

РЕЦЕНЗИЯ

на дисертационен труд на тема:

„МОЛЕКУЛЯРНА ФИЛОГЕНИЯ НА МОРФО-ГРУПАТА: MYOTIS MUSTACINUS (CHIROPTERA: VESPERTILIONIDAE) НА БАЛКАНСКИЯ ПОЛУОСТРОВ“

Докторант: *Хелиана Иржи Дундарова, Институт по биоразнообразие и екосистеми изследвания към Българска академия на науките с научен ръководител проф. д-р Вълко Бисерков и научни консултанти д-р Кристиан Диц и доц. д-р Фридер Майер (Германия)*

Изготвил: *доц. Светослав Георгиев Димов, Катедра „Генетика“, Биологически факултет на Софийски университет „Св. Климент Охридски“*

Биографични данни за докторанта. Хелиана Дундарова е родена на 09.10.1984 г. в гр. София. През 2007 г. придобива бакалавърска степен в Биологически факултет на СУ „Св. Климент Охридски“ по специалност „Биология“, а през 2011 г. – магистърска степен по Зоология в Природонаучния факултет на Карловия университет в гр. Прага, Република Чехия, защитавайки дипломна работа на тема “Phylogeography of *Rousettus aegyptiacus* in the Mediterranean region”. През периода 2013 – 2016 г. е редовен докторант в Института по биоразнообразие и екосистеми изследвания към Българска академия на науките, където през 2017 г. е назначена за асистент, а през 2018 г. – за биолог. По време на професионалната ѝ кариера тя се обучава и повишава професионалната си квалификация с помощта на четири специализации в Берлинския музей, Германия, сред които и една едногодишна, финансирана със стипендия DAAD. От представените данни се вижда изключителен интерес и последователност при изследванията на прилепите, към които се причислява и темата на представения ми за рецензиране дисертационен труд.

Научна актуалност на дисертационния труд. При голяма част от висшите гръбначни често пъти таксономичните, филогенетичните и популационните изследвания се явяват проблематични. Някои от основните групи причини за това се коренят в наличието на видове-двойници, показващи изключително висока степен на морфологично сходство, докато други произтичат от възможността за успешни междувидови кръстосвания, водещи до невъзможност за определяне на ясна видова принадлежност. Използването на молекулярни маркери и особено на молекулярно-генетични такива предоставя възможност за преодоляване на някои от съществуващите проблеми, но те самите също крият риск от погрешна интерпретация на получените резултати при неправилна концептуална постановка, основно дължащи се на прекалено голямата разграничителна способност на тези, използвани в популационните изследвания, която често пъти води до противоречиви резултати в сравнение с тези, получени на основата на молекулярно-генетични маркери, използвани за филогенетични изследвания, които от своя страна се характеризират с по-ниска разграничителна способност на вътревидово ниво. Отделно често пъти резултатите, получени на основата на молекулярни маркери, са в противоречие с тези, основаващи се на морфологични характеристики, етологични особености и др., на които се базира класическата таксономия. В тази светлина актуалността на представения ми дисертационен труд се проявява в две направления: 1. От чисто методологична гледна точка тя представлява поредното доказателство за приложимостта и ползите от молекулярно-генетичните маркери за филогенетични изследвания при правилна концептуална постановка, която намира баланс между често филогенетични маркери и популационни такива; 2. От гледна точка на конзервационната биология и екологията тя представлява едно уникално и задълбочено изследване в нашата страна и на Балканския полуостров на прилепите от морфо-групата мустакатите нощници *Myotis mystacinus*, даваща същевременно правдоподобен модел за еволюцията им и видообразуването им.

Обща структура на дисертационния труд. Дисертационният труд е развит в рамките на 85 страници и е структуриран по стандартен начин, като

включва следните основни раздели: *литературен обзор, материали и методи и резултати и обсъждане*. Отделно са представени кратък *увод, цел и задачи, изводи, приноси и приложения*, както и *библиографска справка* на използваната литература, включваща около 120 източника, основно от последните години. По мое мнение особено находчиво и удачно се явява представянето на някои от данните и резултатите под форманта на приложения в края на дисертацията, тъй като разпределянето им в изложението по-скоро би утежило текста и затруднило възприемането му.

Дисертационният труд започва с кратък *увод* в рамките на 2 страници, в който се обосновава интересът към използването на молекулярно-генетични методи в таксономичните и филогенетичните изследвания на прилепите от групата на мустакатите нощници.

