

СПРАВКА

за по-важните научни приноси
на д-р Димитър Владимиров Димитров,

главен асистент в секция “Биоразнообразие и екология на паразитите”,

Институт по биоразнообразие и екосистемни изследвания при БАН

(във връзка с участие в конкурс за „доцент“ по научна специалност „Екология и опазване на екосистемите“, за нуждите на изследователска група „Кръвни паразити по птици“)

Направената справка за по-важните научни приноси от изследователската ми работа може да бъде разделена в няколко основни направления: I) таксономични и филогенетични проучвания за изучаване на морфологичното и молекулярно разнообразие и специфичността на едноклетъчните кръвни паразити от разред *Haemosporida* (*Apicomplexa*) при птиците; II) изследвания върху хранителните предпочитания и специфичност на векторите (преносителите) на хемоспоридиите (*Haemosporida*) по птиците; III) проучвания върху поведенческите реакции на птиците във връзка с екстензивността и интензивността инвазията с хемоспоридни паразити; IV) изследвания върху географското разпространение на хемоспоридиите по птиците и взаимоотношенията им с други кръвни паразити; V) проучвания, целящи да изяснят ролята на хемоспоридните паразити по време на миграция на птиците и обратното, дали миграционните придвижвания имат отношение към екстензивността и разнообразието от хемоспоридии по птиците; VI) орнитологични проучвания върху методиката за прилагане на изотопния анализ за изясняване на миграцията при птиците и влияние на ветроенергийните паркове върху ареала на зимуващите гъски в крайморска Добруджа.

По-важните приноси от научните ми изследвания могат да бъдат обобщени по следния начин:

- I. Приноси в областта на таксономията, филогенетиката и специфичността на едноклетъчните кръвни паразити от разред *Haemosporida* (*Apicomplexa*) при птиците**

1. В резултат на таксономичните ми проучвания са описани четири нови за науката вида хемоспоридни кръвни паразити (3 от род *Haemoproteus* и 1 от род *Plasmodium*). Представени са детайлни морфологични описания на новите видове, както и данни за филогенетичните им отношения с други видове хемоспоридии посредством митохондриалния *cyt b* (цитохром *b*) ген на паразитите (публикации 4, 7 и 15).
2. В серия от експерименти е проследено развитието на инвазията на 15 генетични линии кръвни паразити от род *Plasmodium* в диви птици, канарчета и домашни патици. Установена е висока специфичност на повечето линии от подрод *Novyuella*, докато генетичните линии, спадащи към подрод *Haematobia* в повечето случаи са способни да заразяват широк кръг от гостоприемници. Смесените инфекции, с повече от една генетична линия, са причина за болшинството от случаите на висока интензивност на инвазията и смъртност при експерименталните птици (публикация 12). Експерименталните изследвания на специфичността на хемоспоридните паразити и развитието на инвазията в гостоприемника са от особена важност за оценка на възприемчивостта и резистентността на гостоприемниците към птичата малария. Натрупването на знания в тази област може да се окаже от ключова важност в близко бъдеще, когато с промяната в климата, ареалите на разпространение на редица паразити и вектори ще претърпят промени. Така паразити с ограничено тропическо разпространение могат да влязат в контакт с птици от умерените ширини и да застрашат техните популации.
3. Общо 20 *cyt b* генетични линии са свързани с вече описани морфологично видове, което улеснява видовата идентификация на паразитите при ниски нива на инвазия, често наблюдавани при дивите птици (публикации 5, 7, 10, 16, 20 и 21). Тази информация е общодостъпна в онлайн база данни MalAvi (<http://130.235.244.92/Malavi/>). Изяснено е тяхното филогенетично положение спрямо други *cyt b* линии с описана морфология или с такива открити в близки гостоприемници. Този род изследвания са с особен принос за свързване на натрупаното познание за хемоспоридните паразити с традиционните микроскопски методи за изследване и бързо развиващите се и все по-широко прилагани съвременни молекулярни методи.

II. Приноси за изясняване хранителните предпочитания и специфичност на векторите (преносителите) на хемоспоридите (*Haemosporida*) по птиците

