

РЕЦЕНЗИЯ

от проф. д-р Румен Димитров Младенов

Биологически факултет на ПУ “ Паисий Хилендарски“, гр. Пловдив

на дисертационен труд за присъждане на образователната и научна степен 'доктор' в област на висше образование: 4. Природни науки, математика и информатика
професионално направление: 4.3. Биологически науки
докторска програма: **Клетъчна биология**

Автор: Джемал Ахмед Мотен

Тема: “Използване на специфични клетъчни макромолекули за филогенетично моделиране при цианобактерии“

Научен ръководител: проф. д-р Балик Маломиров Джамбазов, ПУ “Паисий Хилендарски“ гр. Пловдив.

1. Общо описание на представените материали

Със Заповед № Р33-1440 от 13.04.2017 г. на Ректора на Пловдивския университет „Паисий Хилендарски“ (ПУ) съм определен за член на научното жури за осигуряване на процедура за защита на дисертационен труд на тема “Използване на специфични клетъчни макромолекули за филогенетично моделиране при цианобактерии“ за придобиване на образователната и научна степен ‘доктор’ в област на висше образование 4. Природни науки, математика и информатика, професионално направление 4.3. Биологически науки, докторска програма „Клетъчна биология“ към катедра „Биология на развитието“, Биологически факултет при ПУ “Паисий Хилендарски“. Автор на дисертационния труд е Джемал Ахмед Мотен – докторант в редовна форма на обучение към катедра „ Биология на развитието“ с научен ръководител проф. д-р Балик Маломиров Джамбазов от ПУ „Паисий Хилендарски“.

Представеният от докторанта комплект материали на хартиен и електронен носител е в съответствие с Чл.36 (1) от Правилника за развитие на академичния състав на ПУ и включва следните документи:

- Молба до Ректора на ПУ за разкриване на процедурата за защита на дисертационен труд;
- Автобиография в европейски формат;
- Копие от диплома за висше образование (ОКС ‘магистър’);
- Заповеди за записване в докторантура, промяна на темата на дисертацията, разширяване на Катедрения съвет и отчисляване от докторантура;
- Заповеди за провеждане на изпити от индивидуалния план и съответните протоколи за издържани изпити;
- Протоколи от катедрени съвети, свързани с докладване на готовност за откриване на процедурата и с предварително обсъждане на дисертационния труд;
- Дисертационен труд;
- Автореферат;
- Списък на научните публикации по темата на дисертацията;
- Копия на научните публикации;
- Декларация за оригиналност и достоверност на приложените документи;
- Справка за спазване на специфичните изисквания на Биологически факултет.

2. Кратки биографични данни за докторанта

Докторантът Джемал Мотен е възпитаник на ПУ “Паисий Хилендарски”. Той завършва бакалавърска степен по „Биоинформатика“ в Биологическия факултет през 2011 г. и придобива квалификация „Биоинформатик“, а през 2013 г. след завършване на магистърска степен по „Медицинска биология“ в Биологическия факултет към ПУ “Паисий Хилендарски“ придобива и квалификация „Медицински биолог“. От 01.09.2013 г. до момента е асистент по Клетъчна биология към катедра “Биология на развитието“ при Биологически факултет на ПУ “Паисий Хилендарски“, където извежда упражнения по „Клетъчна биология“ и „Молекулярна биология на развитието“. От 01.03.2015 г. със заповед № Р33-552 / 09.02.2015 г. е зачислен за редовен докторант по Клетъчна биология към катедра “Биология на развитието“ с тема на дисертационния труд “Използване на специфични клетъчни макромолекули за филогенетично моделиране при цианобактерии“, утвърдена от ФС с Протокол № 203 от 03.02.2015 г.

