



АНОТАЦИИ НА МАТЕРИАЛИТЕ ПО ЧЛ. 65. ОТ ПРАСПУ

на гл. ас. д-р Весела Илиева Митковска,
катедра „Зоология“, ПУ „П. Хилендарски“

във връзка с участие в конкурс за заемане на академичната длъжност
„доцент“, обявен в ДВ бр. 98/19.11.2024 г., по област на висше образование:
4. Природни науки, математика и информатика, професионално направление:
4.3. Биологически науки (Зоология – зоология на гръбначните)

**I. Съответствие с условията за заемане на академична длъжност
„доцент“ по чл. 65. (1) от Правилника за развитие на академичния състав
на ПУ „П. Хилендарски“, съгласно националните и допълнителни
факултетни изисквания.**

От 2003 г. съм член на катедра „Зоология“, в която съм работила на длъжност биолог и асистент до защитата на дисертационния ми труд. Придобих докторска степен по научна специалност „Зоология“ през 2014 година, за която представям оригинал и копия на дипломата към съответните комплекти с документи за конкурса. През 2015 г. заех академичната длъжност „главен асистент“ по Зоология на гръбначните. Общият ми стаж като преподавател на основен трудов договор в университета е 13 години и 9 месеца, за което представям удостоверение от отдел „УЧР“ на ПУ „Паисий Хилендарски“.

За участие в конкурса за заемане на академичната длъжност „доцент“ по научна специалност „Зоология“ представям общо 22 научни труда, които не са използвани в процедурите за придобиване на образователната и научна степен „доктор“ и за заемане на академичната длъжност „главен асистент“. В съответствие с минималните национални изисквания на ЗРАСРБ и Правилника за прилагане на ЗРАСРБ приложените научни трудове се класифицират както следва:

- 21 научни публикации, всички в научни списания, класифицирани по квартали и реферирани и индексирани в световноизвестни бази данни с научна информация (Web of Science и Scopus), от които:
 - научни трудове към показател В4 – 6 бр. (Q1 – 2 бр.; Q2 – 2 бр.; Q3 – 2 бр.)
 - научни трудове към показател Г7 – 15 бр. (Q1 – 2 бр.; Q3 – 7 бр.; Q4 – 6 бр.).
- 1 колективна монография (Показател Г8);
- 50 цитирания в научни издания, реферирани и индексирани в световноизвестни бази данни с научна информация (Web of Science и Scopus).

В съответствие с допълнителните изисквания на Биологически факултет представям още:

- 2 учебни помагала (и двете в съавторство);
- 7 успешно защитили дипломанти по съответното направление на конкурса;
- участие в 11 научни проекта и програми;
- участие в административната дейност на факултета – в комисии по акредитационни процедури, за качество на обучението и др.

Всички представени научни публикации са в съавторство и са на английски език, като генерират общ **импакт фактор: 28.361** и общ **SJR: 8.557**. В 9 от публикациите съм водещ автор.

В Таблица 1 посочвам покриването на минималните национални изисквания с брой точки по групи наукометрични показатели за заемането на академичната длъжност „доцент“ в професионално направление 4.3 Биологически науки и изпълнението им. Подробното им описание и изпълнение са представени в „Справка за съответствие с минималните национални и допълнителните факултетни изисквания“, допълнени със съответните справки и служебни бележки, приложени в комплектите за рецензиране.

Таблица 1. Обобщена справка за съответствие на точките на гл. ас. д-р Весела Митковска с минималните наукометрични критерии за заемане на академична длъжност „доцент“ по професионално направление 4.3. Биологически науки (Зоология – зоология на гръбначните).

Група показатели	Съдържание	Минимум точки за доцент	Точки на кандидата
А	Показател 1	50	50
В	Показатели 3 или 4	100	120 (от показател 4)
Г	Сума от показателите от 5 до 10	200	242 (от показатели 7 и 8)
Д	Сума от точките в Показател 11	50	100
	ОБЩ БРОЙ ТОЧКИ:	400	512

II. АНОТАЦИИ НА НАУЧНИТЕ ТРУДОВЕ

1. Показател В.4. Хабилизационен труд – научни публикации в издания, които са реферирани и индексирани в световноизвестни бази данни с научна информация (Web of Science и Scopus) – 6 публикации.

№ В.4.1. Mitkovska, V., Dimitrov, H., & Chassovnikarova, T. (2020). Chronic exposure to lead and cadmium pollution results in genomic instability in a model biomonitor species (*Apodemus flavicollis* Melchior, 1834). *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 194, 110413. [Q1 (SJR₂₀₂₀=1.377) / IF₂₀₂₀=6.291] <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2020.110413>

РЕЗЮМЕ: Полиметалният прах е промишлен замърсител, имащ все още съществено влияние в замърсяването на средата около оловно-цинковите производства, въпреки използването на филтри и оборудване за възстановяване, които намаляват емисиите от замърсители. Околните райони остават трайно замърсени с тежки метали поради дългосрочното им пренасяне по хранителните вериги. В настоящия труд оценяваме мутагенния потенциал на средата около оловно-цинковата топилна фабрика близо до Пловдив (България), район, замърсяван с тежки метали от 60 години. Целта на изследването е оценка на геномния отговор на биомониторния вид жълтогърла горска мишка (*A. flavicollis*), като са изследвани три места на пробовземане по протежение на градиента на замърсяване. Като отрицателна контрола са използвани мишки от Природен парк Странджа. Чрез атомно-абсорбционна спектроскопия е установена степента на биоакмулиране на два тежки метала, олово (Pb) и кадмий (Cd), в чернодробните тъкани на изследваните животни. Генетичните промени, резултат от хронично излагане на тежки метали, бяха оценени в различни популации кръвни клетки, като се използваха два независими метода: микроядрен тест беше приложен за оценка на кластогенните и анеугенните промени в еритроцитите, докато кометният анализ беше използван за оценка на нестабилността на ДНК, в резултат от едно- и двуверижни скъсвания и алкално-лабилни места в ядрата на левкоцитите. Наблюдавахме повишени нива на Pb и Cd в черния дроб на мишки от засегнатата зона: средната концентрация на Pb ($21.38 \pm 8.77 \mu\text{g/g}$) беше два пъти по-висока от най-ниските наблюдавани нива на неблагоприятен ефект (LOAEL), докато средната концентрация на Cd ($13.95 \pm 9.79 \mu\text{g/g}$) беше изключително близка до тези нива. Средните нива на Pb и Cd в черния дроб, получени от мишки от засегнатата зона, са съответно 31 пъти и 63 пъти по-високи от нивата, измерени при мишки от контролната зона. Средната честота на микроядрата е значително по-висока (четири пъти) от наблюдаваната при контролните животни. Освен това параметрите, измерени чрез кометния анализ, % ДНК на опашката, дължина на опашката и момент на опашката, бяха значително по-високи в зоната на най-силно замърсяване, което показва степента на генетична нестабилност, причинена от излагане на тежки метали. В заключение, това изследване показва, че въпреки отчетеното намаление на емисиите на олово и кадмий в България през последните години, индивидите от *A. flavicollis*, обитаващи райони, подложени на дълготрайно замърсяване, показват значителни признаци на увреждане на ДНК.