4. Изследвани са хранителните предпочитания на шест вида куликоиди (Diptera: Ceratorogonidae), преносители на кръвни паразити от род *Haemoproteus*, към гръбначни животни посредством ДНК анализ на съдържимото в корема им. Използвани са два митохондриални гена, които показват наличие на генетичен материал от птици и бозайници, срещащи се в района на изследването в североизточна България. В половината от изследваните насекоми е установена птича ДНК, докато само в около 14% от куликоидите е намерена ДНК от бозайници. Регистрирана е ниска специфичност към гостоприемниците и голямо разнообразие на видовете птици, от които са се хранили насекомите (публикация 11).
5. С цел определяне на трансмисивния потенциал на векторите от род *Culicoides*, чрез молекулярни маркери са тествани шест вида куликоиди за наличие на кръвните паразити от разред *Haemosporida*. В три от тях са открити общо девет генетични линии кръвни паразити от род *Haemoproteus*, като броят на линиите варира в широки граници, от девет при *Culicoides alazanicus* до една при *Culicoides circumscriptus*. Специфичността на линиите паразити също варира, като някои линии са открити само в един вид вектор, а други в два или повече (публикация 6).
6. С помощта на експериментално изследване е доказано пълното развитие до спорозоити на *Haemoproteus noctuae* и *Haemoproteus syrniai* във векторите *Culicoides nubeculosus* и *Culicoides impunctatus*, които са често срещани паразити при совите (Strigiformes) (публикация 13). В допълнение, проследено е инвитро развитието на двата паразита и е описана морфологията на микро и макро гаметите, оокинетите, ооцистите и спорозоитите им. Тези вектори са широко разпространени в Европа и вероятно имат съществена роля при разпространението на *H. noctuae* и *H. syrniai* при нощните грабливи птици в умерените ширини.
7. Чрез експериментално изследване е тестван трансмисивния потенциал на комари от видовете *Culex pipiens pipiens* форма *molestus*, *Culex quinquefasciatus* и *Ochlerotatus cantans* по отношение на *Plasmodium relictum* (cyt b линия GRW04), който е често срещано маларийно заболяване по птиците в тропическите ширини

и е считано за една от причините за изчезването на няколко ендемични вида птици на Хавайските острови. Установено е пълно развитие на паразита до спорозоити в *C. pipiens* и *C. quinquefasciatus*, но в *O. cantans* паразита абортира до стадий на оокинетиди (публикация 14). Това изследване показва, че *Plasmodium relictum* (*cyt b* линия GRW04) е способен да завърши спорогония в комарите при относително ниски температури (около 19° C) и причините за слабото му разпространение по постоянните птици в умерените ширини вероятно са други.

III. Приноси в областта на поведенческите реакции на птиците във връзка с екстензивността и интензивността на инвазия с хемоспоридни паразити

8. При изследване на връзката между поведението и наличието на кръвни паразити от разред Haemosporida в птици от вида южен славей (*Luscinia megarhynchos*) е установено, че заразените птици са по-склонни да поемат риск (оценен чрез специални поведенчески експерименти), отколкото незаразените индивиди и тази зависимост има връзка с интензивността на инвазията. Резултатите са в съгласие с теориите, че това е възможен механизъм за премахване на заразените индивиди от популацията чрез увеличаване на риска от излагане на действието на хищниците, но също така е възможно и по-смелото поведение на заразените индивиди да ги излага на по-голям риск от заразяване (публикация 17).
9. За първи път е установено, че наличието на смесени инвазии на паразити от родовете *Haemoproteus* и *Plasmodium* в жълтите стърчиопашки (*Motacilla flava*) има връзка с по-плашливото изследователско поведение на птиците (публикация 18).

IV. Приноси в изследванията върху географското разпространение на хемоспоридиите по птиците и взаимоотношенията им с други кръвни паразити

10. По време на съвместно филогеографско проучване върху широко разпространения малариен паразит *P. relictum* е установена висока хетерогенност в гена кодиращ мерозоит повърхностния протеин 1 (MSP1), който е свързан с инвазионната способност на паразита. В световен мащаб е изследвано разнообразието от алели в MSP1 при три различни митохондриални *cyt b* линии - SGS1, GRW11 и GRW04. Резултатите показват, че GRW04 е еволюционно различна от SGS1 и GRW11, а от друга страна, че SGS1 и GRW11 споделят общи

MSP1 алели. Освен това при GRW04 има значителна разлика между MSP1 алелите от Евразия и Северна и Южна Америка. При SGS1, до сега считана, че се пренася както в умерените така и в тропическите райони се оказва, че има значими разлики в MSP1 алелите пренасяни в тропическа Африка и умерените ширини на Европа (публикация 9).

