

**РЕЦЕНЗИЯ**

на дисертационен труд на тема

**“Еволюционни процеси при формиране на разнообразието на хименолепидидните цестоци по насекомоядните бозайници от семейство Soricidae”**

за присъждане на научна и образователна степен “доктор”

Научна специалност “Паразитология и хелминтология”

*Автор:* Бойко Стойков Неов

*Научен ръководител:* проф. дбн Бойко Б. Георгиев

*Научни консултанти:* проф. д-р Петър Христов и проф. д-р Тимъти Литълуд

*Рецензент:* проф. д-р Анета Костадинова

**1. Актуалност и значимост на дисертационния труд**

Целта на дисертационния труд е да се разработи хипотеза за филогенията на цестоци от семейство Hymenolepididae, паразитиращи по европейски представители на семейство Soricidae, основана на молекулярни данни, и да се оценят еволюционните процеси с водещо значение за формирането на разнообразието на групата. Значимостта на разработката се определя от факта, че семейство Hymenolepididae се характеризира с високо разнообразие на видове и паразит-гостопримникови системи, както и от изключително слабата степен на изученост на еволюционните процеси при цестодите паразитиращи в бозайници.

Разработката е пример за изследване, ръководено от хипотеза и представлява съществен оригинален принос не само към научните познания за моделната паразит-гостопримникова система, но и към развитието на идеите за еволюционните процеси определящи високото видово разнообразие на семейство Hymenolepididae. Целта, задачите и подходите на изследване са ясно формулирани, а методите актуални и кореспондиращи с естеството на данните и поставените задачи.

## **2. Обща характеристика на дисертационния труд**

Дисертационният труд съдържа общо 58 страници текст (34 на български език и 24 на английски език), включително 8 фигури и 6 таблици, и е структуриран в 7 раздела: Увод (2.5 стр.), Цел и задачи (1.5 стр.), Материали и методи (3.5 стр.), Резултати и обсъждане (25 стр.) представляващи 2 статии на английски език, Обобщение и изводи (12.5 стр.), Забелязани цитирания (0.5 стр.) и Списък на цитираната литература (7 стр.). Списъкът на цитираната литература съдържа 62 заглавия със значителен дял (36, 58%) на съвременни източници (публикувани през последните 10 г.). Отделно са приложени автореферат с резюме на английски език и справка за приносите. Авторефератът отговаря напълно на изискванията.

## **3. Литературна осведоменост и теоретична подготовка на кандидата**

Прегледът на литературата представен в публикациите демонстрира отлична литературна осведоменост на кандидата върху състоянието на изследванията върху цестоди от семейство Hymenolepididae, паразитиращи в бозайници, както и добра теоретична подготовка в областта на методите на филогенетична реконструкция основана на молекулярни данни.

## **4. Методичен подход**

Методологичният подход при разработката на дисертационният труд се характеризира с няколко силни страни: (i) систематизираното набавяне на надеждно определен нов материал гарантиращ разработката на представителни филогенетични хипотези за хименолепидидните цестоди на бозайниците; (ii) адекватно избраната паразит-гостоприемникова система и генни маркери (18S рДНК, 28S рДНК и *cox1*); и (iii) съвременната методология на анализ и проверка на хипотези на основата на молекулярни данни. В хода на изследването са генерирани 36 секвенции за 12 вида хименолепидидни цестоди, паразитиращи по насекомоядните бозайници от семейство Soricidae. Несъмнено, тези нови данни представителни за 7 рода допринасят за постигането на значими резултати. Допълнителни големи предимства на разработката са молекулярната характеризация по три генетични маркера и анализът на еволюцията на редица важни морфологични белези основан на разработените филогенетични хипотези. Считаю, че докторантът притежава отлична теоретична и методична подготовка. Аналитичният подход е подходящ и актуален и е експертно изпълнен в двете публикации, които заслужават висока оценка.