№ B.4.2. **Mitkovska, V.**, Dimitrov, H., Popgeorgiev, G., & Chassovnikarova, T. (2024). Nuclear abnormalities and DNA damage indicate different genotoxic stress responses of marsh frogs (*Pelophylax ridibundus*, Pallas 1771) to industrial and agricultural water pollution in South Bulgaria. *Environmental Science and Pollution Research*, 1-19. [Q1₂₀₂₃ (SJ_{R2023}=1.006) / IF₂₀₂₂=5.8] <https://doi.org/10.1007/s11356-024-35462-5>

РЕЗЮМЕ: Земноводните са непрекъснато изложени на замърсители и антропогенни стресови фактори в естествените им местообитания, което представлява значително предизвикателство за тяхното оцеляване. Това проучване имаше за цел да определи количествено степента на увреждане на ДНК, причинено от хронично индустриално и агрохимично замърсяване на повърхностните води в естествени популации на голямата водна жаба (*Pelophylax ridibundus*). Наблюдаваните генотоксични ефекти върху ДНК на водната жаба, проявяващи се като аномалии в ядрата на еритроцитите, микроядра и ДНК увреждане, демонстрират ясна причинно-следствена връзка с параметрите на повърхностните води, тежките метали, металоидите и пестицидите. Най-честите наблюдавани ядрени аномалии, като врязани ядра, мехурчести ядра и ядрени пъпки, са показателни за наличната хромозомна нестабилност. Значителната корелация между замърсяването с кадмий, олово и мед и повишената честота на фрагментиране на ДНК при водните жаби от промишления район показва, че замърсяването с тежки метали има по-висок генотоксичен потенциал от замърсяването с пестициди. Тези открития подчертават уязвимостта на земноводните, обитаващи замърсени с тежки метали влажни зони, към генотоксичен стрес поради по-ниската им толерантност към генотоксините в околната среда. Следователно, използването на *in situ* анализи за откриване на ядрени аномалии на еритроцитите и ДНК увреждане при *P. ridibundus* може да служи като надежден индикатор за качеството на околната среда и да осигури ранно откриване на антропогенно замърсяване.

№ B.4.3. **Mitkovska, V.**, & Chassovnikarova, T. (2020). Chlorpyrifos levels within permitted limits induce nuclear abnormalities and DNA damage in the erythrocytes of the common carp. *Environmental Science and Pollution Research*, 27(7), 7166-7176. [Q2 (SJ_{R2020}=0.845) / IF₂₀₂₀=4.223] <http://doi.org/10.1007/s11356-019-07408-9>

РЕЗЮМЕ: Органофосфорният пестицид хлорпирифос (CPF) е определен като приоритетен замърсител в повърхностните сладки води съгласно Директива 2013/39/ЕС на Европейския парламент. Фокусът на това проучване бе да се оценят потенциалните цитотоксични и генотоксични ефекти на допустимите нива на CPF върху младите индивиди на обикновения шаран. Установихме, че експозицията при ниски концентрации на CPF не предизвиква повишени нива на микроядра, но значително увеличава честотата на общите ядрени аномалии (NAs) пропорционално на дозата и времето; бяха отчетени врязани, мехурчести, лобовидни ядра и ядра с форма на осморка, ядрени пъпки, ядрени мостове и двуядрени клетки. Наблюдавани са също намалени честоти на полихроматични еритроцити (PCE), както и ДНК увреждане след кометен анализ, което потвърждава цитотоксичните и генотоксичните ефекти на CPF. Като цяло, тези данни (1) демонстрират, че CPF е токсичен дори при пределно допустими нива, притежаващ значителен генотоксичен и цитотоксичен потенциал в периферните еритроцити на експонирани риби и (2) валидират оценката на

NAs, PCEs и ефективността на кометния анализ като чувствителни биомаркери за ранно откриване при замърсяване с хлорпирифос. Тези констатации могат да бъдат приложени в посока за оценка на риска за околната среда и в програмите за биомониторинг.

№ B.4.4. Christova, I., Plyusnina, A., Gladnishka, T., Kalvatchev, N., Trifonova, I., Dimitrov, H., **Mitkovska, V.**, Mohareb, E. & Plyusnin, A. (2015). Detection of Dobrava hantavirus RNA in *Apodemus* mice in Bulgaria. *Journal of Medical Virology*, 87(2), 263-268. [Q2 (SJР₂₀₁₅=1.033) / IF₂₀₁₅=1.998] <https://doi.org/10.1002/jmv.24033>

