

**БЪЛГАРСКА АКАДЕМИЯ НА НАУКИТЕ
ИНСТИТУТ ПО БИОРАЗНООБРАЗИЕ И ЕКОСИСТЕМНИ ИЗСЛЕДВАНИЯ**

Борислав Йорданов Стоянов

ХЕЛМИНТИ И ХЕЛМИНТНИ СЪОБЩЕСТВА НА РИБИ ОТ АТАНАСОВСКО ЕЗЕРО

АВТОРЕФЕРАТ

на дисертация за присъждане на образователна и научна степен „Доктор“

Научна специалност:

01.06.19 „Паразитология и хелминтология“

Научен ръководител:

проф. д.б.н. Бойко Б. Георгиев

Научен консултант:

гл. ас. д-р Пламен Х. Панков

София
2018 г.

Дисертацията е разработена в рамките на докторантура – редовна форма на обучение в Института по биоразнообразие и екосистемни изследвания при Българската академия на науките.

Дисертационният труд е с общ обем от 119 стр., от които 40 стр. обяснителен текст (включително 2 бр. таблици), 77 стр. приложения (5 публикации по темата на дисертацията) и 2 стр. разрешителни за улов на риби от поддържан резерват „Атанасовско езеро“ (2 бр.), издадени от Министерството на околната среда и водите.

Дисертационният труд е обсъден и насочен към защита на разширено заседание на колегиума на отдел „Животинско разнообразие и ресурси“ към Института по биоразнообразие и екосистемни изследвания при БАН, провело се на 24.01.2018 г.

Защитата на дисертационния труд ще се състои на 09.05.2018 г. от 14:00 часа в Заседателната зала на База 1 на Института по биоразнообразие и екосистемни изследвания при БАН, София, ул. „Юрий Гагарин“ №2, на открито заседание на Научно жури (назначено със Заповед на Директора на ИБЕИ–БАН № 28/22.02.2018 г.) в състав:

проф. д-р Даниела Пиларска

проф. д-р Мария Шишиньова

проф. д.б.н. Бойко Георгиев

доц. д-р Златка Димитрова

доц. д-р Елиза Узунова

Материалите по защитата са на разположение на интересующите се в библиотеката на Института по биоразнообразие и екосистемни изследвания при БАН, София, ул. „Юрий Гагарин“ № 2.

1. Увод

Известните до момента данни за хелминти на рибите в България се отнасят преди всичко до сладководната и морската ихтиофауна. Изследванията върху сладководната ихтиохелминтофауна са обобщени в монографията на Какачева-Аврамова (1983). Последващи допълнения са свързани с проучванията на Недева (1988), Nedeva (1991), Grupcheva & Nedeva (1999), Kirin (2001a, b, 2002a, b, c), Shukerova (2005, 2006), Shukerova & Kirin (2008), Shukerova et al. (2010, 2017), Margaritov & Kiritsis (2011), Ondračková et al. (2011, 2012), Kirin et al. (2013, 2014), Kirin & Kuzmanova (2014). Данни за хелминтите на морските риби се съдържат в работите на Златев (1936), Вълканов (1957), Маргаритов (1960), Смилова (1980), Хаджийски (1980), Димитров (1991a,б), Dimitrov & Bray (1994), Dimitrov (1995), Dimitrov et al. (1996, 1998, 1999), Vasileva et al. (2001), Dmitrieva & Dimitrov (2002), Kostadinova et al. (2003, 2004), Blasco-Costa et al. (2006, 2009), Pankov et al. (2009).

Изследванията върху видовия състав и разпространението на паразитните червеи в рибите, населяващи бракичните и свръхсолените водоеми по Българското Черноморско крайбрежие, са оскъдни. До момента са известни само две проучвания (Маргаритов 1960, Костадинова 1993) върху видовия състав на хелминти по риби от влажни зони по нашето Черноморско крайбрежие.

Повечето от полусолените и свръхсолените влажни зони по нашето крайбрежие имат природозащитен статус и са важни местообитания за защитени видове безгръбначни животни, риби, земноводни, влечуги, птици и бозайници (Георгиев 1967, Deltchev 1997, Pandourski 2004, Vassilev & Pehlivanov 2005, Stefanov 2006, Vassilev et al. 2013). Сред тях е и Атанасовско езеро, чиято северна част заедно с прилежащите влажни зони от 1980 г. са обявени за резерват, а през 1999 г. са прекатегоризирани като поддържан резерват. Също така, резерватът е и влажна зона с международно значение по Рамсарската конвенция, включен под нейната егида през 1984 г. Езерото е обявено и за орнитологично важно място (ОВМ) през 1989 г., а през 2007 г. по Директивата за птиците и Директивата за местообитанията (код BG0000270) резерватът и прилежащите територии са обявени за защитена зона – част от Националната екологична мрежа Натура 2000 (Vassilev et al. 2013).

Рибите имат важно значение за жизнените цикли на редица видове хелминти, служещи като техни дефинитивни гостоприемници, а също и като междинни и резервоарни гостоприемници на хелминти по птици и бозайници. От друга страна, паразитите играят важна роля като патогенен агент, регулиращ състоянието на гостоприемниковите популации. Те играят и ключова роля при определяне на изхода (успеха или неуспеха) на биологичните инвазии (Torchin et al. 2003, Mitchell & Power 2003, Dunn 2009, Kelly et al. 2009, Dunn et al. 2012).

Изложеният кратък преглед на важноста на ихтиохелминтофауната от полусолените и свръхсолените влажни зони определя няколко основни насоки на тяхното изучаване. От една страна, паразитите са част от видовото разнообразие, но те са и важен фактор, регулиращ популациите на гостоприемниците, а също могат да имат и роля при биологичните инвазии. Тези аспекти определят актуалността на темата на дисертационния труд.

Бургаските влажни зони, в частност и Атанасовско езеро, са хетерогенна мозайка от местообитания, в която има както силно осладнени участъци със

сладководна ихтиофауна, така и бракични и свръхсолени местообитания, всяко със свой специфичен видов състав на рибите. Именно този специфичен видов състав е обект на настоящото изследване, като работата се концентрира изцяло върху Атанасовско езеро. От него са известни общо 8 постоянно обитаващи го вида риби (Stefanov 2006). От тях четири вида са местни еврихалинни видове:

Семейство Gasterosteidae Bonaparte, 1831 (Бодливки)

Gasterosteus aculeatus Linnaeus, 1758 – Триигла бодливка

Pungitius platygaster (Kessler, 1859) – Деветигла бодливка

Семейство Syngnathidae Bonaparte, 1831 (Морски игли и кончета)

Syngnathus abaster Risso, 1827 – Черно-ивичеста морска игла

Семейство Gobionellidae Bleeker, 1874 (Пясъчни попчета)

Knipowitschia caucasica (Berg, 1916) – Кавказко попче

Други четири вида са сладководни:

Семейство Cyprinidae Rafinesque, 1815 (Шаранови)

Carassius gibelio (Bloch, 1782) – Сребриста каракуда

Pseudorasbora parva (Temminck & Schlegel, 1846) – Псеудоразбора

Семейство Poeciliidae Bonaparte, 1831 (Гамбузиеве)

Gambusia holbrooki Girard, 1859 – Гамбузия

Семейство Centrarchidae Bleeker, 1859 (Слънчеви риби)

Lepomis gibbosus (Linnaeus, 1758) – Слънчева рибка

Carassius gibelio е с неизяснен статус в европейски мащаб като местен или неместен вид, а *P. parva*, *G. holbrooki* и *L. gibbosus* са разглеждани като неместни за Европа риби (Kottelat & Freyhof 2007), а също и като инвазивни видове, оказващи негативно въздействие върху местната биота (вж. Gozlan et al. 2005, Cazorla 2006, Tomeček et al. 2007, Soes et al. 2011, Préau et al. 2017). В Европа видовете риби, установени в Атанасовско езеро, са слабо проучени от хелминтологична гледна точка. Поради ограниченията, наложени от срока на докторантурата, решихме да включим характерните за местообитанието бракични видове, а също и неместните видове, за да оценим потенциалното им въздействие върху местните популации. На този етап отпадна проучването на сребрилата каракуда (*Carassius gibelio*) – широко разпространен в страната вид с относително добре проучена хелминтофауна (Какачева-Аврамова 1983).