## 5. Значимост и убедителност на получените резултати, интерпретациите и изводите

Убедена съм, че изследването е с изцяло приносен характер. По-важните резултати мога да обобща както следва:

(i) Предложена е филогенетична хипотеза, основана на 28S рДНК на 56 вида от семейство Hymenolepididae, която потвърждава наличието на четирите основни монофилетични групи хименолепидни цестоди от бозайници, дефинирани от Naukisalmi et al. (2010) и допълва представите за техния състав и конфигурация. Установени са ниска степен на поддръжка на базалната позиция на групата “*Ditestolepis*” спрямо останалите три групи; по-слаба поддръжка на групата “*Arostrilepis*”; монофилия на род *Coronacanthus*; полифилия на родовете *Staphylocystis* и *Staphylocystoides*; монофилия на род *Hymenolepis*; монофилия на групата видове, паразитиращи по сънливци (Gliridae); полифилия на *Rodentolepis*; положението на родовете *Pararodentolepis* и *Nomadolepis*, както и на родовете *Neoskrjabinolepis* и *Lineolepis* като сестрински таксони; и близки филогенетични връзки между родовете с пълна редукция на ростелумния апарат.

(ii) За първи път са разработени филогенетични хипотези, основани на 18S рДНК (секвенции за 19 вида) и *cox1* (секвенции за 22 вида), а също и на комбиниран анализ на три генни региона (28S рДНК, 18S рДНК и *cox1*), които подкрепят наличието на четирите основни монофилетични групи установени при анализа на 28S рДНК, но не осигуряват допълнителна разрешителна способност за изясняване на филогенетичните връзки между тях. На основата на анализите на 18S рДНК и *cox1* е предложена хипотезата за бърза диверсификация на хименолепидидите, съпроводена от множество епизоди на колонизация на бозайници от паразити, първоначално еволюирали в птици.

(iii) Предложените хипотези за филогенетичните връзки между хименолепидидите от бозайници са интерпретирани във връзка с характера на дефинитивните гостоприемници и жизнените цикли на хименолепидидите, както и е направен анализ на еволюцията на редица важни морфологични белези на цестодите от изследваната група.

(iv) Получените данни показват сложна еволюционна история на паразит-гостоприемниковите асоциации, в която важно значение могат да имат както процесите

на съвместно видообразуване, така и колонизирането на гостоприемници от паразити, които са еволюирали по-рано в друга група гостоприемници.

## 6. Критични бележки към дисертационния труд

(i) Родовете представени в четирите основни монофилетични групи на хименолепидиди от бозайници дефинирани от Naukiasalmi et al. (2010) не са посочени в увода на дисертацията и в двете публикации. Това затруднява оценката на твърдението в Обобщение и изводи "... представите за техния състав и конфигурация са допълнени от нашите анализи".

(ii) За разлика от Публикация 1, на фигурите в Публикация 2 няма текстова индикация за четирите основни монофилетични групи - това е особено объркващо по отношение на "*Arostrilepis* clade", тъй като в хипотезите липсват 18S рДНК и *cox1* секвенции за *Arostrilepis* spp., които биха послужили за "етикет" на тази група.

(iii) В Публикация 2 липсват данни за дължината на новогенерираните секвенции. Единствено е дадена индикация за броя на нуклеотидните позиции в анализирания файл: "There were a total of 2098 positions in the final dataset for the 18S rRNA [gene - моя корекция] analysis, 558 positions for the COI analysis and 3802 positions for the combined analysis." Новогенерираните 18S секвенции варират от 1807 до 2027 bp, а публикуваните варират от 2085 до 2233 bp. Няма данни за региони, изключени от анализа, така че за мен информацията за алайнмента на 18S рДНК представена в Публикация 2, както и за конкатенираните данни (например защо 3802 а не 2656 bp?) е объркваща.

(iv) Таблица 3 (Публикация 2): Секвенцията на *Hymenolepis microstoma* (AP017665) е на Kikuchi et al. (unpublished), а не на Tsai et al. (2013)

(v) "Kikuchi T, Holroyd N and Berriman M (2019) *Hymenolepis nana* mitochondrial DNA, complete genome. GenBank: AP017666.1. Available at <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/nuccore/AP017666>." не е литературен източник. Датата е също сгрешена - секвенцията е депозирана на 17 октомври 2016.

(vi) Некоректна формулировка: "(including armed and unarmed subgenera)" (също "armed/unarmed genera") (Публикация 1). По дефиниция, родовете (подродовете) са концепции/хипотези (и затова не могат да бъдат "въоръжени" или "невъоръжени") -

видовете са реалните биологични единици, които притежават даден морфологичен белег. Правилната формулировка според мен е "(including subgenera with species possessing armed and unarmed rostellum)".

(vii) Фиг. 3 (Публикация 2): грешка в изписването на *Ditestolepis diaphana*.