РЕЗЮМЕ: Няколко хантавируса (вирус Dobrava-Belgrade (DOBV), вирус Puumala, Saaremaa, Sochi и Seoul) причиняват хеморагична треска с бъбречен синдром (HFRS) в Европа. Въпреки че HFRS е ендемичен за България, геномни секвенции на хантавируси никога не са открити при диви гризачи. С цел идентифициране на потенциални резервоари при гризачите, през 2011–2012 г. бяха уловени общо 691 гризача от три ендемични района в България и скринирани чрез TaqMan RT-PCR за откриване на хантавирусна геномна РНК. Частични малки (S) и/или големи (L)-сегментни последователности бяха изолирани от шест индивида от род *Apodemus*: пет от вида *A. flavicollis* и една *A. agrarius*. Филогенетичният анализ разкрива, че всички изолирани последователности принадлежат на DOBV вируса. Във филогенетичните дървета новите български хантавирусни последователности са групирани заедно с последователности от установени преди това DOBV варианти, възстановени от български пациенти с HFRS, а също и с варианти, открити в диви гризачи, уловени в Словения, Гърция и Словакия. Една от новите български DOBV S-последователности от *A. agrarius* е тясно свързана с DOBV последователностите, изолирани от *A. flavicollis*, което предполага разпространение на DOBV от неговия естествен гостоприемник към мишки от вида *A. agrarius*. Резултатите от това изследване потвърждават разпространението на DOBV при дивите гризачи в България. Сложността на епидемиологичната ситуация на Балканите изисква по-нататъшни изследвания на хантавирусите при гризачи гостоприемници и случаи на HFRS при хора.

№ B.4.5. **Mitkovska, V.**, Dimitrov, H., & Chassovnikarova, T. (2017). *In vivo* genotoxicity and cytotoxicity assessment of allowable concentrations of nickel and lead: Comet assay and nuclear abnormalities in acridine orange stained erythrocytes of common carp (*Cyprinus carpio* L.). *Acta Zoologica Bulgarica, Suppl. 8*, 47-56. [Q3 (SJР₂₀₁₇=0.217) / IF₂₀₁₇=0.369] <https://www.acta-zoologica-bulgarica.eu/downloads/acta-zoologica-bulgarica/2017/supplement-8-47-56.pdf>

РЕЗЮМЕ: Целта на настоящото проучване бе да се оцени потенциалната генотоксичност *in vivo* на концентрации на никел и олово, считани за безопасни от регулаторните агенции. За оценка на техният генотоксичен и цитотоксичен потенциал, млади екземпляри от обикновения шаран (*Cyprinus carpio* L.) бяха изложени в продължение на 72 часа в лабораторни условия на различни концентрации на Ni и Pb, считани за средно-годишни съгласно Директива 2008/105/ЕО. Беше приложен алкален кометен анализ на еритроцити от периферна кръв. Кръвни натривки, оцветени с акридин оранж, бяха тествани за наличие на микроядра и други ядрени аномалии. Параметрите % ДНК на опашката и опашен момент показват статистически значимо генотоксично увреждане за двата метала при 100%, 75% и

50% от пределно допустимите концентрации, в сравнение с контролите. Повишени нива на микроядра не се наблюдават в еритроцитите на шарана, но се установи значително увеличение на други ядрени аномалии – назъбени, мехурчести, лобовидни, осеобразни ядра и ядрени пъпки. Това доказва наличието на очевидни цитотоксични ефекти и потвърждава използването на ядрените аномалии като ефективен биомаркер. Получените резултати потвърждават генотоксичния и цитотоксичния ефект на Ni и Pb дори при ниски допустими нива и илюстрират необходимостта от допълнителни изследвания за намаляване на допустимите концентрации на тежки метали във водните басейни.

№ B.4.6. **Mitkovska, V.**, Dimitrov, H., Kunchev, A., & Chassovnikarova, T. (2020). Micronucleus frequency in rodents with blood parasites. *Acta Zoologica Bulgarica, Suppl. 15*, 33-41. [Q3 (SJ_{R2020}=0.237) / IF₂₀₂₀=0.448] https://www.acta-zoologica-bulgarica.eu/Suppl_15_07.pdf

РЕЗЮМЕ: Някои паразити предизвикват генотоксичен ефект и индуцират микроядра в клетките на техните гризачи гостоприемници. Гризачите често се използват за оценка на замърсяването на околната среда, следователно е изключително важно да се знае дали генетичното увреждане се дължи на ксенобиотици от околната среда, или е резултат от инфекция с паразити. Целта на това проучване бе да се оцени потенциалната връзка между кръвните паразити и микроядрените честоти в еритроцитите на популации от диви гризачи от антропогенно засегнати и фонови райони. Изследвани са индивиди от Източносредиземноморска домашна мишка *Mus macedonicus* (Petrov & Ružić, 1983), жълтогърла горска мишка *Apodemus flavicollis* (Melchior, 1834) и обикновена полска мишка *Microtus arvalis* (Pallas, 1778) от замърсен с тежки метали райони, и индивиди от вида полска мишка *Apodemus agrarius* (Pallas, 1771) и *A. flavicollis* от район със слабо антропогенно въздействие. Във всички популации на *Apodemus* регистрирахме неидентифицирани бактериални инфекции с *Bartonella* spp., в *M. arvalis* – инфекции с *Babesia microti*-подобна пироплазма и *Bartonella* sp., а в *M. macedonicus* – инфекция с трипанозоми (*Trypanosoma musculi*) и *Bartonella* sp. Не е доказана статистически значима разлика ($p \geq 0.05$) между средната честота на микроядрата на заразените и незаразените животни, обитаващи както замърсени, така и незамярени региони. Резултатите показват, че наблюдаваните кръвни паразити не могат да бъдат свързани с индуцирането на микроядра в еритроцитите на изследваните гризачи. Това дава основание за включване на гризачи с протозойни и бактериални инфекции в изследвания за биомониторинг за оценка на генотоксичността в замърсени райони.

2. Показател Г.7. – Научна публикация в издания, които са реферирани и индексирани в световноизвестни бази данни с научна информация (Web of Science и Scopus), извън хабилитационния труд – 15 публикации.

