

Становище

От доцент д-р Кънчо Любенов Лахчев,

секция „Микробна генетика”, департамент „Обща микробиология” Институт „Стефан Ангелов” към Българска Академия на науките.

За научните приноси на Дилнора Ергашевна Гулямова,

представени на конкурс за придобиване на научната длъжност доцент по микробиология за нуждите на Департамент по „Обща микробиология”, секция „Микробна генетика” на Институт по микробиология на БАН /ИМикБ/ съгласно заповед -И156 08.12.2015

Дилнора Гулямова е родена в град Самарканд, Узбекистан. Завършила е успешно докторантура в реномираният Институт по белтъка към Руската Академия на Науките в академичният град Пушино на Ока, Русия. Темата на дисертационният труд е „Изследване на транслиращи рибозоми които са избирателно маркирани с деутерий чрез метода на ъгловото разсейване на неутрони”. В хода на тези изследвания са били получени оригинални и ценни данни за структурната динамика на транслиращите рибозоми, както и за ролята на температурата в процеса на реконструкцията на рибозомната 30S субединица. В хода на докторантурата Д. Гулямова се е оформила като добър и надежден специалист в изучаването особеностите на трансляцията, но за съжаление поради настъпилите исторически промени нейното развитие в тази област е прекъснато. След това пътят и до ИМикБ преминава през различни лаборатории и научни центрове в Белгия и САЩ където се е занимавала с филогенетичен анализ на различни видове дрожди. От 2005 година до сега тя е на работа в ИМикБ. На официално обявеният конкурс за доцент по микробиология за нуждите на Департамента по обща микробиология към секция „Микробна генетика” на ИМикБ съгласно заповед -И156 08.12.2015 Д. Гулямова кандидатства с общо 25 научни статии в международни списания (19 от тях с импакт фактор). Общият импакт фактор на трудовете е 27,867. Открити са повече от 50 цитирания, като повечето цитирания са от чуждестранни автори сред които са и някои от най-изтъкнатите изследователи в областта на дрождевата

систематика като Курцман (САЩ), Геннадий Наумов (Русия), и др. Посочените наукометрични данни правят приятно впечатление и съответстват на високите изисквания на Правилника приет от ИМикБ за присъждане на научната длъжност доцент. Освен тези статии са приложени и трудове представени на различни национални и международни научни форуми: 2 доклада, отпечатани в пълен текст и резюмета на 2 доклада от научни конференции и резюмета на 15 постерни участия.

В допълнение Д. Гулямова е участвала в изпълнението на различни научни проекти: три в Белгия и един в САЩ. Гулямова е ръководител на проект D002-ТК-176, „Биоразнообразие на дрожди в избрани Български екосистеми”, финансиран от Фонд Научни изследвания през периода 2008-2012. Липсват данни за ръководство на дипломанти.

Най общо научните интереси и постижения на Д. Гулямова се подразделят в следните области:

- изследване биоразнообразието в различни екосистеми;
- събиране на данни за молекулярната еволюция на микроорганизмите;
- използване достиженията на метагеномиката;
- и проучвания върху структурната динамика на транслиращите рибозоми;

Централно място в научната дейност на Д. Гулямова заема изолирането и идентификацията на различни видове дрожди от разнобразни български и международни екосистеми. В нашия институт подобни изследвания са предхождани от работите на проф Вълчо Костов. В този смисъл обявяването на конкурса не е самоцелна придумица, а представлява необходимо и полезно продължение на исторически наложилите се традиции в изследователската дейност на ИМикБ. Необходимо е да се спомене за тъжната съдба на колекцията от дрожди събрана от проф. Вълчо Костов, която беше разграбена и завинаги загубена за ИМикБ. Нека с това напомняне да се има предвид бъдещето на колекцията събирана от Д. Гулямова понеже нейното съхранение и продължение очевидно ще е от полза за развитието на българската микробиология. В сравнение с предходните изследвания в ИМикБ в областта на дрождевата таксономия, изследванията на Д. Гулямова се характеризират с няколко нови и важни приноса. Търсенето и изолирането на нови видове дрожди е многократно разширено като обхваща разнобразни географски области от България и полярните райони и е съсредоточено върху различни слабо проучени екосистеми. Тези разнобразни и мащабни изследванията са извършени в сътрудничество и коопериране с учени от различни специалности: ентомолози, зоолози, ботаници и др., което прави добро впечатление.

