

СПРАВКА ЗА ПРИНОСИТЕ

на гл. ас. д-р Хелиана Дундарова

по конкурс за заемане на академична длъжност „доцент“ по професионално направление 4.3. Биологически науки, научна специалност „Зоология“, за нуждите на Секция "Екология на съобществата и консервационна биология", отдел "Екосистемни изследвания, екологичен риск и консервационна биология", обявен в бр. **66/06.08.2024** г. на Държавен вестник.

I. Приноси по хабилитационния труд

Тук са обединени публикации с обща тематика, на които кандидатът е водещ автор или е допринесъл еднакво с водещия автор към проучването и които определят основната насоченост на изследванията му. В хабилитационната справка са включени общо 6 статии (показател **В**, статии **1 - 6**) в издания, които са реферирани и индексирани в световноизвестни бази данни Web of Science и Scopus. Изследванията са насочени предимно към пещеролюбивите видове прилепи, техния лисавирусен товар и свързаните с тях подземни и алпийски местообитания в България и централна Азия. Те съответстват на показател „**В**“ от таблицата за съответствие с наукометричните изисквания. С цел избягване на повторение, в дадените по-долу хабилитационни приноси са включени и три публикации от показател „**Г**“.

Резултатите от изследванията могат да бъдат групирани в пет основни направления, от които да се изведат следните приноси:

1. Ролята на пещеролюбивите видове прилепи като вектор и резервоар на европейски вируси на бяс (лисавируси)

- За първи път е предложена хипотеза за разпространение на лисавируси от филогрупа II в Европа, чрез контактната зона на две зоогеографски области: Палеарктика и Етиопия. По правило пещеролюбивите видове прилепи формират големи летни и зимни колонии, в които често се наблюдава междувидово предаване на патогени. Скорошно проучване показва, че междувидовото

предаване на β -коронавируси между отделни континенти се дължи на сем. Rhinolophidae и Pteropodidae, поради близката им филогенетична връзка. Имайки предвид, че ареала на разпространение на *Rousettus aegyptiacus* и *Rhinolophus ferrumequinum* се припокрива в югоизточната зона на Палеарктика на границата с Етиопската зоогеографска област, успешното пренасяне на лисавируси от филогрупа II чрез *R. aegyptiacus* към други пещеролюбиви видове като *R. ferrumequinum* би могло да бъде вероятен сценарий поради близката им филогенетична връзка в рамките на подразред Yinpterochiroptera (показател **B**, статия 2).

- Установяването на лисавирусно натоварване при прилепите е по-ефективно (т.е. осигурява по-голям процент положителни резултати), когато пробите се събират през активния - летен сезон, а не през периода на хибернация през зимата. Това е така, защото вродените и адаптивните имунни функции са потиснати по време на хибернация. През летният сезон размера на колонията, видовото разнообразие и междувидовите контакти на прилепите, осигуряват по-големи шансове за предаване на патогени между индивидите. По същия начин, по време на активния сезон имунната система на прилепите реагира по-добре на антигенна стимулация, което увеличава производството на антитела и шансовете за откриване на серопозитивни животни в популация, в която циркулират лисавируси (показател **B**, статия 4).
- Бяха открити антитела срещу бяс в популациите на пещеролюбиви видове прилепи в България, чрез използването на два кита за ELISA (ензимно-свързан имуносорбентен анализ) 1) BioPro Rabies blocking ELISA Ab Kit (BioPro) и 2) Platelia® Rabies II Kit ad usum veterinarium (Bio-Rad). При използване на първия кит положителни резултати бяха открити в 5,36 % (6/112) от анализиранияте проби. При вторият кит бяха установени положителни резултати само в 1,08 % (1/93) от пробите. Установените данни показват, че случайният контакт с прилепи трябва да се разглежда като потенциален риск от бяс в подземните убежища. Рисковете варират значително за широката общественост, изследователите на прилепи, рехабилитаторите на диви животни и пещерняците (показател **Г**, статия 11).

2. Таксономични изследвания на прилепите в Южен Казахстан и техните ектопаразити.