№ Г.7.1. Mitkovska, V., Chassovnikarova, T., Vasileva, P., Stoyanov, I., Petrov, P., Petkov, N., & Ivanova, E.N. (2025). Sperm comet assay as a novel tool in assessing genotoxicity in high-mortality honey bee (*Apis mellifera*) populations. *Apidologie*, 56, 13. [Q1 (SJR₂₀₂₃=0.727) / IF₂₀₂₃=2.4] <https://doi.org/10.1007/s13592-024-01137-w>

РЕЗЮМЕ: Наблюдаваната увеличена смъртност сред колонии на медоносните пчели е причина за безпокойство. Оценката на увреждането на ДНК в репродуктивните клетки е от решаващо значение за оцеляването на вида. Това проучване има за цел да оцени потенциала на спермалния кометен анализ като способ за *in situ* оценка на генотоксичното въздействие върху популациите на медоносните пчели с установени високи нива на смъртност. Предходни проучвания идентифицираха наличието на остатъци от пестициди в пчелите и хранителните запаси в кошерите, което показва наличието на генотоксични агенти в изследваните райони. Стойностите на параметрите на кометния анализ, а именно интензитет на опашката (TI%) и опашен момент на Олив (ОТМ, μm), отчетени в сперматозоидите, се повишават паралелно с увеличаване на смъртността на изследваните популации медоносни пчели, предоставяйки доказателства за значително увреждане на ДНК, възникващо по време на сперматогенезата. Проведеният алкален кометен анализ на хемолимфа потвърди генотоксичните ефекти, наблюдавани при спермалния кометен анализ. Настоящото проучване демонстрира за първи път, че спермалния кометен анализ може да служи като надежден нов метод за оценка на генотоксичността в *A. mellifera*.

№ Г.7.2. Georgieva, E., Antal, L., Stoyanova, S., Arnaudova, D., Velcheva, I., Iliev, I., Vasileva, T., Bivolarski, V., Mitkovska, V., Chassovnikarova, T., Todorova, B., Uzochukwubg, I.E., Nyeste, K. & Yancheva, V. (2022). Biomarkers for pollution in caged mussels from three reservoirs in Bulgaria: A pilot study. *Heliyon*, 8(3). p.e09069. eISSN 2405-8440. [Q1 (SJR₂₀₂₂=0.609) / IF₂₀₂₂=4.0] <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2022.e09069>

РЕЗЮМЕ: Концепцията за наблюдение на околната среда чрез използването на миди беше предложена за първи път през 1975 г., като по-късно беше приета от няколко международни програми за мониторинг по целия свят. За първи път бе извършен полеви експеримент с миди транспланти в три резервоара в България, за да се проследят вредните ефекти от субхроничното замърсяване (30 дни) с метали, макроелементи, както и някои органични токсиканти, като полибромирани дифенилови етери и хлорирани парафини. Бяха изследвани биометричните показатели, хистохимичните лезии в хрилете, биохимичните промени в храносмилателните жлези (антиоксидантни защитни ензими, като каталаза, глутатион редуктаза и глутатион пероксидаза; метаболитни ензими, като лактат дехидрогеназа, аланин аминотрансфераза и аспартат аминотрансфераза, и невротрансмитера холинестераза), както и увреждането на ДНК в китайската блатна мида, *Sinanodonta woodiana* (Lea, 1834) в язовирите Студен кладенец и Жребчево. Бе установена

значителна корелация между нивата на замърсяване, докладвани по-рано, и биомаркерните изменения. Установено е, че двата тествани органа са податливи на оксидативен стрес, предизвикан от замърсяване. Различните видове и нива на замърсяване на водата в изследваните резервоари корелират с установените отклонения в избраните биомаркери в мидените транспланти, в сравнение с референтната група.

№ Г.7.3. Chassovnikarova, T., Atanasov, N., Christova, I., Dimitrov, H., **Mitkovska, V.**, Trifonova, I., Gladnishka, T., Kalvatchev, N., & Mohareb, E. (2013). Hantavirus infections in host populations of Yellow-necked and Field mice (Rodentia: Muridae) in South Bulgaria. *Acta Zoologica Bulgarica*, 65(3), 397-402. [Q3 (SJ_{R2013}=0.273) / IF₂₀₁₃=0.357] <https://www.acta-zoologica-bulgarica.eu/downloads/acta-zoologica-bulgarica/2013/65-3-397-402.pdf>

РЕЗЮМЕ: Горските и полските мишки от род *Apodemus* са естествени резервоари на хантавируси: типове вируси Dobrava, Puumala и Saarema. През последните няколко години се съобщава за случаи на хеморагична треска с бъбречен синдром от различни региони на България, но факторите, влияещи върху предаването на хантавируса в популациите гостоприемници, не са добре проучени. Използвани са чувствителни молекулярно-генетични методи (real time PCR) за доказване на хантавируси в горски и полски мишки, уловени в ендемичен за вируса район в Южна България. Типът на вируса Добрава (DOBV) е генетично определен в два вида *Apodemus*: *Apodemus flavicollis* (Melchior, 1834) и *Apodemus agrarius* (Pallas, 1771). Общото разпространение на DOBV е 7.7% за *A. flavicollis* и 1.43% за *A. agrarius*. Бяха оценени редица фактори, влияещи върху асоциирането на инфекции с DOBV при жълтогърлата горска и полската мишка. Логистичният регресионен модел показва четири фактора: вид, възраст, пол и репродуктивен статус. Този анализ подчертава значението на популационната демография за успешната циркулация на хантавирусите. За успешната циркулацията на DOBV от съществено значение са презимувалите, репродуктивно активни мъжки жълтогърли мишки и популационната стабилност на гостоприемниците в Южна България.

№ Г.7.4. Dimitrov, H., **Mitkovska, V.**, Koleva, P., & Chassovnikarova, T. (2015). Genotoxicity biomonitoring of anthropogenic pollution in rice fields using the micronucleus test in striped field mouse (*Apodemus agrarius* Pallas, 1771). *Problems of Infectious and Parasitic Diseases*, 43(2), 36-42. [Q3 (SJ_{R2015}=0.188)] https://www.researchgate.net/publication/298712693_Genotoxicity_biomonitoring_of_anthropogenic_pollution_in_rice_fields_using_the_micronucleus_test_in_striped_field_mouse_Apodemus_agrarius_pallas_1771#fullTextFileContent

РЕЗЮМЕ: Зоомониторингът с популации на дребни бозайници, изложени на потенциални мутагени, може да послужи като система за ранно откриване на започнали процеси на клетъчна дисрегулация. Полската мишка (*Apodemus agrarius* Pallas, 1771) е зоомониторен вид, подходящ за генотоксикологични изследвания, особено поради широкото си разпространение, г-тип репродуктивна стратегия, сравнително малък индивидуален участък, висока позиция в трофичната верига и интензивен метаболизъм. Настоящото