„Литературният обзор“ е развит в рамките на 11 страници. Той условно е разделен на три смислово следващи една след друга части. В първата част се прави таксономичен преглед на представителите на р. *Myotis*, като удачно се съпоставят резултати по литературни източници, които се основават на класически морфометрични белези със съвременни, базиращи се на молекулярно-генетична таксономия, като докторантката изтъква предимствата и недостатъците на двата типа анализи. Във втората част на обзора, която се явява по-обемна, се прави подробна характеристика на представителите, класифицирани към момента към морфо-групата *Myotis mystacinus*, като тя е малко по-обемна, което е обосновано от факта, че изследователската част на дисертационния труд е фокусирана именно върху тази група, като след представянето на най-съвременните представи за таксономията ѝ, се разглеждат подробно подвидовете *Myotis brandtii*, *Myotis mystacinus*, *Myotis davidii* и *Myotis alcathoe*, срещащи се в Югоизточна Европа. Накрая литературният обзор завършва с подробен анализ на влиянието на климата в Европа от Плиоцена до днес върху разпространението, еволюцията и видообразуването на бозайниците и в частност на прилепите. Разделът е илюстриран с 10 фигури с изключително добро графично качество, които компенсират неговия относително

кратък обем, който се явява донякъде нетипичен според общоприетите представи. От друга страна обаче е коректно да се отбележи, че темата на дисертацията е в голяма степен първопроходна и докторантката не е имала кой знае колко голяма база от литературни данни, които да анализира и върху които да се опре в своята работа. Към този раздел нямам въпроси или други забележки.

„Цел и задачи“. Поставена е една цел, за чието изпълнение са предвидени пет експериментални задачи, чието осъществяване е напълно достатъчно за постигането ѝ. Към този раздел имам една забележка – формулировката на така поставената цел би могло да бъде редактирана, като освен Балканския полуостров, в нея се включи и Кавказ, тъй като в поставените задачи се предвижда взимането на проби и от този географски регион.

„Материали и методи“. Разделът е развит в рамките на 9 страници. Включва методи за събиране и съхраняване на биологичен материал, методи за изолиране на тотална ДНК от събрания материал, методи за размножаване чрез ПВР на специфични райони от ядрената и митохондриалната ДНК, методи за секвениране на ДНК, както и богат набор от разнообразни биоинформатични методи за анализ на последователности и определяне на филогенетично родство. Разделът съдържа три фигури и четири таблици. Всички методи за представени изчерпателно и по напълно възпроизводим от неопитен експериментатор вид. Към този раздел имам следните забележки: 1. Когато се дават условията на центрофугиране е прието да не се посочва скоростта в обороти в минута поради различните диаметри на различните ротори, които дават различни ускорения; 2. Би било по-прегледно да се направи обща таблица за всички използвани праймери, в които да се посочат също и някои от основните им физикохимични параметри, както и литературните източници, ако са взети наготово от такива; и 3. В подточка 4.3.4. присъстват елементи на разсъждение, които биха паснали по-добре в раздел „обсъждане на резултатите“. Към този раздел имам и един въпрос: двойката праймери за амплификация на *nd1* ER65 и ER66 от литературни източници ли е взета или те са авторски, тъй като не е посочено?

Разделът „**Резултати**“ е развит в рамките на 20 страници и е разделен на 5 части, следващи общата логика на извършената експериментална и анализаторска дейност. В първата част са представени резултатите, получени от секвенирането на 450-базовия участък от митохондриалния ген *nd1*, въз основа на което анализираниите представители на морфо-групата *Myotis mystacinus* са разделени в два клада, в единия от които се групират представителите на *M. mystacinus* и *M. davidii* с установени общо 87 различни хаплотипа, докато в другия – тези на *M. al-cathoe* с 14 хаплотипа и *M. brandtii* с 17 хаплотипа. Във втората част на раздела се прави компактен модел за групиране на установените хаплотипове на географски принцип, при което се установява, че отделните популации се различават по степента на генетичното разнообразие, което съществува в тях, както и на генетичната дивергенция. Третата част от раздела включва резултатите от секвенирането на участъци от ядрените гени *ABHD11*, *ACOX2* и *ROGDI*, които се използват отново за оценка на генетичното разнообразие в рамките на отделните популации, като се прави оценка на пригодността на трите алелни маркера за целта на изследването, докато в четвъртата и петата част съответно – оценка на разнообразието вътре в отделните популации и географска дивергенция между отделните популации, отново на основата на трите използвани ядрени маркери. Разделът съдържа 11 фигури и 10 таблици, които са с много добро качество и се явяват високо информативни. Към този раздел имам следните забележки: 1. По мое мнение, предвид на особеностите на анализите и връзките и взаимната обусловеност на получените резултати, много по-удачно би било той да се раздели на два основни раздела: анализ на митохондриални маркери и анализ на ядрени маркери; 2. Фигури 15, 16, 17, и 18 би трябвало да са в подраздел 5.1., където се позовават за пръв път, а не в 5.2, въпреки позоваването на фиг. 15 в този подраздел за втори път; и 3. Подточките на фигура 15 би било да се номерират като самостоятелни фигури, както и да се даде една цялостна, която ги обединява. Към раздела имам и един въпрос: тъй като не е посочено в текста, получените от авторката нуклеотидни последователности за *nd1*, *ABHD11*, *ACOX2* и *ROGDI* депозирани ли са в някоя от международните бази данни?