Поради недостатъчната информация за видовия състав, разпространението и екологичните връзки на хелминтите по рибите от крайбрежните влажни зони по Българското Черноморие, като обект на настоящата дисертация бяха избрани хелминтите и хелминтните съобщества на рибите от Атанасовско езеро и прилежащите влажни зони. Допълнителен фактор, който спомогна за избора на тази влажна зона за

настоящите изследвания, е също и наличието на Екологичната станция при Резервата “Атанасовско езеро” на Института по биоразнообразие и екосистемни изследвания при БАН, даваща възможност за провеждане на системни теренни проучвания.

2. Цел и задачи

Целта на изследването е да се характеризират видовото разнообразие и структурата на хелминтните съобщества във видовете риби от резервата “Атанасовско езеро”.

За достигането на тази цел бяха поставени следните изследователски задачи:

- 1) Разкриване на видовия състав на паразитните червеи от риби, населяващи Атанасовско езеро и прилежащите влажни зони, включително и на неместните видове риби.
- 2) Морфологично характеризиране на видове хелминти с методите на светлинната микроскопия, а при необходимост – и със сканиращата електронна микроскопия. Изясняване на таксономичното положение на видовете, за които няма достатъчно информация или в литературата има противоречия за тяхната таксономия.
- 3) Характеризиране на структурата на хелминтните съобщества в определени масови видове риби. Оценка на видовия състав и структурата на съобществата в неместните видове риби от гледна точка на съвременните концепции за ролята на паразитите в биологичните инвазии.

3. Материали и методи

За постигане на задачите на изследването бяха проведени 6 експедиции за събиране на хелминтологични материали от Атанасовско езеро и прилежащите влажни зони – май, юли и септември 2012 г. и през същите месеци на 2013 г. В хода на тези експедиции направихме опит да съберем по 31 екземпляра риби от всеки вид. Това обаче не винаги беше възможно поради динамиката на влажните зони (маловодие и други причини), а също и поради динамиката на рибните популации.

Рибите бяха улавяни с помощта на риболовни мрежи (грибове, риболовни кепове и рачило) и капани. Уловените риби, до тяхното аутопсиране, са съхранявани в съдове (кофи), пълни с аерирана вода, взета от съответните местообитания. Рибите са аутопсирани под стереомикроскоп в рамките на 24 часа след тяхното улавяне. При аутопсиите за наличие на ектохелминти, са проучени следните телесни части на рибите: телесни повърхности (кожа, плавници и хриле), устна кухина и ноздри. За наличие на ендохелминти са обследвани: от главата – очи и мозък; от коремната кухина – хранопровод, стомах, черво, хепатопанкреас, жлъчен мехур, плавателен мехур, гонади и мускулатура от стените, изграждащи коремната кухина. Аутопсиите са извършвани в лабораторията на Екологичната станция при Резервата “Атанасовско езеро” на Института по биоразнообразие и екосистемни изследвания при БАН.

Общо, в рамките на това изследване бяха уловени и изследвани за паразитни червеи 565 броя риби от 7 вида. Данните за броя на индивидите са представени в Таблица 1.

Таблица 1. Изследвани видове риби, уловени от съответните местообитания (бракични и сладководни), представени по години и месеци като: общ брой изследвани индивиди от даден вид / брой индивиди с установена инвазия.

Видове риби	Характер на местообитанията	2012			2013			Общо
		Май	Юли	Септември	Май	Юли	Септември	
<i>Knipowitschia caucasica</i> (Berg, 1916)	Бракични	31/30	31/25	31/28	31/31	31/31	31/26	186/171
<i>Gasterosteus aculeatus</i> Linnaeus, 1758	Бракични	10/10	–	–	–	31/27	1/1	42/38
	Сладководни	21/20	31/25	–	31/27	–	9/5	92/77
<i>Pungitius platygaster</i> (Kessler, 1859)	Бракични	–	1/0	–	–	–	–	1/0
<i>Syngnathus abaster</i> Risso, 1827	Бракични	–	–	8/0	–	5/2	–	13/2
<i>Pseudorasbora parva</i> (Temminck & Schlegel, 1846)	Сладководни	2/0	1/0	–	4/0	5/0	1/0	13/0
<i>Gambusia holbrooki</i> Girard, 1859	Сладководни	20/0	23/0	33/0	10/0	5/0	20/0	111/0
<i>Lepomis gibbosus</i> (Linnaeus, 1758)	Сладководни	12/4	31/19	16/3	10/6	7/1	31/21	107/54
Общо		96/64	118/69	88/31	86/64	84/61	93/53	565/342

Изолираните хелминти са фиксирани в горещ, загрят до първи пари, физиологичен разтвор, след което са прехвърляни в епруветки със 70% етилов спирт за съхранение до тяхната последваща лабораторна обработка. В лабораторни условия, за целите на морфологичното проучване, хелминтите (трематоиди и цестоди) са подлагани на следната обработка: 1) оцветени са с железен ацетокармин по метода, предложен от Georgiev et al. (1986); 2) диференцирани са в разтвор на 70% етилов спирт и концентрирана солна киселина (кисел алкохол); 3) промити са в дестилирана вода (прекратяване действието на киселия алкохол); 4) обезводнени са в спиртна редица с възходяща концентрация (70%, 80%, 90%, 96% и 99,9%); 5) просветлени са в диметилфталат (~24 ч.); 6) монтирани са в канадски балсам (трайни микроскопски препарати). Моногенеите са монтирани в полутрайни глицерин-желатинови микроскопски препарати, съобразно методиката, предложена от Гусев (1983). За морфологичното проучване на нематодите, последните са монтирани във временни глицеринови микроскопски препарати.

По-подробни данни за методите на морфологично изследване на хелминтите и анализа на хелминтните съобщества са представени в съответните статии (Приложения 1-5).

Възприетата терминология за инвазионните параметри и хелминтните съобщества е съобразно предложените от Bush et al. (1997). Критериите 10% и 50% срещаемост са възприети за идентифициране на редките, междинните и обичайните видове хелминти, както е предложено от Chapman et al. (2015).

4. Резултати и обсъждане

4.1. Систематичен преглед на хелминтите

От изследваните 7 вида риби са изолирани и определени 16 вида хелминти. От тях 10 вида са от тип Плоски червеи (Platyhelminthes), а 6 вида са от тип Кръгли червеи (Nematoda), както следва:

Тип Platyhelminthes

Клас Trematoda

Семейство Diplostomidae Poirier, 1886

- 1) *Posthodiplostomum brevicaudatum* (von Nordmann, 1832)
Гостоприемник: *Gasterosteus aculeatus* Linnaeus, 1758.
Локализация в гостоприемника: очи – стъкловидно тяло.
- 2) *Posthodiplostomum centrarchi* Hoffman, 1958
Гостоприемник: *Lepomis gibbosus* (Linnaeus, 1758).
Локализация в гостоприемника: хепатопанкреас, телесна празнина.

Семейство Cryptogonimidae Ward, 1917

- 3) *Aphalloides coelomicola* Dollfus, Chabaud & Golvan, 1957
Гостоприемник: *Knipowitschia caucasica* (Berg, 1916).
Локализация в гостоприемника: телесна празнина.