изследване е проведено в различно замърсени райони. Полските мишки са уловени в оризища, разположени близо до Пловдив (Южна България) и във фоновия район на природен Парк Странджа (Югоизточна България). Оризовите полета са изложени на различни антропогенни замърсители като тежки метали и полициклични ароматни въглеводороди, поради близката магистрала и използването на различни торове в земеделските практики. Резултатите показват, че антропогенното замърсяване в оризовите полета предизвиква увреждане на ДНК и хромозомите в клетките на полската мишка, което е ясно демонстрирано чрез проведения микроядрен тест. Средната микроядрена честота на индивидите от оризищата е значително по-висока от тази на индивидите от фоновия район на Природен Парк Странджа. Това доказва наличието на гено- и цитотоксичен ефект в района на оризищата. Микроядреният анализ не показва разлики по пол. Статистически значимите разлики в средните честоти на микроядрата при полските мишки, обитаващи импактния и фоновия район, демонстрират добрата геномна чувствителност на вида при антропогенно замърсяване. Получените резултати потвърждават значението на *Apodemus agrarius* като зоомониторен вид за биомониторингови изследвания в характерните за вида местообитания – влажни зони.

№ Г.7.5. Dimitrov, H., **Mitkovska, V.**, & Chassovnikarova, T. (2015). *Trypanosoma* infection in Mediterranean mouse (*Mus macedonicus* Petrov & Ružić, 1983) in Bulgaria. *Problems of Infectious and Parasitic Diseases*, 43(2), 26-29. [Q3 (SJR₂₀₁₅=0.188)]
https://www.researchgate.net/publication/298712963_Trypanosoma_infection_in_mediterranean_mouse_Mus_macedonicus_Petrov_Ruzic_1983_in_Bulgaria#fullTextFileContent

РЕЗЮМЕ: *Trypanosoma musculi* е непатогенна стеркорариева трипанозома, която е инфекциозна само за мишки. Настоящото изследване разкрива инфекция с *Trypanosoma* при Източносредиземноморската домашна мишка (*Mus macedonicus* Petrov & Ružić, 1983) от оризовите полета в Пловдивска област, България. Средното установено разпространение на паразита в *Mus macedonicus* е 17.1%, с по-висок процент на инфекция при мъжките (21.1%) в сравнение с женските (12.5%) видове. Всички трипомастиготи показват морфологични характеристики, типични за подрода *Herpetosoma* (раздел Stercoraria), към който принадлежат *T. lewisi*-подобните паразити. Тези характеристики включват: размер от приблизително $25 \pm 5 \mu\text{m}$, свободен флагелум, характерна „С форма“, видима вълнообразна мембрана, субтерминален кинетопласт с овална форма и ядро в предния край. Характерната морфология и наличието на инфекция само при индивиди от *Mus macedonicus* ни позволяват да направим обосновано предположение, че наблюдаваният паразит е *Trypanosoma musculi*. Използването на молекулярни методи в бъдещи изследвания биха могли да потвърдят регистрирания вид.

№ Г.7.6. Chassovnikarova, T., Atanasov, N., Dimitrov, H., & **Mitkovska, V.** (2017). Karyotypic characterization of the Harvest mouse *Micromys minutus* (Pallas, 1771) (Rodentia: Muridae) from Upper Thracian Valley, South Bulgaria. *Acta Zoologica Bulgarica, Suppl. 8*, 57-60. [Q3 (SJR₂₀₁₇=0.217) / IF₂₀₁₇=0.369] <https://www.acta-zoologica-bulgarica.eu/downloads/acta-zoologica-bulgarica/2017/supplement-8-57-60.pdf>

РЕЗЮМЕ: Проучването представя първите цитогенетични изследвания на оризищната мишка *Micromys minutus* (Pallas, 1771) в България. Установеният диплоиден хромозомен набор е $2n = 68$. Автозомите се състоят от 1 двойка големи и 1 двойка малки метацентрични хромозоми, 2 двойки средни по размер субметацентрични хромозоми, 28 двойки субтелоцентрични хромозоми и 1 двойка акроцентрични хромозоми. X хромозомата е най-голямата субтелоцентрична хромозома, докато Y хромозомата е най-малката акроцентрична хромозома. FN на хромозомите е 133, а NFa – 130. Всички хромозоми, с изключение на най-голямата метацентрична двойка, демонстрират добре изразени хетерохроматинови блокове в цетромерните области, които се простират и в късите рамена на повечето двураменни хромозоми. Центромерен хетерохроматин бе установен и в X хромозомата, докато Y хромозомата изглежда е изцяло хетерохроматична.

№ Г.7.7. Vlasseva, A., Chassovnikarova, T., **Mitkovska, V.**, & Dimitrov, H. (2020). Compensatory increase of the reproductive capacity of the red fox *Vulpes vulpes* (L., 1758) in sympatric coexistence with the golden jackal *Canis aureus* L., 1758. *Acta Zoologica Bulgarica, Suppl. 15*, 217-222. [Q3 (SJR₂₀₂₀=0.237) / IF₂₀₂₀=0.448] https://www.acta-zoologica-bulgarica.eu/Suppl_15_39.pdf

РЕЗЮМЕ: Основните репродуктивни параметри на най-разпространените мезохищници в България – златния чакал и червената лисица, са изследвани в два района (Тракийската низина и Южна Добруджа), където тези два вида се срещат в симпатрия. И при двата вида бяха изчислени репродуктивната активност и средната възраст за първо раждане. Основните репродуктивни характеристики, като брутен репродуктивен коефициент, нетен репродуктивен коефициент, генерационно време и вътрешен темп на нарастване на популацията бяха изчислени при женските индивиди. Резултатите показаха, че популациите на червената лисица и златния чакал в България нарастват. Тестикуларното тегло (g) на мъжките индивиди бе измерено и бе изчислен гонадосоматичният индекс. Процентът на размножаване на изследваните женски екземпляри е 41% за чакалите и 65% за червените лисици. Максималният брой плацентарни петна при чакалите е 9, а при лисиците – 8. Минималният брой плацентарни петна при чакала е 2, а при лисиците – 4. Съотношението между нетната скорост на възпроизводство и времето между две последователни успешни поколения е по-голямо при лисицата (40.98), отколкото при чакала (25.16). Гонадосоматичният индекс е по-нисък при чакала (0.08), отколкото при лисицата (0.19), което е критерий за по-висока степен на моногамия при чакала. Изследваните репродуктивни параметри при двата вида показват компенсаторно увеличение при репродуктивния капацитет на червената лисица в условията на симпатрия със златистите чакали.