Асистент Джемал Мотен, чиито интереси са в областта на клетъчната биология, имунологията, биоинформатиката, имуноинформатиката и клетъчните култури, работи непрекъснато за повишаване на професионалните си умения и качества, участвайки в международни курсове по имунология, международни конгреси и конференции. Като млад изследовател той е част от научно-изследователските колективи на проекти, финансирани от Националния фонд „Научни изследвания“ и поделение «Научна и приложна дейност» към ПУ “П. Хилендарски”.

3. Актуалност на тематиката и целесъобразност на поставените цели и задачи

Представеният ми за рецензия дисертационен труд на тема “Използване на специфични клетъчни макромолекули за филогенетично моделиране при цианобактерии“ е много актуално изследване, което има своя значим принос към таксономията и филогенията на цианобактериите.

Представителите на отдел Cyanobacteria са обект на засилен интерес от страна на учените в последните 30 години. Причините за това са много и разностранни, но основните са свързани с изучаването на тяхното биоразнообразие, филогенетични и еволюционни взаимовръзки, както и изучаването им като източници на нови биологично-активни вещества с различно приложение. Цианобактериите са прокариотни организми, с богата еволюционна история, датираща от преди 2.5-3 билиона години. Характерни за тях са високата адаптивност и космополитно разпространение. Въпреки прокариотната си организация тези организми имат способността да фотосинтезират, а това ги определя като едни от основните продуценти на първична биомаса в сладките и солени водоеми. Дългия и сложен път на еволюция пък определя голямото им биологично разнообразие и ги прави едновременно с това трудна за класифициране група.

Две са основните номенклатури използвани при класификацията на цианобактериите – Международния кодекс на номенклатурата на водораслите, гъбите и растенията (МКНВГР) и Международния кодекс за номенклатура на прокариотите (МКНП). Причината тези организми да бъдат отнасяни към водораслите е способността им за извършване на процеса фотосинтеза, а прокариотната им организация, както и някои особености в строежа на клетъчната стена дават основание на бактериолозите да ги причислят към бактериите. Ясно е, че е необходим консенсус между ботаници и бактериолози. В днешно време модерната таксономия на отдел Cyanobacteria е основана на полифазния подход. Той комбинира водещата роля на молекулярно-генетичните маркери (rRNA гени, протеин-кодиращи консервативни гени, филогенетични критерии) със стабилни цитоморфологични, ултраструктурни, биохимични и екофизиологични маркери. Тези методи се считат от

повечето учени за най-адекватните и подходящи при таксономичната класификация на отдел *Cyanobacteria* към днешна дата.

В исторически план водещ при таксономията и класификацията на цианобактериите е морфологичния подход. Това обаче се промени с установяването на морфо- и екотипозите, както и наличието на криптични видове. Оказа се, че морфологичните белези не са достатъчно дискриптивни при множество цианобактериални таксони. От друга страна, въвеждането на молекулярно-генетичните маркери при изграждане на таксономията и филогенията на отдела доведе до пълна реорганизация на съществуващата класификация. В последните 15 години са описани множество нови родове и този процес продължава. Можем да кажем, че сме във време на бързо развитие на систематиката и таксономията на този отдел. В този процес на промени е ясна необходимостта от още нови, стабилни молекулярно-генетични маркери и тук идва ролята и значимостта на настоящата дисертационна разработка.

В последната предложена от Komarek et al. (2014) класификация на отдел *Cyanobacteria* като водещи се приемат молекулярно-генетичните данни, демонстриращи монофилетична позиция на таксоните във филогенетичните реконструкции, които задължително биват допълвани от останалите маркери. Направеното в настоящата разработка сравнение между филогенетичните данни, генерирани на база на основният филогенетичен маркер, използван в съвременните таксономични изследвания – 16S рРНК и новопредложените маркери (OMEP, LRP, 5S рРНК) доказва убедително приложимостта им в таксономията и класификацията на цианобактериите. В настоящото изследване недвусмислено се демонстрира за пръв път и приложимостта на специфичните позиции във вторичните структури на 5S РНК като допълнителни маркери за разграничаване на цианобактериални щамове на родово и надродово ниво.