- За първи път са описани женската, мъжката и протонимфата на *Spinturnix otonycterisi* Dundarova & Orlova, sp. nov. (Acari: Spinturnicidae) от екземпляри, събрани от загадъчния и рядко улавян Туркестански дългоух прилеп (*Otonycteris leucophaea*) (Severcov, 1873) в южен Казахстан. До този момент, са известни само единични находки на Туркестанския дългоух прилеп в централна Азия. В Червения списък на IUCN също липсва информация, за неговото разпространение и статуса на *Otonycteris leucophaea* е с неизвестни популационни тенденции. В допълнение, филогенетичната позиция на род *Otonycteris* все още остава неясна, което се потвърждава от изразената морфологична изолация на неговия специфичен ектопаразит, *Spinturnix otonycterisi*. Сред най-специфичните му признаци са необичайната форма на женския дорзален и мъжкия стерногенитален щит и отсъствието на дорзални опистозомни четинки наред с другите. Може да се предполага, че този паразит е разпространен в обхвата на своя гостоприемник в централна Азия. Изследването представя и ключ за определяне на видовете от род *Spinturnix*, съобщени от Казахстан (показател **В**, статия **З**).

3. Подземните местообитания като основна единица за опазване на уязвимите прилепни колонии в югозападен Киргизстан.

- За първи път извън тропиците е направена оценката на числеността на прилепите, видовото разнообразие и приоритета за опазване с помощта на индекса за уязвимост на пещерите (BCVI) в подземни местообитания в югозападен Киргизстан. Установено е, че два подземни обекта са силно застрашени и се нуждаят от опазване. В пет пещери бяха потвърдени значителни летни колонии на *Rhinolophus ferrumequinum*, *R. lepidus*, *Myotis blythii* и *M. emarginatus*. Едни от най-многочислените летни колонии на *M. blythii* в Евразия бяха открити само в две от тези пещери. За първи път е установена размножителна колония на *Rhinolophus lepidus* в Киргизстан, поради дългогодишното му погрешно

определяне като *R. hipposideros*. Резултатите показват, че природозащитният статус на *R. hipposideros* по IUCN трябва да бъде преразгледан и променен на "Почти застрашен" на "Уязвим" за региона на централна Азия (показател В, статия 5; показател Г, статия 14).

4. Екология и таксономия на прилепите в алпийската зона на Пирин планина.

- Карстовият ландшафт във високите части на Пирин, осигурява както подходящи летни и зимни убежища, така и места за комуникация и размножаване на пещерни и горски видове прилепи, въпреки суровите климатични условия. По правило с увеличаване на надморската височина разнообразието на прилепите има тенденция да намалява. Въпреки това в циркуса на Бански Суходол, бяха установени 20 вида прилепи. Това прави повече от половината от българската прилепна фауна. Записването и анализът на ултразвукови сигнали се оказаха най-добрият начин за установяване на разнообразието от ръкокрили в алпийската зона. *Vespertilio murinus* и *Tadarida teniotis* заедно съставляват повече от 60 % от всички определени ултразвукови сигнали. Значителна активност е установена за *Myotis myotis/blythii*, *Plecotus auritus*, *Eptesicus serotinus* и *E. nilssonii*. Регистрацията на последния вид представлява значителен фаунистичен успех. В допълнение, пещера № 30 разположена на 2600 м, се оказва с най-много видове прилепи и най-висока надморска височина в Европа, както и основно място за комуникация и размножаване на горски видове прилепи (показател В, статия 1; показател Г, статия 15).

5. Филогеография на прилепи видове двойници

- Направена е мултилокусна филогеография в предполагаемата симпатрична зона на *M. mystacinus* и *M. davidii*, които са видовете двойници от морфо-групата на *Myotis mystacinus*. Установено е, че *M. mystacinus* и *M. davidii* са еволюирали в алопатрия и са влезли във вторичен контакт по време на разширяването на ареала си след последния ледников период. На базата на митохондриалните и ядрените маркери се установи неравномерно популационно разпределение в зоните на

вторичен контакт: Анадола и Балканския полуостров. Това означава, че най-вероятно „местните“ популации на *M. mystacinus* са хибридизирали с разширяващите се популации на *M. davidii*, което е довело до митохондриална замяна в първия вид. Ядрени и митохондриални генотипове на *M. mystacinus* бяха идентифицирани на сравнително малко места, което предполага, че местните популации може да са били до голяма степен заменени от нахлуващите *M. davidii*. Вероятната причина за това заместване са променящите се условия на околната среда, съчетани с екологична конкуренция. Това е един възможен пример за историческа подмяна на популации, която е „уловена“ във филогеографските модели. Следователно използването на мултилокусен филогеографски подход може да изясни ролята на видовете взаимодействия при формирането на сегашните модели на разпространение на сродни таксони (показател В, статия 6).