№ Г.7.8. Dimitrov, H., Kunchev, A., Markov, G., Chassovnikarova, T., & **Mitkovska, V.** (2020). Haematology data of Striped mouse *Apodemus agrarius* (Pallas, 1771) (Rodentia: Muridae) from Strandzha Mountains, SE Bulgaria: Indicators of environmental status. *Acta Zoologica Bulgarica, Suppl. 15*, 199-203. [Q3 (SJR₂₀₂₀= 0.237) / IF₂₀₂₀=0.448] https://www.acta-zoologica-bulgarica.eu/Suppl_15_36.pdf

РЕЗЮМЕ: Хематологичните параметри са важни индикатори за състоянието както на индивидите, така и на популациите на дивите дребни бозайници, които са засегнати от токсични вещества, болести и други природни или антропогенни вредни фактори. За първи път отчитаме стойностите на следните хематологични показатели: брой еритроцити [10¹²/l]; HGB – хемоглобин [g/l]; HCT – хематокрит [%]; MCV – среден корпускуларен обем на еритроцитите [fl]; MCH – среден корпускуларен хемоглобин на еритроцитите [pg]; MCHC – средна концентрация на корпускуларен хемоглобин [g/l]; WBC – брой левкоцити [10⁹/l]; LYM – брой лимфоцити [10⁹/l]; MID – брой средни клетки [10⁹/l]; GRA – брой гранулоцити [10⁹/l]; LY – лимфоцити, измерени като процент от общите левкоцити [%]; MI – средни клетки, измерени като процент от общите левкоцити [%]; GR – гранулоцити, измерени като процент от общите левкоцити [%]; PLT – брой тромбоцити [10⁹/l]; MPV – обем на тромбоцитите [fl]. Тези параметри са изследвани при възрастни мъжки и женски индивиди на вида полска мишка *Apodemus agrarius*, уловени от Странджа планина в България. Статистическият анализ на установените хематологични показатели определи базовата норма на вариация на стойностите, описани с $\pm 95\%$ доверителен интервал. Могат да се използват за оценка на физиологичното състояние на индивидите от полската мишка като биоиндикаторни маркери за оценка на качеството на околната среда.

№ Г.7.9. Koteva, E., Dimitrov, H., **Mitkovska, V.**, & Chassovnikarova, T. (2020). Rodent control in urban industrial areas: from research to action. *Acta Zoologica Bulgarica, Suppl. 15*, 211-216. [Q3 (SJR₂₀₂₀=0.237) / IF₂₀₂₀=0.448] https://www.acta-zoologica-bulgarica.eu/Suppl_15_38.pdf

РЕЗЮМЕ: Мерките за контрол на вредителите имат важно значение поради нарастващата индустриализация и урбанизация, водещи до увеличаващи се проблеми с вредителите. Използването на родентициди е често срещан метод за борба с гризачите, но консумацията на примамка зависи от редица фактори на околната среда. Целта на настоящото изследване бе да се проследи ефективността на контрола на гризачите в обекти от различни хранителни производства, използващи родентицидни примамки, както и да се определят факторите, пряко влияещи на консумацията им. В град Пловдив и региона, бяха наблюдавани 89 станции за примамки в различни промишлени обекти: стъкларски завод, завод за кроасани и мандра. Консумацията на примамката е изследвана с помощта на метода за електронен мониторинг PestScan. Резултатите показаха, че фактори като вида на производството, конструкцията и техническото изпълнение на сградите, местоположението на обекта и вида и формулировката на използвания родентицид влияят върху периодичността и интензивността на обработката с родентициди. Дефинирането на факторите на средата, влияещи върху консумацията на родентицидни примамки, е съществено за планирането на контрола на вредителите в конкретни местообитания.

№ Г.7.10. Dimitrov, H., Mitkovska, V., Tzekov, V., & Chassovnikarova, T. (2016). Bioaccumulation of cadmium and lead in rodent species from the region of lead-zinc smelting factory – Plovdiv (South Bulgaria). *Ecologia Balkanica*, 8(1), 9-18. [Q4 (SJR₂₀₁₆=0.123) / WoS] http://web.uni-plovdiv.bg/mollov/EB/2016_vol8_iss1/009-018_eb.16115.pdf

РЕЗЮМЕ: Оценена е степента на биоаккумуляция на токсичните метали, Cd и Pb, в черния дроб на жълтогърла горска мишка (*Apodemus flavicollis* Melchior, 1834), Източносредиземноморска домашна мишка (*Mus macedonicus* Petrov & Ružić, 1983) и обикновена полевка (*Microtus arvalis* Pallas, 1778) в района на Пловдив (Южна България), в който основният източник на замърсяване е оловно-цинков завод. Гризачите са улавяни в три различни места, разположени по протежение на градиента на замърсяване. Като фонев район е използван незамърсен район, Природен Парк „Странджа“. Анализът MANOVA разкри значими разлики според вида ($F=9.61$, $p=0.003$), местообитанието ($F=24.12$, $p=0.0001$) и силата на експозицията на токсиканти ($F=3.79$, $P=0.013$). Установено е значително увеличение на биоакмулирането на Pb и Cd по протежение на градиента на замърсяване. Средните концентрации на Cd и Pb са най-високи в мястото, което е най-близо до завода, и намаляват с увеличаване на разстоянието от тях. Биоаккумуляцията на Pb е достоверно най-висока при индивидите на жълтогърла горска мишка, следвани от Източносредиземноморската домашна мишка и обикновената полевка, но обикновените полевки натрупват повече Cd в сравнение с жълтогърлите горски мишки и Източносредиземноморските домашни мишки. Въпреки това, има доказателства за въздействие на кадмия при видовете жълтогърла горска мишка и Източносредиземноморска домашна мишка, но вероятно тези видове са по-толерантни към излагане на Cd. Високите концентрации на Cd в телесните органи е възможно да отразяват способността за съхраняване на метала в нетоксично състояние, чрез свързване с металотионеин. Концентрацията на Pb и Cd в черния дроб не се различава статистически значимо между половете.