- 4) *Timoniella imbutiforme* (Molin, 1859) Brooks, 1980
Гостоприемник: *Syngnathus abaster* Risso, 1827.
Локализация в гостоприемника: черво.

Семейство Monorchidae Oehner, 1911

- 5) *Paratimonia gobii* Prévot & Bartoli, 1967
Гостоприемник: *Knipowitschia caucasica* (Berg, 1916).
Локализация в гостоприемника: черво.

Клас Monogenea

Семейство Gyrodactylidae Cobbold, 1864

- 6) *Gyrodactylus arcuatus* Vuchowsky, 1933
Гостоприемник: *Gasterosteus aculeatus* Linnaeus, 1758.
Локализация в гостоприемника: кожа, плавници и хриле.
- 7) *Gyrodactylus bubyri* Osmanov, 1965
Гостоприемник: *Knipowitschia caucasica* (Berg, 1916).
Локализация в гостоприемника: кожа, плавници и хриле.

Семейство Ancyroccephalidae Vuchowsky & Nagibina, 1968

- 8) *Onchocleidus similis* Mueller, 1936
Гостоприемник: *Lepomis gibbosus* (Linnaeus, 1758).
Локализация в гостоприемника: хриле.
- 9) *Onchocleidus dispar* Mueller, 1936
Гостоприемник: *Lepomis gibbosus* (Linnaeus, 1758).
Локализация в гостоприемника: хриле.

Клас Cestoda

Семейство Progrillotiidae Palm, 2004

- 10) *Progrillotia* sp.
Гостоприемник: *Gasterosteus aculeatus* Linnaeus, 1758.
Локализация в гостоприемника: жлъчен мехур.

Тип Nematoda

Клас Adenophorea

Семейство Capillariidae Railliet, 1915

- 11) *Schulmanella petruschewskii* (Shulman, 1948)
Гостоприемник: *Lepomis gibbosus* (Linnaeus, 1758).
Локализация в гостоприемника: хепатопанкреас.

Клас Secernentea

Семейство Anisakidae Railliet & Henry, 1912

- 12) *Hysterothylacium aduncum* (Rudolphi, 1802), ларви трета възраст
Гостоприемници: *Syngnathus abaster* Risso, 1827; *Gasterosteus aculeatus* Linnaeus, 1758.
Локализация в гостоприемника: телесна празнина.
- 13) *Contracaecum* sp. 1, ларви трета възраст
Гостоприемник: *Gasterosteus aculeatus* Linnaeus, 1758.
Локализация в гостоприемника: свободни в телесната кухина.
- 14) *Contracaecum* sp. 2, ларви трета възраст
Гостоприемник: *Knipowitschia caucasica* (Berg, 1916).
Локализация в гостоприемника: свободни в телесната кухина.
- 15) *Contracaecum* sp. 3, ларви трета възраст
Гостоприемник: *Lepomis gibbosus* (Linnaeus, 1758).
Локализация в гостоприемника: свободни в телесната кухина.

Семейство Gnathostomatidae Railliet, 1895

- 16) *Spiroxys contortus* (Rudolphi, 1819), ларви трета възраст
Гостоприемник: *Lepomis gibbosus* (Linnaeus, 1758).
Локализация в гостоприемника: инкапсулирани в чревните и стомашни стени.

От направения кратък систематичен преглед се вижда, че в изследваните видове риби преобладават нематодите, представени от 6 вида, следвани от трематодите – 5 вида, моногенеите – 4 вида и от цестодите, представени от 1 вид. От установените паразитни червеи, само един вид (*H. aduncum*) е изолиран от два вида гостоприемници. Останалите видове са установени само в един вид гостоприемник.

4.2. Морфология и таксономия на установените хелминти

В хода на изследването идентификацията на част от видовете хелминти беше затруднена поради оскъдни или противоречиви данни за техните морфология, таксономично положение и статус. Това наложи морфологични изследвания със светлинна микроскопия, а при необходимост – и сканираща електронна микроскопия (SEM). Със съдействие на колеги, част от тези видове бяха анализирани с молекулярни подходи и данните бяха използвани за анализ на валидността, таксономичното положение и филогенетичните връзки на проучените таксони.

Трематоди

Aphalloides coelomicola Dollfus, Chabaud & Golvan, 1957 (семейство Cryptogonimidae)

За *Aphalloides coelomicola*, изолиран от телесната празнина на Кавказкото попче *Knipowitschia caucasica*, се установи наличието на противоречиви сведения за семейната принадлежност на представителите на рода и противоречия относно неговата морфология. Род *Aphalloides* Dollfus, Chabaud & Golvan, 1957 е предложен като монотипен за *A. coelomicola*, описан въз основата на екземпляри, изолирани от

телесната празнина на *Pomatoschistus microps* (Krøyer, 1838), уловени в бракичен водоем на Средиземноморското крайбрежие на Франция. Представителите на рода са паразити в телесната празнина на попчета от родовете *Pomatoschistus* Gill, 1863 и *Knipowitschia* Pjin, 1927, които са едновременно втори междинен и дефинитивен гостоприемник за тях, а като първи междинен гостоприемник служат охлюви от семейство Hydrobiidae. Първоначално родът е отнесен в рамките на семейство Cryptogonimidae, но впоследствие е отнесен и към две други семейства, а именно Heterophyidae Leiper, 1909 и Opisthorchiidae Looss, 1899. Понастоящем и трите семейства са поместени в рамките на надсемейство Opisthorchioidea Looss, 1899. В настоящото изследване *A. coelomicola* се съобщава за първи път за фауната на България. В хода на проучването видът е преописан (светлинна микроскопия и SEM), при което се установиха морфологични сходства с представителите на семейство Cryptogonimidae, но също и белези, отличаващи го от останалите родове в рамките на това семейство. Такива белези са отсъствие на тегументно ошипяване и наличие на къс екскреторен мехур, който не навлиза в предната част на тялото. В резултат на проведеня молекулярен филогенетичен анализ (D2-D3 сегмента на 28S rDNA) се установи близка филогенетична свързаност с криптогонимида *Centrovarium lobotes* (MacCallum, 1895), което потвърди принадлежността на род *Aphalloides* към семейство Cryptogonimidae.

По-подробна информация относно проведените изследвания върху морфологията, таксономията и филогенетичните връзки на род *Aphalloides* са представени в Приложение 1.

Paratimonia gobii Prévot & Bartoli, 1967 (семейство Monorchidae)

В Европа, род *Paratimonia* Prévot & Bartoli, 1967 включва чревни паразити на попчета от родовете *Pomatoschistus* и *Knipowitschia*, служещи като краен гостоприемник, а мидата *Abra segmentum* (Récluz, 1943) [син. *A. ovata* (Philippi, 1836)] е първи и втори междинен гостоприемник. В европейските води този род е представен от един вид, а именно *Paratimonia gobii* Prévot & Bartoli, 1967 (типов), който на свой ред е поделен на два подвида – *Paratimonia gobii gobii* Prévot & Bartoli, 1967 (номинатен), описан от *Pomatoschistus microps* (Krøyer, 1838) от Средиземно море (Франция) и *P. gobii pontica* Naydenova, 1970 (първоначално наименован “forme pontica”), изолиран от *Pomatoschistus marmoratus* (Risso, 1810) от Азовско море (Украйна). По-късно видът е съобщен и от *K. caucasica* от Сухий лиман на Украинското Черноморско крайбрежие. В настоящото изследване, поради съмнения относно валидността на подвидовото разделение в рамките на вида, нашият материал е идентифициран като *Paratimonia gobii*. Това е първото съобщение на паразита за фауната на България.