Определям убедено дисертационния труд като важен и значим и поради факта, че демонстрира начинът, по който е възможно да се използва капацитета на генетичните бази данни при проучването и разработването на нови молекулярно-генетични маркери. Като цяло информацията, получена с помощта на молекулярно-генетичните методи за анализ (т.н. мултилокусен филогенетичен анализ) е много полезна с това, че осигурява на изследователите независим набор от данни, които помагат при тестването и разрешаването на хипотези, формулирани на базата на морфологични или физиологични данни.

Днешното разнообразие от молекулярно-генетични маркери за характеристика на цианобактериите наистина е голямо, но това далеч не означава, че търсенето на подходящи филогенетични маркери трябва да спре. Напротив, по-големият брой генетични маркери би означавал по-точна и прецизна класификация. Още повече, че липсват достатъчно на брой сигурни и работещи молекулярно-генетични маркери за подродово детерминиране. Затова считам, че проучването на нови молекулярно-генетични маркери, подходящи както за родово така и за подродово детерминиране на представители на отдел *Cyanobacteria*, каквато е основната цел на настоящата докторантура е от голяма значимост. Освен това правилната таксономична позиция и идентификация на цианопрокариотните видове е много важна и за всички бъдещи изследвания, свързани с биологичната активност на цианобактериите, тяхното биотехнологично приложение или при управлението и мониторинга на водите. Това също ми дава основание да определя настоящото изследване като актуално, значимо и с научно приложен характер.

4. Познаване на проблема

Информацията, представена във въведението на дисертацията, задълбочения литературен обзор, ясно формулираните цел и задачи на дисертацията, подобрите модерни научно-изследователски методи, начинът на интерпретиране на резултатите от експерименталната част, задълбочените анализи в дискусията, както и ясно и конкретно формулираните изводи

доказват по неоспорим начин, че докторантът умее творчески да оценя литературния материал и познава в детайли състоянието на проблемите, върху които работи.

5. Методика на изследването

В настоящата дисертация са включени всички съвременни методи, необходими за осъществяването на това фундаментално и едновременно с това новаторско и мултидисциплинарно изследване.

Концепцията на дисертацията изисква комбинация от различни аспекти и методи от няколко научни области: фикология, клетъчна и молекулярна биология, биохимия, биоинформатика, което считам че е постигнато с подобрите и приложени при изработването на дисертацията научно-изследователски методи.

Избраната методика на изследване включва молекулярни методи разработени през последните 5 години, което гарантира качеството на получените резултати и позволява постигането на поставената цел и получаването на адекватен отговор на задачите и проблемите, решавани в дисертационния труд.

6. Характеристика и оценка на дисертационния труд

Представеният ми за рецензия дисертационен труд следва класическата структура включваща Въведение, Литературен обзор, Цел и задачи, Материали и методи, Резултати, Дискусия, Изводи, Литература, Приноси на дисертационния труд и Списък на научните публикации, свързани с дисертацията. Като обем отделните глави от дисертацията са добре балансирани. Въведението представя накратко цианобактериите с акцент върху проблематиката по темата. В Литературния обзор, който представлява задълбочено проучване на направеното по темата до момента е направена кратка характеристика на отдел *Cyanobacteria*, представено е съвременното състояние на систематиката на отдела като развитие, съвременни аспекти и проблеми, разгледано е приложението и значението на молекулярните методи в цианобактериалната таксономия и филогения и е акцентирано на размера, организацията и плоидията при секвенираните пълни цианобактериални геноми, налични в базите данни до момента.