№ Г.7.11. Mitkovska, V., Dimitrov, H., & Chassovnikarova, T. (2018). Induction of erythrocytic nuclear abnormalities by permitted concentration of cadmium in common carp (*Cyprinus carpio* L.). *Ecologia Balkanica*, 10(2), 235-247. eISSN:1314-0213 [Q4 (SJR₂₀₁₈=0.103 / WoS] http://web.uni-plovdiv.bg/mollov/EB/2018_vol10_iss2/235-247_eb.18125.pdf

РЕЗЮМЕ: Индукцията на микроядра и други ядрени аномалии (NAs) – ядрени пъпки, нуклеоплазмени мостове, двуядрени клетки, както и назъбени, мехурчести, лобовидни и осмообразни ядра – беше анализирана в еритроцити от периферна кръв на обикновени шарани (*Cyprinus carpio* L.), при експозиция с кадмий (Cd) в законово разрешена концентрация. Млади индивиди бяха изложени на най-ниската от четирите разрешени концентрации на Cd (0.45 µg/L) в повърхностни води, съгласно Директива 2013/39/ЕС, за 72 часа и 144 часа в лабораторни условия. Кръвните натривки бяха оцветени с акридин оранж и тествани за наличие на микроядра и други ядрени аномалии. Установено е, че експозицията на Cd за 72 часа е довела до значително увеличен брой мехурчести ядра, лобовидни ядра и ядра с форма на осморка, както и увеличаване на общата честота на всички ядрени аномалии. Експозицията на Cd за 144 часа доведе до увеличаване на броя на клетките

с наъбени ядра и нуклеоплазмени мостове, както и повишена поява на двуядрени клетки. Получените резултати доказват цитотоксичните и генотоксичните ефекти на Cd, дори при ниски допустими нива, и потвърждават използването на ядрените аномалии като ефективен биомаркер. Повишените нива на ядрени аномалии, наблюдавани само след 144 часа експозиция на Cd, подчертават необходимостта от по-нататъшни изследвания. Потвърждаването им може да наложи промени в националното законодателство и законодателството на ЕС относно разрешените концентрации на Cd в повърхностните води.

№ Г.7.12. **Mitkovska, V.**, Dimitrov, H., & Chassovnikarova, T. (2021). Chronic exposure to heavy metals induces nuclear abnormalities and micronuclei in erythrocytes of marsh frog (*Pelophylax ridibundus* Pallas, 1771). *Ecologia Balkanica*, Special Edition 4, 97-108. [Q4 (SJR₂₀₂₁=0.137) / WoS] http://web.uni-plovdiv.bg/mollov/EB/2021_SE4/097-108_eb21SE410.pdf

РЕЗЮМЕ: Земноводните притежават огромен потенциал като биоиндикатори благодарение на техния комбиниран жизнен цикъл преминаващ през водна и сухоземна форма. Фактът, че могат да играят ролята на плячка или на хищник, ги прави ключов елемент в преноса на токсични вещества между водните и сухоземни местообитания. Ядрените аномалии (NAs) в еритроцитите на земноводните се използват през последните години като успешен биомаркер за антропогенно замърсяване. NAs, включително микроядра в еритроцитите на голямата водна жаба (*P. ridibundus*), са изследвани за оценка на цитотоксичния и генотоксичен ефект *in situ* в замърсен с тежки метали район. Тук оценяваме цито- и генотоксичния потенциал на замърсените води (река Чая) в близост до оловно-цинков завод край Пловдив (България), който замърсява района с тежки метали от 60 години. Като отрицателна контрола са тествани жаби от природен парк Странджа. Изготвени са натривки от периферна кръв, които са оцветени с акридин оранж. Най-висока честота е отчетена за следните видове NAs: наъбени ядра, ядрени пъпки и мехурчести ядра. Липсва полова зависимост при образуването на различните видове NAs. Статистически значимите разлики ($P \leq 0.0001$) в средната честота на показателя Total NAs (%) в еритроцитите на водните жаби от замърсената зона в сравнение с Total NAs от фоновия район на ПП „Странджа” показват наличието на *in vivo* действащи цитотоксични и генотоксични агенти в импактния район. Получените резултати за NAs в еритроцитите на *P. ridibundus* са доказателство за успешно приложение на NAs като биомаркер при земноводните за целите на биомониторинга.

№ Г.7.13. **Mitkovska, V.**, Dimitrov, H., & Chassovnikarova, T. (2021). Occurrence of haemoparasites of the genus *Hepatozoon* (Adeleorina: Hepatozoidae) in the marsh frog (*Pelophylax ridibundus* Pallas, 1771) in Bulgaria. *Ecologia Balkanica*, Special Edition 4, 109-116. [Q4 (SJR₂₀₂₁=0.137) / WoS] http://web.uni-plovdiv.bg/mollov/EB/2021_SE4/109-116_eb21SE411.pdf

РЕЗЮМЕ: Разпространението на видовете от род *Hepatozoon* при безопашати земноводни, по-специално жаби, и техните взаимоотношения като паразити с гостоприемниците им са много интересни. Поради спецификата на онтогенезата на жабите, те формират връзката

между водните и сухоземните екосистеми. Тези земноводни са важни в хранителните вериги, осигурявайки нормалното функциониране на биоценозата. В това изследване за първи път в България са представени данни за инфекция с *Hepatozoon* sp. при голямата водна жаба *Pelophylax ridibundus* (Pallas, 1771). Кръвните натривки на 137 индивида бяха изследвани чрез флуоресцентна микроскопия след оцветяване с акридин оранж. В три от петте изследвани района е установено наличие на апикомплексен хемопаразит от род *Hepatozoon*. Стойностите на преобладаване и паразитемия са различни в популациите на жаби, обитаващи река Чая (27.5% и 11.0%, съответно), оризовите полета край с. Цалапица (съответно 6.4% и 9.9%) и естествената влажна зона Злато поле (10.0% и 8.1%). Установено е, че морфологията и морфометричните параметри на паразитните гамонти са най-близки до *Hepatozoon magna*, но са необходими молекулярни инструменти за потвърждаване на определянето на рода и вида. Нашите открития установиха, че акридин оранж е подходящо багрило за откриване на хемопаразити от рода *Hepatozoon*.