Раздел „Обсъждане“ представлява последния основен раздел на дисертационния труд, който е развит в рамките на 9 страници и по мое мнение показва най-добре степента на научна компетентност на докторантката, и като такъв се явява най-важен за формирането на оценката ми. Съпоставяйки умело собствените си резултати с такива, които са извадени от литературни източници, и правейки умели и адекватни интерпретации, докторантката не само прави напълно удачни заключения за популационните структури и генетичното разнообразие на морфо-групата *Myotis mystacinus* в Европа и Кавказ на основата на митохондриалните и ядрени маркери, които използва, но стига и да много важни изводи за видообразуването в контекста на ледниковите периоди и свързаните с тях последващи реколонизации и географски изолации, както и такива за междувидовите хибридизации. Като особено достойнство на този раздел се отличава смелостта на докторантката да се еманципира от някои отделни общоприети схващания, които донякъде са в разрез с нейните данни, и да отстоява напълно научно обосновано направените от изводи. Вярвам, че това е свидетелство за научната ѝ зрялост и говори за това, че тя е един компетентен и завършен млад и перспективен учен. Към този раздел нямам забележки и въпроси.

„Изводи“. Формулирани са общо 7 извода. По мое мнение не се забелязват изводи с приносен характер. Като структурна забележка мога да посоча, че извод № 1 по същество представлява три отделни извода, както и да препоръчам обединяването на изводи № 2 и № 6 в един общ, тъй като двата са свързани. Като цяло направените изводи съответстват съдържателно и покриват резултатите от експерименталната работа.

„Приноси“. Формулирани са 5 приноса. Към тях имам следните забележки: 1. Не мога да приема, че № 2 представлява принос; 2. Приноси № 3 и № 4 по същество представляват изводи и се покриват с направените вече изводи; и 3. Не са формулирани някои приноси, които са налице, като например приложението на някои от биоинформатичните методи за пръв път при подобни изследвания на

прилепите в България, доказването на необходимостта от съчетаване на молекулярно-генетични маркери с морфометрични и етологични такива с цел получаване на правилни резултати и др.

Общи забележки върху дисертационния труд. Като цяло представената за разглеждане работа прави добро впечатление на едно завършено цялостно научно изследване по актуален проблем, осъществено с едни от най-модерните молекулярно-генетични и биоинформатични методи в зоологията. Дисертацията е написана на много добър научен стил и грамотен език, като много добро впечатление правят почти пълната липса на правописни и граматически грешки, както и много рядкото използване на чуждици в случаите, когато термините имат общоприет превод на български език.

Към докторантката имам два въпроса по отношение на същността на дисертационния му труд: в резултат на натрупания от нея опит (анализ на литературни данни и получените собствени резултати): 1. Смята ли че огромната, на практика неограничена разграничителна способност на молекулярно-генетичните методи, би довела до съществено преосмисляне на представите в съвременната таксономия на бозайниците и евентуално до хаос или обратното – би изяснила неразрешени въпроси в систематиката?; и 2. При положение, че при различни групи бозайници вътревидовите различия варират от под 0,1% до над 2% на ниво ДНК-последователност, какъв би бил според нея и нейния опит, а не според литературните данни, научно-обоснования процент за различия на ниво ДНК-последователности за видово диференциране при мустакатите нощници?

Автореферат. Представеният автореферат е написан в рамките на 32 страници и съдържа разделите „Увод“ (2 стр.), „Литературен обзор“ (6 стр.), „Цел и задачи“, „Материали и методи“ (6 стр.), „Резултати“ (9 стр.) и „Обсъждане“ (6 стр.), „Изводи“, „Приноси“ и списък с научните публикации и други изяви на докторанта. В него са представени 20 фигури и 11 таблици. Като цяло той повтаря в съкратен вариант дисертационния труд и позволява да се добие добра представа за неговата същност. Към него имам следните забележки: 1. Раздел „Литературен обзор“

донякъде се явява неуместен за един автореферат и може да бъде обединен и заменен с един по-разширен увод; и 2. В автореферата не е необходимо да се описват подробно всички използвани методи, като е достатъчно те само да се изброят. Добро впечатление прави включването в края на автореферата на кратко резюме на дисертационния труд на английски език, което дори бих препоръчал да отиде в неговото начало. Представени са и две научни публикации по темата на дисертацията, като и двете са в реферирани специализирани списания с импакт фактор, както и три участия в специализирани научни форуми, два от които в чужбина. Приятно впечатление прави, че се забелязват вече и цитирания на едната от научните публикации.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ. Въпреки поставените от мен забележки, ще изразя мнението си, че представената ми за разглеждане работа представлява едно завършено и цялостно научно изследване на високо ниво, поради което ще гласувам убедено положително и ще препоръчам и на уважаемите колеги от научното жури също да гласуват също положително за присъждането на образователната и научна степен „доктор“ на докторант Хелиана Иржи Дундарова.

София, 2 август 2018 г.

доц. д-р Светослав Димов