Целта на дисертационния труд е ясна и конкретна, а набелязаните задачи са подчинени на изпълнението ѝ. Използваните в хода на изследването материали и приложените научни и научно-изследователски методи са описани с необходимата прецизност и конкретика. Представени са използваните в разработката цианопрокаротни щамове и начина на култивиране, протоколите за изолиране на цианобактериална ДНК, условията на амплификация и секвениране на 16S рРНК, *srcB-IGS-srcA* локуса на фикоцианиновия оперон (PC-IGS), на външен мембранен ефлукс протеин (Outer Membrane Efflux Protein, OMEP) и светлинно-инхибиран протеин (Light-Repressed Protein, LRP). Описан е алгоритъмът за провеждане на филогенетичните анализи и направените на тяхната база филогенетични реконструкции.

Дисертационният труд, е богато онагледен чрез 31 фигури и 4 таблици. В частта Резултати се демонстрират последователно приложението на гена за 16S рРНК и локусът *srcB-IGS-srcA* като молекулярно-генетични маркери за разрешаване таксономичния статус на спорни видове. Демонстрира се приложението на външния мембранен ефлукс протеин (Outer Membrane Efflux Protein, OMEP), светлинно-инхибиран протеин (Light-Repressed Protein, LRP) и на протеина цианопорин като нови молекулярно-генетични маркери. Резултатите включват практическото валидиране на новопредложените молекулярно-генетични маркери чрез използване на цианобактериални щамове от РАСС и разкриване на приложението на 5S рРНК и нейната вторична структура за филогенетични анализи на

цианопрокариотни представители. Дискусията представлява задълбочен анализ на представеното в частта Резултати и равностметка на постигнатото в хода на изследванията и анализите. Представеното в нея е солидна основа за извеждане на основните изводи и формулиране на научните приноси от проведеното задълбочено изследване, както и начертаване насоките за бъдеща научно-изследователска работа на докторанта.

Формулираните въз основа на обобщение на резултатите от проведените изследвания 9 основни извода са ясни, конкретни и задълбочени. В дисертационния труд са използвани 125 литературни източника, повечето от които са от последните 10 години.

7. Приноси и значимост на разработката за науката и практиката

На базата на всичко представено в разработената дисертация са формулирани три групи приноси: оригинални научни приноси, научни приноси с потвърдителен характер и научно-приложни приноси.

В настоящото дисертационно изследване за пръв път в таксономичните изследвания на цианобактериите се провеждат филогенетични анализи на базата на протеините OMEP, LRP и цианопорин. Проведените анализи демонстрират, че OMEP и LRP са подходящи молекулярно-генетични маркери за полифазна таксономия на цианобактерии на ниво род и подрод. Това дава основание тези два протеина да бъдат предложени като нови молекулярно-генетични маркери за изясняване на филогенетичните връзки и таксономичната позиция при цианобактериите на родово и подродово ниво.

За пръв път като маркер за филогенетични анализи при цианобактерии с напълно секвенирани геноми се използва успешно и 5S рРНК. В тази връзка е установено още, че специфичните позиции във вторичните структури на 5S РНК могат да бъдат използвани като допълнителни маркери за разграничаване на цианобактериални щамове на родово и надродово ниво. Горепосочените приноси представляват значими, актуални и оригинални научни приноси, които по моя преценка ще помогнат за изясняване на множество въпросителни по отношение на таксономията на спорни таксони цианобактерии. Като важени приноси с научно-приложен характер считам направеното практическо валидиране на OMEP и LRP като работещи молекулярно-генетични маркери за филогенетични анализи и полифазна таксономия при цианобактерии и използването на специфични позиции във вторичните структури на 5S РНК като допълнителни маркери за разграничаване на цианобактериални щамове на родово и надродово ниво.