№ Г.7.14. Christova, I., Trifonova, I., Panayotova, E., Dimitrov, H., Gladnishka, T., **Mitkovska, V.**, Taseva, E., & Gergova, I. (2021). Hantaviruses in small mammals in two regions in Bulgaria. *Acta Zoologica Bulgarica*, 73(1), 119-123. [Q4 (SJR₂₀₂₁= 0.213) / IF₂₀₂₁=0.362]
<https://acta-zoologica-bulgarica.eu/2021/002419.pdf>

РЕЗЮМЕ: За първи път в България са изследвани специфични антитела срещу ортохантавирусите Puumala и Dobrava-Belgrade при дребни бозайници. Процентът на серологично разпространение при *Apodemus flavicollis* е 10.3%, при *Apodemus agrarius* – 14.5%, при *Myodes glareolus* – 12.7% и при *Microtus arvalis* – 11.1%. В област Смолян сероразпространеността на гризачите е 5.9%, при *M. glareolus* за Puumala хантавирус в гр. Смолян и 20% при *A. flavicollis* за Dobrava хантавирус в с. Смилян. В област Пазарджик заболяемостта при гризачите е много по-висока. Антитела срещу хантавируси са открити в 10.6%, а РНК на хантавирус е открита в 6.9% от гризачите. Един индивид от вида *M. glareolus* от с. Равногор е положителен за антитела срещу Puumala хантавирус, като в същото време е потвърдена РНК на Puumala хантавирус. Резултатите от серологичното изследване на гризачи показаха различна степен на заразяване с хантавируси в различните населени места и идентифицираха така наречените „горещи точки“, където рискът за хората е значителен: Смолян, Смилян, Батак, Велинград и Пещера. Тези открития предполагат реални рискове за хората и са важни стъпки за предотвратяване на тези тежки вирусни хеморагични трески.

№ Г.7.15. Chassovnikarova, T., Dimitrov, H. & **Mitkovska, V.** (2024). Cytogenetic characteristics of *Apodemus epimelas* (Nehring, 1901) (Rodentia: Muridae) from Bulgaria: constitutive heterochromatin and nucleolar organizer regions distribution. *Acta Zoologica Bulgarica*, Suppl. 20, 53-60. [Q4 (SJR₂₀₂₃=0.216) / IF₂₀₂₃=0.4]
https://www.acta-zoologica-bulgarica.eu/2024/Suppl_20_07.pdf

РЕЗЮМЕ: Таксономичният статус на западната широкозъба мишка *Apodemus epimelas* (Nehring, 1901) е установен през 2005 г. въз основа на вариации в морфологичните и молекулярно-генетичните данни. Преди това тя е отнасяна към източната широкозъба

мишка, *Apodemus mystacinus* (Danford & Alston, 1877). Този вид е ендемичен за Западните и Южните Балкани, включително българските популации по река Струма. Разпределението на конститутивния хетерохроматин и областите на ядрения организатор беше изследвано с помощта на C- и NOR техники на оцветяване. Резултатите от това изследване показват, че видът има диплоиден брой хромозоми $2n=48$, с $FN=52$, състоящ се основно от акроцентрични хромозоми и само две малки метацентрични автозомни двойки. Разпределението и степента на C-бандовете в перицентромерните области варират между хромозомните двойки и се появяват предимно в центромерните позиции на автозомите. X хромозомата е втората по големина акроцентрична хромозома с ясно изразени интеркалирани C-бандовете, докато Y-хромозомата е малка, изцяло хетерохроматична акроцентрична хромозома. В настоящото изследване представяме разпределението на ядрените организаторни области (NOR) в шест двойки автозоми за първи път. Центромерният хетерохроматин и смесените (центромерни и теломерни) места на NORs характеризират цитотипа на докладвания вид, предоставяйки ценна информация за цитогенетичните характеристики на този вид.

3. Показател Г.8. Публикувана глава от книга или колективна монография

№ Г.8.1. Михайлова, П., Часовникарлова, Ц., Илкова, Ю., Грозева, С., Чобанов, Д., Вархаловска-Шлива, Е., Симов, Н., Атанасов, Н., **Митковска, В.**, Димитров, Х. (2013). Геномна биомаркерна тест система за оценка състоянието на екологичния риск. Изд-во Пенсофт, София–Москва, 135 с., ISBN 978-954-642-708-3

РЕЗЮМЕ: Генетичните биомаркери са подходящи за създаване на бърза, широко обхватна и ефективна мониторинг система, отчитаща геномния отговор на природните популации на моделни растителни и животински видове спрямо настъпили промени в околната среда. Днес те широко се използват при оценка влиянието на различни замърсители върху биоразнообразието, структурата и функцията на водни и сухоземни екосистеми. За определяне на екологичния риск в природни популации на зоомониторни видове безгръбначни и гръбначни животни в монографията се представят цитогенетични и молекулярни биомаркери, отчитайки тяхното теоретично и приложно значение. Установената различна чувствителност към стрес условията на околната среда позволява създаването на интегрирана Геномна Биомаркерна Тест Система (ГБТС) за оценка въздействието на различни замърсители, увреждащи човешкото здраве и оказващи вреден ефект върху околната среда. Получените резултати при използването на зоомониторни видове от семейства Chironomidae (Diptera), Muridae и Arvicolidae (Mammalia, Rodentia) могат да бъдат успешно използвани за създаване, развитие и прилагане на бърза и ефективна методика за оценка на екологичния риск, която да се включи в Националната система за биомониторинг в България.

14.02.2025 г.
гр. Пловдив

Изготвил:
/гл. ас. д-р Весела Митковска/