Данни за морфологията и таксономията на намерените трематоди с повече подробности са представени в Приложение 5.

Posthodiplostomum centrarchi Hoffman, 1958 (семейство Diplostomidae)

Първоначално, изолираните от слънчевата рибка *Lepomis gibbosus* от Атанасовско езеро метацеркарии бяха идентифицирани като *Posthodiplostomum* sp. Оскъдните данни за трематодите от рода *Posthodiplostomum* Dubois, 1936 (Diplostomidae), а също и отчетливите морфологични разлики с известните до момента два вида от Европа и Палеарктика, а именно *P. cuticola* (von Nordmann, 1832) (типов вид) и *P. brevicaudatum*, силно затрудни видовата им идентификация. Това наложи

провеждането на сравнително морфологично проучване (светлинна микроскопия) и молекулярно изследване (*cox1* и ITS1-5.8S-ITS2) на нашия материал. Получените резултати бяха сравнени с наличната информация за *Posthodiplostomum* spp. от Северна Америка – района на произход на слънчевата рибка. В резултат на морфологичното проучване се установи сходство с широко разпространения и патогенен за рибите от Северна Америка вид *Posthodiplostomum minimum* (McCallum, 1921) Dubois, 1936, представен от два слабо различими по своята морфология подвида – номинатния *Posthodiplostomum minimum minimum* (MacCallum, 1921), паразит на шаранови риби, и *P. minimum centrarchi* Hoffman, 1958, паразит на риби от семейство Centrarchidae. В резултат на молекулярното проучване, наличният материал се идентифицира като “*Posthodiplostomum* sp. 3”, секвениран от Locke et al. (2010) (GenBank HM064838) и изолиран от същия гостоприемник от Канада. Наличните данни за *P. minimum centrarchi* и “*Posthodiplostomum* sp. 3” ни накара да разглеждаме като идентични двата таксона. В допълнение, фактът че *P. minimum minimum* е специфичен за риби от семейство Cyprinidae, а другият подвид *P. minimum centrarchi* проявява висока специфичност към риби от семейство Centrarchidae, говори за физиологични, а от тук и за генетични различия между двата подвида. Това ни накара да предложим издигането на този подвид до ранг на самостоятелен вид като *Posthodiplostomum centrarchi* Hoffman, 1958. Настоящото изследване е първото съобщение на *P. centrarchi* като нов (трети) представител на рода *Posthodiplostomum* в Палеарктика. Ние го разглеждаме като чуждоземен вид, проникнал в Европа благодарение на широкото разпространение на втория междинен гостоприемник (*Lepomis gibbosus*), който е инвазивен вид за нашия континент.

По-подробно информацията относно идентификацията, морфологията и таксономията на вида е представена в Приложение 3.

Posthodiplostomum brevicaudatum (von Nordmann, 1832) (семейство Diplostomidae)

Морфологично и молекулярно характеризирание на този вид е извършено на основата на материали, събрани от трииглата бодливка (*Gasterosteus aculeatus*) от Атанасовско езеро. По-подробно информацията за вида е представена в Приложение 3.

Моногенеи

Gyrodactylus bubyri Osmanov, 1965 (семейство Gyrodactylidae)

За *Gyrodactylus bubyri*, изолиран от кожата, плавниците и хрилете на кавказкото попче *Knipowitschia caucasica*, се установи близко морфологично сходство с два други представители на рода. В допълнение, наличните за вида морфологични и морфометрични данни са оскъдни. Всичко това затрудни коректното видово идентифициране на изследвания материал.

Gyrodactylus bubyri е описан за първи път като паразит на *K. caucasica* от Аралско море (Узбекистан), където гостоприемникът е интродуциран неволно от Каспийско море. В следствие този паразит е съобщаван само веднъж върху същия вид гостоприемник, уловен във водите на река Струма (Гърция). В хода на настоящото изследване, видът е преописан (светлинна микроскопия и SEM), при което се установиха значителни морфологични сходства с *G. micropsi* Gläser, 1974, описан от *Potamoschistus microps* (Krøyer, 1838) от Балтийско море (Германия), а също и със сравнително наскоро описания *G. charon* Vanhove and Huysse in Vanhove et al. 2014 от

Knipowitschia milleri (Ahnelt & Bianco, 1990) от делтата на река Ахерон (Гърция). Това наложи провеждането на сравнително морфологично изследване за изясняване на видовата принадлежност на нашият материал. За нуждите на това изследване се използва също и сравнителен материал от *G. charon* (паратипови препарати) и от *G. bubyri* (ваучърни препарати) от Гърция, предоставени ни от колекцията на Природонаучния музей в Стокхолм (Швеция). В допълнение, получихме и препарати на *G. micropsi*, изолирани от *P. microps* (Северно море, Белгия), от личната колекция на д-р Tine Huuse от Департамента по биология на Кралския музей за Централна Африка, Тервурен (Белгия). Проведе се и молекулярно изследване (фрагмент ITS1-5.8S-ITS2). В резултат се установи пълно съответствие на генетичния материал, изолиран от *G. bubyri* от Атанасовско езеро, с наличния от GenBank за *G. micropsi*. Това, а също и идентичната морфология, наложиха двата таксона *G. micropsi* и *G. bubyri* да бъдат синонимизирани, при което първият се разглежда като по-млад синоним на *Gyrodactylus bubyri* Osmanov, 1965. На този етап, евентуална синонимия между *G. bubyri* (валиден таксон) и *G. charon* (вероятен по-млад синоним) не може да се потвърди и са необходими допълнителни изследвания. Настоящото проучване е първото съобщение на *G. bubyri* за Черноморския басейн.

По-подробна информация относно морфологията и таксономията на вида е представена в Приложение 2.

Onchocleidus similis Mueller, 1936 и *Onchocleidus dispar* Mueller, 1936 (семейство Ancyrocephalidae)

Тези два американски вида хрилни моногенеи се разпространяват заедно с инвазивния вид гостоприемник *Lepomis gibbosus* в Европа. В резултат на нашето изследване бяха публикувани морфологични данни и илюстративен материал, основани на екземпляри от влажна зона, прилежаща на Атанасовско езеро. Събраните данни разширяват информацията за изменчивостта на видовете в техния ареал в Европа (Приложение 4).

Нематоди

Schulmanella petruschewskii (Shulman, 1948) (семейство Capillariidae)

Този чернодробен паразит по сладководните риби беше установен в *Lepomis gibbosus* във влажна зона, прилежаща на Атанасовско езеро. Представените описание и илюстративен материал документират находката и допълват данните за изменчивостта на вида (Приложение 4).

Spiroxys contortus (Rudolphi, 1819) (семейство Gnathostomatidae)

Ларви на този паразит на храносмилателния тракт на водните костенурки бяха установени инкапсулирани в чревните и стомашните стени на *Lepomis gibbosus*. Представени са морфологични данни за установените ларви трети стадий, които са доказателствен материал за находката (Приложение 4).

Contracaecum spp. (семейство Anisakidae)

Ларви трети стадий от род *Contracaecum* Railliet & Henry, 1912 бяха намерени в *Lepomis gibbosus*, *Knipowitschia caucasica* и *Gasterosteus aculeatus*. В трите вида гостоприемници ларвите имат различна морфология, което насочва към три различни

вида. Счита се, че ларвите на видовете от този род не могат да се идентифицират до видово равнище само на основата на тяхната морфология (Moravec 1994, Moravec et al. 2016). Това налага допълнителни изследвания. Намерените нематоди от слънчева рибка са описани в Приложение 4, а от кавказко попче – в Приложение 5.