Много важни за изясняване таксономията на спорни цианобактериални таксони намирам и научните приноси с потвърдителен характер. В хода на експерименталната работа по дисертацията се потвърждава отделянето на род *Nodosilinea* и род *Wilmottia* от полифилетичните родове *Leptolyngbya* и *Phormidium*. Проведените филогенетични изследвания на база на срсВ-IGS-срсА локуса на фикоцианиновия оперон и генния участък за 16S рРНК потвърждават принадлежността на вида *Leptolyngbya bijugata* (= *Phormidium bijugatum*) към новоотделения род *Nodosilinea* (*Nodosilinea bijugata*). Потвърдена е самостоятелността на вида *Phormidium papyraceum*, като се доказва, че в генетично отношение той се различава от *Wilmottia murrayi* въпреки морфологичното сходство на двата вида. Филогенетичните анализи потвърждават принадлежността на *Phormidesmis molle* PACC 8140 (= *Phormidium molle* PACC 8140) към род *Phormidium*.

В заключение бих могъл да кажа, че считам работата за много стойностна предвид множеството приноси с научен, научно-приложен и потвърдителен характер, които не само хвърлят светлина при решаването на спорни въпроси при таксономията на цианобактериите но носят сериозен потенциал за приложение във фундаментална научна област, каквато е таксономията и систематиката.

8. Преценка на публикациите по дисертационния труд

Докторантът е приложил 3 броя публикации свързани с дисертацията. И трите публикации са в списания с импакт фактор, две от които в международни списания, а третата в трудовете на БАН. И трите публикации по мое мнение са високо стойностни научни изследвания и това се потвърждава от факта, че една от тях вече е цитирана два пъти в реномирани научни списания като ENVIRONMENTAL MICROBIOLOGY и PROCEEDINGS OF THE ROYAL SOCIETY B-BIOLOGICAL SCIENCES.

9. Лично участие на докторанта

Считам, че изследванията, свързани с настоящата дисертация са проведени основно с участието на докторанта под ръководството на неговия научен ръководител. В този ред на мисли съм убеден, че получените резултати и формулираните на тяхна база приноси са до голяма степен негова лична заслуга.

10. Автореферат

Авторефератът на дисертацията е направен според изискванията на съответните правилници, и отразява основните резултати, постигнати в дисертацията.

11. Критични забележки и препоръки – нямам

12. Лични впечатления

Познавам докторанта още като студент в Биологическия факултет. Смятам, че Джемал Мотен е отговорен и дисциплиниран млад човек, който има вече сериозни познания в научната област. Наблюдавайки съвместната му работа с докторантите и асистентите от катедра „Ботаника и МОБ” мога да отбележа, че той има положителни качества като характер и умения да работи в екип.

13. Препоръки за бъдещо използване на дисертационните приноси и резултати

Моята препоръка към докторанта е да продължи работата си в насока разработване на нови молекулярно-генетични маркери за полифазна таксономия на цианобактерии с оглед необходимостта от такива.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Дисертационният труд съдържа научни, научно-приложни и приложни резултати, които представляват оригинален принос в науката и отговарят на всички изисквания на Закона за развитие на академичния състав в Република България (ЗРАСРБ), Правилника за прилагане на ЗРАСРБ и съответния Правилник на ПУ „Паисий Хилендарски“. Представените материали и дисертационни резултати напълно съответстват на специфичните изисквания на Биологическия факултет, приети във връзка с Правилника на ПУ за приложение на ЗРАСРБ.

Дисертационният труд показва, че докторантът Джемал Мотен притежава задълбочени теоретични знания и професионални умения по научна специалност Клетъчна биология като демонстрира качества и умения за самостоятелно провеждане на научни изследвания.

Поради гореизложеното, убедено давам своята **положителна оценка** за проведеното изследване, представено от рецензираните по-горе дисертационен труд, автореферат, постигнати резултати и приноси, и предлагам на почитаемото научно жури да **присъди образователната и научна степен ‘доктор’** на **Джемал Ахмед Мотен** в област на висше образование: 4. Природни науки, математика и информатика, професионално направление **4.3. Биологически науки**, докторска програма „**Клетъчна биология**“.

28.04.2017 г.

Рецензент:
(проф. д-р Румен Младенов)