Изолирането на дрождеви щамове от различни екологични ниши е подчинено на добре обмислена и логична стратегия. Тя включва експериментална дейност с приложен характер и такива които са важни за фундаменталната наука. Важно място в работите на Гулямова са опитите за изолиране на дрожди от хранителните продукти поради важното си промишлено приложение и отношение към здравеопазването. Тези експерименти служат като контрол на микробни замърсявания в хранително-вкусовата промишленост. Тези проучвания обхващат биоразнообразието на дрожди и бактерии в екосистеми на различни български хранителни продукти (8, 14, 19). Благодарение на извършените опити в редица български храни е открито наличието на дрожди принадлежащи към родовете *Kazachstania*, *Isatchenkia*, *Pichia*, *Kluyveromyces*, *Saccaromyces* и *Rhodotorula*. Тези видове дрожди съжителствуват с многобройни бактериални щамове предимно от рода *Lactobacillus*. Най-оптимистичните изводи са, че засега не са установени микроорганизми с патогенно или условно патогенно действие. Изучаването на симбионтните отношения между видовете дрожди и бактерии в хранителните продукти е перспективно направление за бъдещи изследвания и в това отношение пионерските работи на Гулямова и колектива трябва да се приветства.

От експериментите имащи значение за фундаменталната наука важно място заема изолирането на дрожди от екосистеми които са части от естествените хранителни вериги чрез които се разпространяват дрождите в природата. Тези вериги започват от листата и стъблата на растенията, минават през храносмилателния тракт на насекоми които ги изяждат и се затварят чрез връщането им в околната среда чрез фекалиите. Правилността на този подход се доказва чрез изолирането на различни видове дрожди на всеки един от тези етапи от хранителните вериги.

Нови видове дрожди са били изолирани от стъбла и листата на растения от Българските екосистеми (трудове №2 и № 19). В резултат на тези работи от растението *Colchicum autumnale* (*Colchicaceae*) е изолиран нов вид дрожди обозначен като *Metschnikowia colchici*.

Търсенето и изолирането на нови видове дрожди от храносмилателния тракт на ендемитни за България видове бръмбари е оригинален подход използван в рецензираните работи. Получените резултати показват наличието на тесни екологични взаимоотношения между видовете от род *Lodderomyces* (1) и асоциирани с тях насекоми. Сред изолираните щамове са класифицирани различни патогенни видове дрожди, което показва ролята на насекомите като подходяща среда за възникване и еволюция на патогенността при дрожди, а също така за преноса и разпространението на

различните патогенни видове дрожди. Друг естествен източник на дрожди представляват фекалиите на бозайници които се хранят с храни, съдържащи различни дрожди и по този начин допринасят за тяхното разпръскване в природата. Изолирането на подобни видове е подход за търсене на нови видове с повишена устойчивост спрямо специфични литични ензими, които може да имат важно приложение в различни области на биотехнологията. В тези опити е била изолирана голяма колекция от актиномицетни шамове които са идентифицирани като *Thermoactinomyces saccharii*.

В резултат от проведените мащабни и трудоемки работи са били изолирани голям брой дръждиви шамове, които след това са били подложени на многоетапни процедури за класифициране и определяне мястото им във филогинетичната еволюция. За тази цел освен общоприетите процедурни етапи е била използвана и оригинални допълнение разработени и прилагани от Гулямова. На първите етапи от тези изследвания са били определяни най-общите морфологични, биохимични и физиологични особености на новоизолираните шамове.

Д. Гулямова не се задоволява единствено с механичната класификация на изолираните шамове, но и прави опити за подобряване методологията за използваните стандарти в съвременната дрождева таксономия. Тези стандарти все още не са строго определени и общоприети. За определянето границите между отделните видове от един род тя предлага оригинален подход базиращ се на резултатите от анализа и сравнението на ДНК последователностите. Предлага се изпълнението на няколко последователни етапа чието изпълнение опростява определянето на новите родове и техните граници.