4.3. Хелминтни съобщества

По-пълно, структурата на хелминтните съобщества (компонентно съобщество и инфрасъобщество) е проучена в два от видовете риби, от които разполагаме с големи извадки и в които са намерени голям брой паразити (като видове и екземпляри). Това са *Knipowitschia caucasica* и *Lepomis gibbosus*.

Хелминтни съобщества на слънчевата рибка (*Lepomis gibbosus*)

За структурата на компонентните съобщества и инфрасъобществата, установени в слънчевата рибка *L. gibbosus* от Атанасовско езеро, са направени сравнения с предходно изследване (Chapman et al. 2015) на паразитни съобщества в този вид риба от естествения ѝ ареал (популации от Канада). От направеното проучване се установиха по-ниски стойности на видово разнообразие и обилие на хелминтните съобщества в слънчевата рибка от инвазивния ѝ ареал в Европа в сравнение с тези от естествения ѝ ареал в Северна Америка. Получените резултати са съвместими с една от широко възприетите през последните години хипотези за ролята на паразитите в изхода (успеха или неуспеха) на биологичните инвазии, а именно „Хипотезата за избягване от враговете“ (Enemy Release Hypothesis). Според нея, при навлизане на даден вид в нова територия (инвазивен ареал), последният се освобождава от регулиращата роля, която оказват върху неговите популации естествените му врагове (хищници и паразити), срещащи се в естествения му ареал; по този начин се благоприятства успехът на неговата инвазия. От друга страна, обаче, се наблюдава и т.нар. „Ефект на обратното преливане“ (Parasite spillback effect), при който инвазивният вид, веднъж установил се в новия си ареал, бива опаразитен от местни видове паразити (*S. petruschewskii*, *Contracaecum* sp. и *Spirochys contortus*), усилвайки по този начин тяхната циркулация сред местните видове гостоприемници. От установените паразитни червеи три вида, а именно *P. centrarchi*, *O. similis* и *O. dispar*, са специфични паразити на рибите от семейство Centrarchidae от Северна Америка и са привнесени в Европа чужди видове. Нито един от тях, в рамките на настоящото проучване, не е установен да паразитира в изследваните местни видове риби, т.е. отсъстват данни за негативен ефект (Parasite spillover effect) на тези чуждоземни паразити върху местната ихтиофауна.

По-подробна информация относно структурата на хелминтните съобщества от слънчевата рибка е представена в Приложение 4.

Хелминтни съобщества на кавказкото попче (*Knipowitschia caucasica*)

Поради отсъствието на оценъчни данни за структурата на хелминтните съобщества (компонентни съобщества и инфрасъобществата) от предходни изследвания на кавказкото попче *K. caucasica*, направеното сравнение с предходни проучвания е частично. От този гостоприемник от района на Черноморския басейн има хелминтологични данни от северното крайбрежие (п-в Крим и Одеския залив) и от Азовско море (Найденова 1970а, б, 1974, Гаевская и др. 1975, Гаевская 2012, Krasnovud et al. 2012). От направения анализ се установи, че видовото разнообразие на паразитните червеи в кавказкото попче от Атанасовско езеро е значително по-бедно в

сравнение със съобщеното от други райони на Черноморския басейн, където кавказкото попче се среща заедно с други видове попчета в едни и същи местообитания. По-подробна информация относно структурата на хелминтните съобщества от кавказкото попче е представена в Приложение 5.

4.4. Разпределение на хелминтите по видове гостоприемници

В три вида риби не бяха намерени паразитни червеи. Това са *Pungitius platygaster* (изследван 1 индивид), *Pseudorasbora parva* (изследвани 13 индивида) и *Gambusia holbrooki* (изследвани 111 индивида). Данните за намерените паразити в *Lepomis gibbosus* са представени в Приложение 4, а за тези в *Knipowitschia caucasica* – в Приложение 5.

В *Syngnathus abaster* (изследвани 13 индивида) са намерени два вида паразити. Трематодеът *Timoniella imbutiforme* (Cryptogonimidae) е установен еднократно, през м. юли 2013 г., в две от пет изследвани риби, със срещаемост 40.0%, средна интензивност 21.0 и средно обилие 8.4. Нематодът *Hysterothylacium aduncum* (ларви трета възраст) (Anisakidae) е установен еднократно, през м. юли 2013 г., в една от пет изследвани риби, със срещаемост 20.0%, интензивност 5.0 и средно обилие 1.0. В *Gasterosteus aculeatus* са установени пет вида хелминти (Таблица 2).

Обобщени данни са представени в следния гостоприемниково-паразитен списък:

***Gasterosteus aculeatus* Linnaeus, 1758 – Триигла бодливка**

Posthodiplostomum brevicaudatum (von Nordmann, 1832), metacercariae

Gyrodactylus arcuatus Burchowsky, 1933

Progrillotia sp., plerocerci

Hysterothylacium aduncum (Rudolphi, 1802), larvae

Contracaecum sp. 3, larvae

***Pungitius platygaster* (Kessler, 1859) – Деветигла бодливка**

-

***Syngnathus abaster* Risso, 1827 – Черно-ивичеста морска игла**

Timoniella imbutiforme (Molin, 1859)

Hysterothylacium aduncum (Rudolphi, 1802), larvae

***Knipowitschia caucasica* (Berg, 1916) – Кавказко попче**

Aphalloides coelomicola Dollfus, Chabaud & Golvan, 1957

Paratimonia gobii Prévot & Bartoli, 1967

Gyrodactylus bubyri Osmanov, 1965

Contracaecum sp. 2, larvae

Таблица 2. Установени инвазии с хелминти в *Gasterosteus aculeatus* L. и техните инвазионни параметри, представени като: размер на гостоприемниковата извадка (n); срещаемост (P%), интензивност (I), средна интензивност ± стандартна грешка (MI±SE) и средно обилие (MA±SE), представени по години и месеци.

Видове хелминти	Инвазионни параметри	Май 2012, n=31	Юли 2012, n=31	Септември 2012, n=0	Май 2013, n=31	Юли 2013, n=31	Септември 2013, n=10	Общо n=134
<i>Posthodiplostomum brevicaudatum</i> (von Nordmann, 1832)	P%	–	80.65	–	–	12.90	10.00	22.39
	I (Range)	–	1–10	–	–	1–3	1	1–10
	MI±SE	–	4.68±0.56	–	–	1.5±0.50	1	4.13±0.52
	MA±SE	–	3.77±0.56	–	–	0.20±0.11	0.1	0.93±0.19
<i>Gyrodactylus arcuatus</i> Bychowsky, 1933	P%	96.77	16.13	–	83.87	83.87	50.00	68.66
	I (Range)	1–47	2–13	–	1–815	1–87	1–13	1–815
	MI±SE	17.43±2.45	5.40±2.23	–	141.08±39.14	12.54±3.92	4.20±2.34	49.62±12.54
	MA±SE	16.87±2.44	0.87±0.49	–	118.32±34.07	10.52±3.39	2.10±1.30	34.07±8.82
<i>Progrillotia</i> sp. (plerocerci)	P%	–	–	–	16.13	–	–	3.73
	I (Range)	–	–	–	1–7	–	–	1–7
	MI±SE	–	–	–	2.40±1.17	–	–	2.40±1.17
	MA±SE	–	–	–	0.39±0.24	–	–	0.09±0.06
<i>Hysterothylacium aduncum</i> (Rudolphi, 1802) (L3)	P%	3.23	–	–	16.13	–	–	4.48
	I (Range)	1	–	–	1–2	–	–	1–2
	MI±SE	1	–	–	1.40±0.25	–	–	1.33±0.21
	MA±SE	0.04	–	–	0.23±0.10	–	–	0.06±0.03
<i>Contracaecum</i> sp. (L3)	P%	3.23	–	–	–	–	–	0.75
	I (Range)	1	–	–	–	–	–	1
	MI±SE	1	–	–	–	–	–	1
	MA±SE	0.04	–	–	–	–	–	0.01
Общо	P%	96.77	80.65	–	87.10	87.10	60.00	85.82
	I (Range)	1–47	1–13	–	1–815	1–87	1–13	1–815
	MI±SE	17.50±2.46	5.76±0.72	–	136.56±38.04	12.30±3.78	3.67±1.98	40.96±10.17
	MA±SE	16.94±2.45	4.65±0.71	–	118.94±34.10	10.71±3.37	2.20±1.29	35.15±8.81

