Забелязан е един цитат на по-рано (през 2016 г.) публикуваната статия. Х. Дундарова е участвала още като първи (представящ) автор в три научни мероприятия, две от които проведени в чужбина. Генотипирането е извършено в Природонаучния музей в Берлин (Германия) под ръководството доц. д-р Фридер Майер. Изградено е ценно международно сътрудничество, което предполагам ще продължи в търсенето на бъдещи „таксономични решения“.

ЗАКЛУЧЕНИЕ

Хелиана Дундарова ни представя едно изследване, проведено с най-съвременни молекулярно-генетични методи за разрешаване на таксономични проблеми и изясняване на филогенетични връзки. Освен че е изпълнил образователното си предназначение, този дисертационен труд е генерирал интересни и оригинални резултати с неоспорим научен принос. Събраните от докторантката кредити и наукометричните ѝ показатели напълно отговарят на изискванията на Правилника на ЦО към БАН и на ИБЕИ-БАН за придобиване на ОНС „Доктор“. Ето защо убедено давам своя положителен вот ЗА присъждането на ОНС „Доктор“ на Хелиана Иржи Дундарова по Професионално направление 4.3. „Биологични науки“, Научна специалност „Зоология“ (01.06.02)

22 август, 2018 г.

Изготвил становището:

/проф. Р. Миронова/