11. При съвместно изследване в международен колектив са установи закономерности в смесените инвазии на кръвните паразити от родовете *Haemoproteus* и *Plasmodium* и паразитните нематоди (микрофилария) по дивите птици (*Zosterops* spp.) на архипелага Нова Каледония. Всички птици с микрофилария са инвазирани и с малария (*Plasmodium* spp.), което показва, че птиците заразени с микрофилария са по-податливи към инвазиите от род *Plasmodium*. Позитивна зависимост е открита и при заразените с микрофилария птици и инвазиите от *Haemoproteus zosteropis*, но при инвазиите от *Haemoproteus killangoi* тази зависимост е отрицателна. Това проучване показва, че смесените инвазии от кръвни паразити са често срещани в дивите птици и, че комбинацията от традиционните микроскопски и молекулярни методи за диагностика заедно с подходящи статистическите методи за моделиране могат да разкрият непознати закономерности на факторите на средата и съществуването на комбинация от паразити при заболяванията на дивите животни (публикация 16).
12. Посредством прилагането на традиционни микроскопски и молекулярни методи за анализ на разнообразието и екстензивността на хемоспоридиите при възрастни и млади птици се установи каква част от паразитите са с трансмисия в района на Дуранкулашко езеро (ДЕ), зона от европейската мрежа от защитени територии Натура 2000. Резултатите от проучването показват, че 1 *cut b* линия от род *Haemoproteus* и 4 *cut b* линии от род *Plasmodium* имат трансмисия в района на ДЕ. Тези паразити са нискоспецифични и могат да заразяват птици от разнообразни видове. Предполага се, че миграционните придвижвания на птиците имат значителен принос за разпространението на тези паразити в района на ДЕ. В условията на бързо променящи се фактори на средата е от съществено значение да се предприемат дългосрочни мерки за мониторинг на паразитните организми в зоните от Натура 2000, за да могат да се предприемат адекватни мерки за опазване на птиците в случай на новопоявили се инвазии със силно изразен патогенен характер (публикация 20).

V. Приноси за изясняване ролята на хемоспоридните паразити по време на миграцията на птиците и обратно, миграционните придвижвания като фактор, имащ отношение към екстензивността и разнообразието от хемоспоридии по птиците

13. В експериментално изследване е тествано дали инвазията с малария (*Plasmodium relictum*, линия GRW04) оказва въздействие върху респираторните възможности при тръстиковите шаварчета (*Acrocephalus arundinaceus*), които са далечни мигранти, зимуващи в тропическа Африка. Оказва се, че *P. relictum* (линия GRW04) има незначително въздействие върху респираторните възможности на тръстиковото шаварче, както по време на острата, така и по време на хроничната фаза на инвазията, което може да е в следствие на дългата коеволюция в отношенията паразит-гостоприемник. От друга страна, е установено очаквано завишаване на издръжливостта при контролната и заразената група птици в течение на времето, от гнездовия (юни-юли) към миграционния (август-септември) сезон, което потвърждава незначителното въздействие на паразита по време на миграцията на птиците (публикация 23).
14. При сравнително проучване на екстензивността и разнообразието от хемоспоридни паразити при три вида врабчета – домашно (*Passer domesticus*), полско (*Passer montanus*) и испанско (*Passer hispaniolensis*) с различни миграционни стратегии, съответно постоянен, частично мигриращ и мигриращ вид. Екстензивността на опаразитяване при испанското врабче е значително по ниска от тази при домашното врабче, но разнообразието от генетични линии паразити е значително по-високо. В паразитемията (интензивността на инвазията) не са открити значими разлики при трите вида врабчета (публикация 22).

VI. Орнитологични проучвания върху методиката за прилагане на изотопния анализ за изясняване на миграцията при птиците и влияние на ветроенергийните паркове върху ареала на зимуващите гъски в крайморска Добруджа

15. В експериментално изследване, върху група от испански врабчета (*Passer hispaniolensis*) е установен темпа на нарастване на предния среден и задния нокът

при тези птици. Резултатите от това методологично изследване са представени в контекста на ползата от анализа на стабилни изотопи от нокти на птиците с цел изследване на местообитанието, диетата и миграцията им. Основен извод от изследването е, че ноктите на птиците предлагат допълнителен изотопен архив за проучване, но неговата приложимост може да варира според екологията на изследвания вид птици (публикация 8).

16. При дългогодишно изследване, целящо изясняването на въздействието на ветроенергийните паркове върху зимуващите популации на червеногушата гъска (*Branta ruficollis*) в района на крайморска Добруджа е установено, че няма индикации за изместване на вида от територията на зимуване в сравнение с данни за числеността му преди изграждането на вятърните турбини. От друга страна е установено намаляване на числеността в ятата, които са със сходна численост и използват същите територии. Предполага се, че по-ниската численост на ятата се дължи на промяна в собствеността на земеделските земи и фрагментацията в земеделските култури. Получените резултати от това изследване показват, че червеногушата гъска е вид, който е слабо повлиян от наличието на вятърни турбини в територията му на зимуване и няма данни за директен сблъсък с турбините или загуба на местообитание в следствие на тяхното изграждане (публикация 19).

4 септември 2019 г.

Подпис:

(гл. ас. д-р Димитър Димитров)