Pseudorasbora parva (Temminck & Schlegel, 1846) – Псеудоразбора

-

Gambusia holbrooki Girard, 1859 – Гамбузия

-

Lepomis gibbosus (Linnaeus, 1758) – Слънчева рибка

Posthodiplostomum centrarchi Hoffman, 1958, metacercariae

Onchocleidus similis Mueller, 1936

Onchocleidus dispar Mueller, 1936

Schulmanella petruschewskii (Shulman, 1948)

Contracaecum sp. 3, larvae

Spiroxys contortus (Rudolphi, 1819), larvae

Както се вижда от изложените данни, в *Lepomis gibbosus* са установени 6 вида хелминти, в *Gasterosteus aculeatus* – 5, в *Knipowitschia caucasica* – 4, а в *Syngnathus abaster* – 2. В *Pungitius platygaster*, *Pseudorasbora parva* и *Gambusia holbrooki* не са установени хелминти, макар че последният вид е представен в изследваната извадка със 111 индивида.

5. Заключение

5.1. Обобщение и изводи

През 2012 и 2013 г. в рамките на три сезона (пролет, лято и есен) са изследвани за наличие на хелминти общо 565 екземпляра от 7 вида риби (4 местни и 3 неместни) от поддържан резерват „Атанасовско езеро“. Местните видове са *Gasterosteus aculeatus* (изследвани 134 индивида), *Pungitius platygaster* (1 индивид) (Gasterosteidae); *Syngnathus abaster* (13 индивида) (Syngnathidae) и *Knipowitschia caucasica* (186 индивида) (Gobionellidae), а неместните – *Pseudorasbora parva* (13 индивида) (Cyprinidae), *Gambusia holbrooki* (111 индивида) (Poeciliidae) и *Lepomis gibbosus* (107 индивида) (Centrarchidae). Установени са общо 16 вида паразитни червеи, от които 5 вида са трематоди, 4 вида са моногенеи, 1 вид е цестод, а 6 вида са нематоди. Това са трематодите *Posthodiplostomum brevicaudatum* и *P. centrarchi* (Diplostomidae), и двата като метацеркарии; *Aphalloides coelomicola* и *Timoniella imbutiforme* (Cryptogonimidae); *Paratimonia gobii* (Monorchidae); моногенеите *Gyrodactylus arcuatus* и *G. bubyri* (Gyrodactylidae); *Onchocleidus similis* и *O. dispar* (Ancyrocephalidae); плероцерки на цестода *Progrillotia* sp. (Progrillotiidae); нематодите *Schulmanella petruschewskii* (Capillariidae); *Hysterothylacium aduncum* (larvae), *Contracaecum* sp. 1 (larvae), *Contracaecum* sp. 2 (larvae), *Contracaecum* sp. 3 (larvae) (Anisakidae) и *Spiroxys contortus* (larvae) (Gnathostomatidae).

На основата на изследването могат да се направят следните основни **изводи**:

- 1) Фауната на хелминтите на рибите в поддържания резерват “Атанасовско езеро” се състои от 16 вида – 5 вида трематоди, 4 моногенеи, 1 цестод и 6 нематоди.

- 2) Нови видове за фауната на страната са: *Posthodiplostomum centrarchi*, *Aphalloides coelomicola*, *Timoniella imbutiforme*, *Paratimonia gobii*, *Gyrodactylus arcuatus* и *G. bubyri*. *G. bubyri* е нов за фауната на Черноморския басейн, а *P. centrarchi* е нов за фауната на Палеарктика.
- 3) С най-много видове хелминти е *Lepomis gibbosus* (6 вида), следван от *Gasterosteus aculeatus* (5 вида), *Knipowitschia caucasica* (4 вида) и *Syngnathus abaster* (2 вида). В *Pungitius platygaster*, *Pseudorasbora parva* и *Gambusia holbrooki* не са установени хелминти.
- 4) В противоположност на изразени от други автори таксономични виждания, *Aphalloides coelomicola* се отнася към семейство Cryptogonimidae, а *Gyrodactylus bubyri* е по-стар синоним на *G. micropsi*.
- 5) Хелминтните съобщества в *Lepomis gibbosus* от Атанасовско езеро се състоят от три чуждоземни вида (специфични паразити на центрархидите) и три местни вида. Сравнението с хелминтните съобщества в същия гостоприемник от неговия естествен ареал в Канада (по данни на Chapman et al. 2015) показва пониски стойности на видово разнообразие и обилие в инвазивния ареал на гостоприемника. Резултатите са съвместими с „Хипотезата за избягване от враговете“ (Enemy Release Hypothesis). Наблюдава се и „Ефект на обратното преливане“ (Parasite Spillover), при който инвазивният вид се включва в циркулацията на местни паразити. Няма данни за негативен ефект (Parasite Spillover) на чуждоземните паразити, внесени със слънчевата рибка, върху местната ихтиофауна.
- 6) Хелминтните съобщества на *Knipowitschia caucasica* в Атанасовско езеро се състоят от четири вида и са по-бедни от тези в същия вид гостоприемник в други райони на Черноморския басейн, където кавказкото попче се среща заедно с други видове попчета в едни и същи местообитания.

5.2. Научни приноси

Резултатите от проведените изследвания очертават следните по-важни научни приноси на дисертационната разработка:

- 1) За първи път е проведено целенасочено проучване за изясняване на видовия състав и структурата на съобществата от хелминти в риби от крайбрежна влажна зона по Българското Черноморско крайбрежие. Изследвани са седем вида гостоприемници – четири местни и три неместни (съответно три и два вида с относително големи извадки).
- 2) За първи път за фауната на България са съобщени шест вида хелминти, от които един е нов за фауната на Черноморския басейн, а един – за фауната на Палеарктика.
- 3) В областта на морфологията на хелминтите – разширени и допълнени са знанията за морфологията и изменчивостта на четири вида трематоди, четири вида моногенеи и два вида нематоди.
- 4) В областта на таксономията на хелминтите – изяснена е принадлежността на род *Aphalloides* към семейство Cryptogonimidae, предложено е синонимизиране на

Gyrodactylus bubyri (валиден вид) и *G. micropsi* (синоним), а *Posthodiplostomum minimum centrarchi* е издигнат до ранг на самостоятелен вид.

- 5) За първи път са характеризирани хелминтните съобщества в инвазивния ареал на *Lepomis gibbosus*, като е установено, че тяхната структура е в съответствие с “Хипотезата за избягване от враговете” (Enemy Release Hypothesis) и се наблюдава „Ефект на обратното преливане“ (Parasite Spillback).
- 6) Характеризирани са хелминтните съобщества в *Knipowitschia caucasica* от Атанасовско езеро. Установеното по-ниско видово богатство в сравнение със съобщества в същия гостоприемник от Северното Черноморие и Азовско море има като най-вероятна причина отсъствието на други видове попчета в Атанасовско езеро.