(viii) На стр. 46-47 са цитирани "Фиг. 1", "Фиг. 2a", "Фиг. 2b" и "Фиг. 3" без връзка с номера на публикацията.

Направените бележки не омаловажават приносите на дисертацията, които приемам изцяло.

## **7. Характер на научните приноси**

Приемам справката за научните приноси, която представя прецизни формулировки на оригинални и значими научни постижения. По-важните приноси мога да обобща както следва:

(i) Генерирани са оригинални молекулярни данни за 12 вида хименолепидидни цестоди, паразитиращи по насекомоядните бозайници от семейство Soricidae, в това число първите секвенции за 7 (28S рДНК), 11 (18S рДНК) и 12 (*cox1*) вида.

(ii) За първи път са разработени филогенетични хипотези за взаимоотношенията междухименолепидидите от бозайници на основата на данни за 28S рДНК (за първи път за значително разширена група видове/родове), 18S рДНК, *cox1*, както и на комбиниран анализ на трите генни региона). Потвърдено е наличието на 4 основни монофилетични групи и са допълнени представите за техния състав и конфигурация.

(iii) Редица морфологични белези (ростелумен апарат, характер на съзряване на стробилата, филаменти на ембриофора, разположение на матката) са анализирани в светлината на разработените филогенетични хипотези, като са идентифицирани хомоплазни признаци, които са били считани за важни от таксономична гледна точка.

## **8. Оценка на качеството на научните трудове, отразяващи изследванията по дисертацията**

По темата на дисертацията са приложени две публикации, написани на английски език, една в реномираното списание на Springer *Parasitology Research* (IF<sub>2019</sub> = 1.641) и една в

реномираното списание на Cambridge University Press *Journal of Helminthology* (IF<sub>2019</sub> = 1.540). Публикациите представят резултатите от разработката на дисертационния труд и са на много високо ниво. Първата публикация, отпечатана през 2019, има 3 цитирания и аз не се съмнявам, че и двете публикации ще получат заслужено признание от международната паразитологична общност. Докторантът има едно участие в национална конференция с международно участие.

## 9. Изследванията по дисертацията като лично дело на докторанта

Значимото лично участие на Бойко Неов в изготвянето на дисертационния труд е неоспоримо. Той е първи автор в двете статии по темата на дисертацията.

## 10. Въпроси

(i) Новогенерираните *cox1* секвенции са значително по-къси (527-558 bp) от публикуваните (904-1623 bp; с изключение на секвенцията на Dimitrova et al. (2019), която е 557 bp). Може ли да поясните на какво се дължи това?

(ii) В дисертацията е направена препоръка (Извод 7): “Поради тази причина понататъшното изследване на произхода и еволюцията на бозайниковите хименолепидиди би трябвало да се основава на анализи, в които да се включат и представители на основните филетични линии хименолепидиди, паразитиращи по птици.” Какви са причините/аргументите за пропускане на такъв анализ в настоящата разработка?

(iii) Haas et al. (2020) публикуват голям брой 28S секвенции за видове от род *Arostrilepis* (Haas, G.M.S., Hoberg, E.P., Cook, J.A., Henttonen, H., Makarikov, A.A., Gallagher, S.R., Dokuchaev, N.E. & Galbreath, K.E. (2020) Taxon pulse dynamics, episodic dispersal and host colonization across Beringia drive diversification of a Holarctic tapeworm assemblage. *J. Biogeogr.* <https://doi.org/10.1111/jbi.13949>. Как тези нови данни биха повлияли/доразвили предложената в дисертацията филогенетична хипотеза?

## 11. Заключение

Представеният дисертационен труд е актуално и приносно научно изследване основано на целенасочено събран материал, анализиран както с помощта на традиционните методи на изследване така и чрез съвременни методи за филогенетичен анализ.

Докторантът е придобил отлична теоретична и методична подготовка, които са предпоставка за успешно научно развитие. Приемам, че настоящият труд съответства на изискванията на Закона за развитие на академичния състав в Република България, Правилника за приложението му и покрива изискванията на Правилника на ИБЕИ. Оценявам го високо и убедено препоръчвам на почитаемото научно жури да гласува за присъждането на образователната и научна степен “доктор” на Бойко Стойков Неов.

13 юни 2021 г.

Рецензент:

(проф. д-р. Анета Костадинова)