II. Приноси извън хабилитационния труд

В справката за съответствие са включени общо 17 статии (показател Г, статии 1 - 17) с различна тематика, като основните акценти са върху ектопаразити, патогени и клетъчни култури при прилепите в Евразия, както и тяхната миграция над българската акватория на Черно море, включени в 8 статии (показател Г, статии 1 – 5, 8, 9 и 12).

1. Анализ на здравния статус на прилепите, чрез използване на числеността и разнообразието на техните ектопаразити в България и Южен Казахстан.

- Наблюдавано е най-голямо разнообразие от кърлежи, мухи и бълхи при *Rhinolophus ferrumequinum* и *Miniopterus schreibersii*. *Spinturnix myoti* е установен като доминиращият ектопаразит, събран на почти всички места и при всички видове прилепи. Не беше открита значителна разлика в паразитното натоварване или разнообразие между четирите най-разпространени вида прилепи (*Rhinolophus ferrumequinum*, *Myotis myotis*, *M. blythii* и *Miniopterus schreibersii*). Всеки от тях беше заразен средно с два екземпляра от един вид ектопаразит. Въпреки, че българските пещери се използват целогодишно от редица видове прилепи, паразитното натоварване и разнообразие остават ниски през периодите на хибернация и миграция. Смесените колонии от

пещеролюбиви видове прилепи дават възможност за междувидово предаване на иначе специфичните за вида ектопаразити (показател Г, статия 1).

- Установени са два нови вида (*Spinturnix emarginata* и *S. nobleti*) ектопаразити за територията на южен Казахстан. Разнообразието и разпространението на прилепите и техните ектопаразити в Казахстан все още са слабо проучени. Необходими са по-нататъшни изследвания на ектопаразитите на прилепите в този регион, за да се установят техните гостоприемници и разпространение (показател Г, статия 8).

2. Патогени

- Беше идентифицирано и оценено разпространението на патогенността на трипанозомите при прилепи в България, Полша и Чехия. За да се оцени възможното въздействие на трипанозомните паразити върху здравословното състояние на техните гостоприемници, бяха извършени хематологични и биохимични анализи на 56 индивида *Myotis myotis* излизащи от хибернация и 36 женски от същия вид по време летни период. Общото разпространение на двата открити вида трипанозоми (*T. dionisii* и *T. vespertilionis*) е 27 %, като разпространението им в Чехия е значително по-високо в сравнение с другите изследвани страни. Значителните разлики в разпространението на трипанозомите при прилепите в различните европейски страни изглежда са свързани с наличието или отсъствието на възможни вектори в летните убежища. Не е установено влияние на трипанозомите върху хематологичните и биохимичните параметри на кръвта при трипанозома-позитивните *Myotis myotis*. Въпреки че инфекцията с *T. dionisii* при прилепите изглежда безсимптомна, дългосрочните последици за здравето им все още трябва да бъдат проучени по-подробно (показател Г, статия 4).
- Получените количествени данни за анализ и моделиране на географското разпространение на плесента „бял нос“ причинена от *Pseudogymnoascus destructans*, показаха, че развитието на патогенния агент върху хиберниращи прилепи представлява взаимодействие на екологични и биологични фактори. За това температурата е подходящ екологичен показател за състоянието и интензивността на инфекцията. Този подход би могъл да бъде полезен за

изучаване на други температурно-зависими системи гостоприемник-патоген, като например хитридиомикозата при земноводните и пролетната виремия при рибите (показател Г, статия 5).