5.3. Декларация за оригиналност

ДЕКЛАРАЦИЯ

от Борислав Йорданов Стоянов

Във връзка с провеждането на процедура за защита на дисертация за придобиване на образователна и научна степен „доктор” в Института по биоразнообразие и екосистемни изследвания при БАН, еднозначно декларирам:

- 1) Резултатите, обсъжданията и изводите в научната продукция, които предоставям в процедурата, са оригинални и не са заимствани без цитиране от изследвания и публикации, в които нямам участие.
- 2) Представената от мен информация във вид на копия на документи и публикации, лично съставени справки и др. съответства на обективната истина.

Декларатор:.....
Борислав Стоянов

Дата: 22.12.2017 г.

6. Благодарности

Изказвам най-сърдечните си благодарности към моите родители за тяхната подкрепа, за техните насърчения да продължавам напред, въпреки всички трудности, за тяхната обич и за съпричастността им към моите интереси и стремежи в живота и разбира се в науката.

Благодаря също на научния си ръководител проф. д.б.н. Бойко Георгиев и на научния си консултант гл. ас. д-р Пламен Панков за ценната помощ оказана ми от тях в хода на обучението и изготвянето на дисертационния ми труд.

Големи благодарности изказвам и на колегите от института проф. д-р Даниела Пиларска, доц. д-р Гергана Василева, доц. д-р Катя Георгиева, доц. д-р Георги Радославов, доц. д-р Петър Христов, доц. д-р Ясен Мутафчиев, доц. д-р Апостолос Апостолу, гл. ас. д-р Павел Николов, докторант Бойко Неов, докторант Велислав Зарев и лаборант Снежана Христова за обучението, помощта и ползотворното сътрудничество.

Особено благодаря на д-р Tine Huuse от Кралския музей за Централна Африка, Тервурен (Белгия), водещ учен в областта на паразитологията, а също и на д-р Sven Boström от Природонаучния музей в Стокхолм (Швеция), водещ учен в областта на нематодологията, за ценното и плодотворно сътрудничество.

Благодаря на д-р David Gibson, д-р Harry Palm, д-р Jean Mariaux и д-р Vasył Tkach, водещи учени в областта на паразитологията, за ценните съвети и сътрудничество.

Благодаря на проф. д-р Анета Костадинова, д-р Симона Георгиева и д-р Olena Kudlai от Института по паразитология към Чешката академия на науките за ценните съвети и ползотворното сътрудничество.

За създадените благоприятни условия за работа и полученото финансиране, изказвам благодарностите си към проектите WETLANET (FP7, CAPACITIES, Grant 229802) и SEBDER (Фонд научни изследвания, DO 02-15/2009) с ръководител проф. д.б.н. Бойко Георгиев, а също и към проект „Филогенетични и ултраструктурни маркери за паразитни червеи“ (Фонд научни изследвания, DO 02-271) с ръководител гл. ас. д-р Павел Николов.

Благодаря и на научния съвет на ИБЕИ – БАН за отпуснатото поощрително финансиране за 2016 г. в размер на 1000 лв. по „Програмата за подпомагане на младите учени в БАН“.

8. Приложения

Основната част от резултатите по този дисертационен труд са представени в пет публикации (Приложения 1-5).

8.1. Приложение 1:

Stoyanov B., Neov B., Pankov P., Radoslavov G., Hristov P. & Georgiev B. B. (2015). Redescription of *Aphalloides coelomicola* Dollfus, Chabaud & Golvan, 1957 (Digenea, Opisthorchioidea) based on specimens from *Knipowitschia caucasica* (Berg) (Actinopterygii, Gobionellidae) from a Black Sea lagoon, with comments on the systematic position of the genus. *Systematic Parasitology*, **91** (1): 1–12. DOI:10.1007/s11230-015-9559-y, ISI IF: 1.316

8.2. Приложение 2:

Stoyanov B., Huysse T., Pankov P. & Georgiev B. B. (2016). Morphological and molecular identification of *Gyrodactylus bubyri* Osmanov, 1965 (Monogenea: Gyrodactylidae) from Caucasian dwarf goby, *Knipowitschia caucasica* (Berg) (Actinopterygii: Gobionellidae) from a Black Sea lagoon. *Parasitology Research*, **115** (4): 1617–1625. DOI:10.1007/s00436-015-4899-8, ISI IF:2.027

8.3. Приложение 3:

Stoyanov B., Georgieva S., Pankov P., Kudlai O., Kostadinova A. & Georgiev B. B. (2017). Morphology and molecules reveal the alien *Posthodiplostomum centrarchi* Hoffman, 1958 as the third species of *Posthodiplostomum* Dubois, 1936 (Digenea: Diplostomidae) in Europe. *Systematic Parasitology*, **94** (1): 1–20. DOI: 10.1007/s11230-016-9680-6, ISI IF: 1.181

8.4. Приложение 4:

Stoyanov B., Mutafchiev Y., Pankov P. & Georgiev B. B. (2017). Helminth parasites in the alien *Lepomis gibbosus* (L.) (Centrarchidae) from the Lake Atanasovsko Wetlands, Bulgaria: survey of species and structure of helminth communities. *Acta Zoologica Bulgarica*, **69** (4): 555–574. ISI IF: 0.413

8.5. Приложение 5:

Stoyanov B., Mutafchiev Y., Pankov P. & Georgiev B. B. (2018). Helminths and helminth communities in the Caucasian dwarf goby, *Knipowitschia caucasica* (Berg) (Actinopterygii: Gobionellidae) from Lake Atanasovsko, Bulgaria. *Acta Zoologica Bulgarica* (In press).

8.6. Приложение 6:

Разрешителни за улов на риби от поддържан резерват „Атанасовско езеро“, издадени от Министерство на околната среда и водите (МОСВ), София, както следва:

- 1) Разрешително с Изх. № НСЗП-152 от 11.05.2012 г.
- 2) Разрешително с Изх. № НСЗП-168 от 29.04.2013 г.

9. Участия в научни форуми с резултати от дисертацията

Представени са два броя доклади (докладващ автор Б. Стоянов) пред научни форуми в страната, с международно участие:

- 1) Stoyanov B., Pankov P., Radoslavov G., Hristov P. & Georgiev B. B. (2013). Systematic position of the genus *Aphalloides* (Digenea, Opisthorchioidea): morphological and molecular studies. In: *Ninth National Conference of Parasitology (with International Participation)*, 18–21 September, Plovdiv. Book of program and abstracts, pp. 14–15.
- 2) Stoyanov B., Pankov P. & Georgiev B. B. (2015). Helminths of Caucasian dwarf goby *Knipowitschia caucasica* (Berg) from Atanasovsko Lake, Bulgaria. In: *Seminar of Ecology – 2015 (with International Participation)*, 23–24 April, Sofia. Book of program and abstracts, pp. 56–57.

10. Списък на цитиранията на публикации по темата на дисертацията

Stoyanov B., Neov B., Pankov P., Radoslavov G., Hristov P. & Georgiev B. B. (2015). Redescription of *Aphalloides coelomicola* Dollfus, Chabaud & Golvan, 1957 (Digenea, Opisthorchioidea) based on specimens from *Knipowitschia caucasica* (Berg) (Actinopterygii, Gobionellidae) from a Black Sea lagoon, with comments on the systematic position of the genus. *Systematic Parasitology*, **91** (1): 1–12. DOI:10.1007/s11230-015-9559-y, ISI IF: 1.316

Цитира се в:

- 1) Nolan M. J., Curran S. S., Miller T. L., Cutmore S. C., Cantacessi C. & Cribb T. H. (2015). *Dollfustrema durum* n. sp. and *Heterobucephalopsis perardua* n. sp. (Digenea: Bucephalidae) from the giant moray eel, *Gymnothorax javanicus* (Bleeker) (Anguilliformes: Muraenidae), and proposal of the Heterobucephalopsinae n. subfam. *Parasitology International*, **64** (6): 559–570. DOI: 10.1016/j.parint.2015.07.003, ISI IF: 1.929
- 2) Chalupecká K. (2015) Review of knowledge on the Mediterranean marine gobies. Univerzita Karlova v Praze, Bakalárska práca, Praha, 31 p.
- 3) Quintana M. G. & de Núñez M. O. (2016). The life cycle of *Neocladocystis intestinalis* (Vaz, 1932) (Digenea: Cryptogonimidae), in *Aylacostoma chloroticum* (Prosobranchia: Thiaridae), and *Salminus brasiliensis* (Characiformes: Characidae), in Argentina. *Parasitology Research*, **115** (7): 2589–2595. DOI: 10.1007/s00436-016-5004-7, ISI IF: 2.027
- 4) Kvach Y., Bryjova A., Sasal P. & Winkler H. (2017). A revision of the genus *Aphalloides* (Digenea: Cryptogonimidae), parasites of European brackish water fishes. *Parasitology Research*, **116** (7): 1973–1980. DOI: 10.1007/s00436-017-5480-4, ISI IF: 2.329
- 5) Martínez-Aquino A, Vidal-Martínez V. M. & Aguirre-Macedo M. L. (2017) A molecular phylogenetic appraisal of the acanthostomines *Acanthostomum* and *Timoniella* and their position within Cryptogonimidae (Trematoda: Opisthorchioidea). *PeerJ*, **5**: e4158. DOI: 10.7717/peerj.4158, ISI IF: 2.200

Stoyanov B., Georgieva S., Pankov P., Kudlai O., Kostadinova A. & Georgiev B. B. (2017). Morphology and molecules reveal the alien *Posthodiplostomum centrarchi* Hoffman, 1958 as the third species of *Posthodiplostomum* Dubois, 1936 (Digenea: Diplostomidae) in Europe. *Systematic Parasitology*, **94** (1): 1–20. DOI: 10.1007/s11230-016-9680-6, ISI IF: 1.181

Цумура се в:

- 6) Kalogianni E., Kmentova N., Harris E., Zimmerman B., Giakoumi S., Chatzinikolaou Y. & Vanhove M. P. M. (2017). Occurrence and effect of trematode metacercariae in two endangered killifishes from Greece. *Parasitology Research*, **116** (11): 3007–3018. DOI: 10.1007/s00436-017-5610-z, ISI IF: 2.329
- 7) Kvach Y., Jurajda P., Bryjova A., Trichkova T., Ribeiro F., Přikrylová I. & Ondračková M. (2017). European distribution for metacercariae of the North American digenean *Posthodiplostomum* cf. *minimum centrarchi* (Strigeiformes: Diplostomidae). *Parasitology International*, **66** (5): 635–642. DOI: 10.1016/j.parint.2017.06.003, ISI IF: 1.744
- 8) Blasco-Costa I. & Locke S. A. (2017) Life History, systematics and evolution of the Diplostomoidea Poirier, 1886: progress, promises and challenges emerging from molecular studies. *Advances in Parasitology*, **98**: 167–225. DOI: 10.1016/bs.apar.2017.05.001
- 9) López-Jiménez A., Pérez-Ponce de León G. & García-Varela M. (2017). Molecular data reveal high diversity of *Uvulifer* (Trematoda: Diplostomidae) in Middle America, with the description of a new species. *Journal of Helminthology*, 1–15. DOI: 10.1017/S0022149X17000888
- 10) Kvach Y., Ondračková M., Kutsokon Y. & Dzyziuk N. (2018). New record of monogenean parasites on non-indigenous fishes in the Ukrainian Danube Delta. *Bioinvasions Records*, **7**: (In press).

HELMINTHS AND HELMINTH COMMUNITIES OF FISHES FROM LAKE ATANASOVSKO

Borislav Y. Stoyanov

PhD thesis worked out at the Institute of Biodiversity and Ecosystem Research,

Bulgarian Academy of Sciences

Abstract: In the course of a helminthological survey, 565 individuals of seven fish species (four native and three non-native) were studied in spring, summer and autumn of 2012 and 2013 from the Lake Atanasovsko Wetlands, Bulgaria. Of them, *Gasterosteus aculeatus* L. (134 individuals), *Pungitius platygaster* (Kessler) (1 individual) (Gasterosteidae); *Syngnathus abaster* Risso (13 individuals) (Syngnathidae) and *Knipowitschia caucasica* (Berg) (186 individuals) (Gobionellidae) were native and *Pseudorasbora parva* (Temminck & Schlegel) (13 individuals) (Cyprinidae), *Gambusia holbrooki* Girard (111 individuals) (Poeciliidae) and *Lepomis gibbosus* (L.) (107 individuals) (Centrarchidae) were non-native species. Totally, 16 helminth parasite species were recorded – 5 trematodes, 4 monogeneans, 1 cestode and 6 nematodes. In *G. aculeatus*, five helminth species were found: *Posthodiplostomum brevicaudatum* (von Nordmann, 1832) (met.) (Trematoda); *Gyrodactylus arcuatus* Bychowsky, 1933 (Monogenea), *Progrillotia* sp. (larvae) (Cestoda), *Hysterothylacium aduncum* (Rudolphi, 1802) (LIII) and *Contracaecum* sp. (LIII) (Nematoda). In *K. caucasica*, four helminth species were discovered: *Aphalloides coelomicola* Dollfus, Chabaud & Golvan, 1957 and *Paratimonia gobii* Prévot & Bartoli, 1967 (Trematoda), *Gyrodactylus bubyri* Osmanov, 1965 (Monogenea) and *Contracaecum* sp. (LIII) (Nematoda). Two helminth species, the trematode *Timoniella imbutiforme* (Molin, 1859) and the nematode *H. aduncum* (LIII), were identified from *S. abaster*. In *L. gibbosus*, six helminth species were recorded: the trematode *Posthodiplostomum centrarchi* Hoffman, 1958 (met.), the monogeneans *Onchocleidus similis* Mueller, 1936 and *O. dispar* Mueller, 1936 as well as the nematodes *Schulmanella petruschewskii* (Shulman, 1948), *Spiroxys contortus* (Rudolphi, 1819) (LIII) and *Contracaecum* sp. (LIII). In *P. platygaster*, *P. parva* and *G. holbrooki*, no helminth parasites were recorded. New geographical records for Bulgaria were *P. centrarchi*, *A. coelomicola*, *T. imbutiforme*, *P. gobii*, *G. arcuatus*, *G. bubyri* and *Progrillotia* sp. In addition, *P. centrarchi* and *G. bubyri* were new helminth parasites for the Palaearctic Region and the Black Sea basin, respectively. In addition, some taxonomical issues were resolved: the genus *Aphalloides* was proved to be a member of the family Cryptogonimidae; the monogenean *G. bubyri* was recognised as a senior synonym of *G. micropsi* Gläser, 1974 and the subspecies *Posthodiplostomum minimum centrarchi* Hoffman, 1958, originally described from North America, was elevated to the species level as *P. centrarchi* Hoffman, 1958. In addition, the structure of the helminth communities (component communities and infracommunities) in both *K. caucasica* and *L. gibbosus* were characterised. In *L. gibbosus*, the helminth component communities and infracommunities studied had lower species richness, diversity and abundance compared to those in the host's native range, which was consistent with the Enemy Release Hypothesis. Though *L. gibbosus* harboured three alien parasites (*P. centrarchi*, *O. similis* and *O. dispar*), there was no evidence for spillover infections in fishes in the Lake Atanasovsko Wetlands. However, its negative impact on native populations might be by parasite spillback (participation in life cycles of native parasites in fishes, reptiles and birds). In *K. caucasica*, helminth component communities and infracommunities studied had poorer species richness than those recorded in the same host species from other (brackish) localities in the Black Sea basin.