Предлаганият подход е модерен и перспективен, но се пренебрегват данните от функционалните взаимодействия които включват възможностите за копулация между изследваните видове и анализа на получените хибридни потомства. Подобни тестове са бавни и трудоемки но дават много ценна информация за видовото разнообразие на различните родове дрожди

По този начин са били определяни най-характерните фенотипи които са служили като ориентировъчни знаци за бъдещите молекулярни методи. Принадлежността на изолатите към различни видове и родове дрожди както и прехода от фенотип към генотип е извършвано чрез прилагането на съвременните молекулярни методи като ДНК баркод анализ. Използваният ДНК баркод тест се основава на амплификацията на специфични участъци от гени кодиращи рибозомна ДНК и последващо секвениране на изолираните ДНК фрагменти. Амплифицираните участъци са така подбрани, че някой

области са силно консервативни, докато други са силно изменчиви. Сравняването на получените данни за ДНК последователности с база данни за голям брой дрождеви видове позволява надеждното разграничаване на изследваните видове и родове дрожди. Следвайки тази процедура Гулямова е успяла да идентифицира един нов и неизвестен за науката род дрожди обозначен като **Nematodospora**. Установено е, че към този нов род принадлежи един нов вид дрожди обозначени като *Nematodospora valgi*. Значението на това откритие предстои да бъде оценено. Освен това Гулямова е успяла да идентифицира още три нови вида дрожди обозначени като *Candida cetonia*, *Cystobasidium psychroaquatic* и *Ogataea saltuana*. Изолирането и идентифицирането на новият вид метилотрофни дрожди *Ogataea saltuana* е важно постижение и правилно е отбелязано, че подобни видове дрожди се използват широко за производство на рекомбинантни протеини. Но това постижение е само началният етап от извънредно дълъг и труден път до постигането на реални резултати с евентуално практическо приложение. Към публикуваната статия имам няколко забележки и препоръки. Отсъстват данни за пloidността на природните изолати, а подобни експерименти са провеждат успешно в ИМикБ чрез използванеот на FACS анализ. Представените данни за наличие на копулация и спорулация са получени от използване на стандартни меотди които са общоприети за таксономични изследвния. Условиата при които протичат копулацията и спорулацията не са поручени, а са взети от стандартните процедури. Но те не отговарят на специфичните особености за отделните видове дрожди. Например в принадлежащите към същият род *Ogataea* у видът дрожди *Ogataea polymorpha* прехода от вегетативно развитиеи към полова деференциация се индуцира чрез пренос от растеж в богати хранителни среди в специфични среди с азотно гладуване в присъствието на усвояем въглероден източник. Представената фотография на спорулираща култура е много далече от спорулацията наблюдавана у *Ogataea polymorpha*, което показва, че изучаването на тези процеси у новаизолираният вид *Ogataea saltuana* се нуждае от допълнителни и задълбочени проучвания. Друга забележка касае съобщението за наличие на копулация у вида *Nematodospora valgi*. За наличието на копулационна способност се съди единствено по фотографиите на клетъчната морфология и наличието на конюгационни мостове между съседни клетки. Този подход не е надежден и е необходимо да се подкрепи от анализ на получените хибриди и доказателства за хибридната им природа.

Друга забележка засяга използваната молекулярна методология за дефиниране границите между новооткритите видове дрожди. За определянето границите между отделните видове в един род прекалено внимание се отделя на молекулярните данни от ДНК анализа и сравнение на нуклеотидните последователности, но се пренебрегват функционалните взаимодействия които включват възможностите за копулация между изследваните видове и анализа на получените мейотични потомства. Като най-надежден критерий се счита наличието на репродуктивна изолация за която се съди по способността на изследваните видове да копулират по между си, както и по жизнеспособността на получените хибриди и продуктите изолирани в тяхното мейотично потомство. Подобни тестове са бавни и трудоемки, но дават много ценна информация за видовото разнообразие на различните родове дрожди.

Приносите са написани на добър български език в който се забелязват няколко приятни правописни грешки при съгласуването на времената, и особено при използването на твърдият звук „Ъ“! Например: 106 вида брембари, филогенетичното дърво, и др. Липсва точно българско съответствие на някои термини например алайнмент и др.

Съгласен съм Д. Гулямова да бъде избрана за Доцент в настоящият конкурс. Направените забележки ни най-малко не намаляват очевидните достойнства на представените трудове, и могат да се използват като препоръки за бъдещите изследователски работи на Д. Гулямова. Най-общата преценка на представеното становище е, че кандидатстващата отговаря на високите изисквания на правника на ИМикБ за присъждане на научната длъжност Доцент. Изразявам също надеждата, че и бъдещите изследвания на Д. Гулямова ще са оригинални, интересни и ползотворни.

София

Подпис:

11.02.2016

/доц. д-р К. Лахчев/