3. Клетъчни култури

- Макрофагите, получени от *Myotis myotis* се размножават при ниски температури, характерни за хетеротермни организми в торпор, различават се по формата и способност да се прикрепят към повърхността на култивационната плака в зависимост от температурата и са в състояние да възстановят фагоцитната си активност в рамките на няколко минути след преместване в среда с по-висока температура. Получените *in vitro* експериментални данни за клетъчна линия макрофаги показват, че макар цялостната работа на макрофагите да е потисната при по-ниски температури на култивиране, тези имунни клетки все още са способни да функционират нормално при широк диапазон на температурните условия. По този начин контролираните условия, използвани в клетъчните култури, изглежда осигуряват подходящ сурогатен модел за изучаване на морфологични и функционални клетъчни явления и симулация на зависими от телесната температура промени в хетеротермите (показател Г, статия 2).
- Получените *in vitro* данни доказват, че изследваните клетки на прилепи (включително клетки, получени от бъбреците на *Pipistrellus pipistrellus*, *Myotis myotis*, *Nycatalus noctula* и *Vespertilio murinus*; клетки, получени от черния дроб на *N. noctula* и перитонеални макрофаги и клетки, получени от нервус олфакториус на *M. myotis*) могат да оцелеят при отрицателни температури, особено с помощта на глюкоза. Въпреки, че експерименти *in vivo* с тези хетеротермни бозайници са невъзможни поради строгата защита на прилепите в Европа, екстраполацията на резултатите от клетъчни изследвания на ниво организъм подкрепя теорията, че по-високите нива на глюкоза във важни тъкани могат значително да подобрят оцеляването в периода на хибернация при изключително ниски температури. Бъдещите изследвания, при които се използват клетки, получени от прилепи, трябва да се занимават и с дозозависимата роля на други криопротективни вещества, като например урея - метаболитен отпадъчен продукт, чието съдържание е няколко пъти по-високо при

насекомоядните прилепи, отколкото при бозайниците от други трофични нива (показател Г, статия 9).

4 Прилепите по крайбрежието и българската акватория на Черно море

- За първи път беше регистриран *Pipistrellus nathusii* в българската изключителна икономическа зона на Черно море (на 100 км от брега на страната). Освен това още 6 вида: *Myotis daubentonii*, *Nyctalus leisleri*, *N. lasiopterus*, *Pipistrellus pipistrellus*, *P. nathusii* и *Eptesicus serotinus*, бяха установени над остров Света Анастасия в Бургаския залив и 4 вида прилепи *Myotis* cf. *daubentonii*, *Pipistrellus nathusii* и *Nyctalus noctula* бяха установени на реките Камчия и Шкорпиловска. *Plecotus austriacus* беше открит само в устията на река Камчия. Тези резултати показват необходимостта от организиране на дългосрочен акустичен мониторинг за определяне на миграционните движения на прилепите по българското черноморско крайбрежие и в открито море с помощта на кораби и платформи (показател Г, статии 3, 12).

III. Други изследвания

- За първи път беше открит вирус на деформираните крила (DWV) и вирус на сакбруда (SBV) в поленови зърна и пчелен хляб в Балканския регион, чрез молекулярни анализи (показател Г, статии 6).
- Проучено е митохондриалното разнообразие и филогенетичните връзки при осем български породи овце, както и генетичното разнообразие в субпопулационната структура на три български планински породи овце въз основа на генотипиране на микросателитни маркери. В допълнение е установена генетичната диференциация и популационната структура на две български породи кози (показател Г, статии 7, 10, 17).
- Направени са биоспелеологични проучвания в три пещери в планината Люра, Албания. Установено е, че най-голямо биоразнообразие се наблюдава в пещерата „Shpella e Seronik“. Тя е хоризонтална и лесно достъпна за местното население, което може да се отрази негативно на лятната колония на прилепите от вида *Rhinolophus euryale* (показател Г, статия 13).

- Направено е сравнение на наличните криопротектори за съхранение на сперматозоиди от сърна (*Capreolus capreolus*), благороден елен (*Cervus elaphus*) и елен лопатар (*Dama dama*) в Чехия. Потвърди се, че всички изследвани криопротективни разтворители могат да се използват за дългосрочно съхранение на сперма от свободно живеещи копитни животни от семейство Cervidae (показател Г, статия 16).