

## 7. РЕЗЮМЕТА НА РЕЦЕНЗИРАНИТЕ ПУБЛИКАЦИИ НА ГЛ. АС. Д-Р НИНА СТОЙЧЕВА ДЖЕМБЕКОВА

участник в конкурс за заемане на академична длъжност „доцент“ по научна Област 4. „Природни науки, математика и информатика“, Професионално направление: 4.3. Биологически науки, Научна специалност „Екология и опазване на екосистемите“, Научно направление „Екология и молекулярна таксономия на морски организми“ при ИО-БАН, Варна, обявен в ДВ бр. 1 / 02.01.2024 г.

### 6.3. НАУЧНИ ПУБЛИКАЦИИ ПРЕДСТАВЕНИ ПО КОНКУРСА ЗА ЗАЕМАНЕ НА АКАДЕМИЧНА ДЛЪЖНОСТ „ДОЦЕНТ“

**6.3.1. Хабилизационен труд – научни публикации в издания, които са реферирани и индексирани в световноизвестни бази данни с научна информация (Web of Science и Scopus) (Показател В от Приложение към чл.1 а, ал.1 от Правилника за условията и реда за придобиване на образователни и научни степени и за заемане на академични длъжности в Института по океанология – БАН)**

**6.3.1-1. Dzhebekova, N., Atanasov, I., Ivanova, P., Moncheva, S.** New potentially toxic *Pseudo-nitzschia* species (Bacillariophyceae) identified by molecular approach in the Black Sea (Varna Bay). 17th International Multidisciplinary Scientific GeoConference SGEM 2017, Conference Proceedings, 2017, 17: 889-896. [Link](#)

**ABSTRACT:** The potentially toxic genus *Pseudo-nitzschia* H. Peragallo, 1900 is common for the phytoplankton community in the Bulgarian part of the Black Sea often proliferating to bloom densities. The highly similar morphological features hamper the precise species discrimination by light microscopy and an accurate identification requires the application of more sophisticated methods. In this study we used genus specific large subunits ribosomal DNA (LSU rDNA) primer pair in order to elucidate the species diversity within *Pseudo-nitzschia* in Varna Bay. Three *Pseudo-nitzschia* species (four distinct ribotypes) were found in the constructed from environmental samples clone libraries. Molecular data were compared with light microscopy counts. This is the first detection of *P. linea* Lundholm, Hasle and G.A.Fryxell, 2002 in the Black Sea and first confirmation of presence of *P. calliantha* Lundholm, Moestrup & Hasle, 2003 and *P. pungens* var. *aveirensis* Lundholm, Churro, Carreira & Calado, 2009 in Bulgarian waters. The results from this preliminary study are in support of the potential of molecular analysis as a powerful approach for clarifying *Pseudo-nitzschia* taxonomic diversity in Bulgarian Black Sea waters.

**РЕЗЮМЕ:** Потенциално токсичният род *Pseudo-nitzschia* H. Peragallo, 1900 е често срещан във фитопланктонното съобщество в българската част на Черно море, често развиващ се в цъфтежни концентрации. Сходните морфологични характеристики възпрепятстват прецизното разграничаване на видовете чрез светлинна микроскопия и точната идентификация изисква прилагането на по-усъвършенствани методи. В това изследване използвахме родово специфични праймери за гена, кодиращ рРНК за голямата субединица, за да изясним видовото разнообразие в рамките на род *Pseudo-nitzschia* във Варненски залив. В конструираните от естествени проби клонови библиотеки бяха идентифицирани три вида *Pseudo-nitzschia* (четири различни

риботипа). Молекулярните данни бяха сравнени с количествени микроскопски данни. За първи път в Черно море е регистриран *P. linea* Lundholm, Hasle and G.A.Fryxell, 2002 и е потвърдено присъствието на *P. calliantha* Lundholm, Moestrup & Hasle, 2003 и *P. pungens* var. *aveirensis* Lundholm, Churro, Carreira & Calado, 2009 и в български води. Резултатите от това предварително проучване са в подкрепа на потенциала на молекулярния анализ като мощен подход за изясняване на таксономичното разнообразие на *Pseudo-nitzschia* в българските води на Черно море.

**6.3.1-2. Dzhenbekova, N., Moncheva, S., Ivanova, P., Slabakova, N., Nagai, S.** Biodiversity of phytoplankton cyst assemblages in surface sediments of the Black Sea based on metabarcoding. *Biotechnology & Biotechnological Equipment*, 2018, 32 (6): 1507-1513.

[DOI](#)

**ABSTRACT:** Resting stages are common for the life cycle of some phytoplankton species, including blooming and potentially toxic species. The “seed bank” accumulated in the sediments can initiate blooms in the water column and could be an early warning signal of harmful algal blooms (HABs). In order to identify the phytoplankton cyst assemblages, thirteen surface sediment samples were collected from different sites in the Black Sea. The diversity of the resting stages was assessed using high-throughput sequencing metabarcoding (V7-9 hypervariable region of the 18S rDNA). One hundred and eighty microalgal species were identified with high level of similarity to the reference sequences. Dinoflagellates were dominated by *Biecheleria*, *Gymnodinium* and *Karlodinium*. Within diatoms, *Skeletonema*, *Chaetoceros* and *Thalassiosira* were the most abundant genera. Sixteen of the detected operational taxonomic units (OTUs) were assigned to harmful microalgae (12 dinoflagellates species, 1 diatom, 1 haptophyte and 2 raphidophytes). No pattern of microalgal sequences depth distribution was discriminated. The results show that DNA metabarcoding has a great potential for assessment of the phytoplankton diversity in environmental sediments.

**РЕЗЮМЕ:** Покоящите стадии са характерни за жизнения цикъл на някои видове фитопланктон, в това число цъфтежни и потенциално токсични видове. „Семенната банка“ натрупана в седимента, може да инициира цъфтежи във водния стълб, поради което може да се използва като ранен предупредителен сигнал за вредни водораслови цъфтежи. За идентифициране на фитопланктонните цисти бяха събрани тринадесет проби от повърхностен седимент от различни локации в Черно море. Разнообразието на покоящите стадии беше изследвано с помощта на метабаркодиране (V7-9 хипервариабилния регион на 18S рДНК), чрез прилагане на секвениране с висока производителност. Сто и осемдесет вида микроводорасли бяха идентифицирани с високо ниво на сходство с референтните секвенции. Динофлагелатите бяха доминирани от *Biecheleria*, *Gymnodinium* и *Karlodinium*. При диатомеите най-представените родове бяха *Skeletonema*, *Chaetoceros* и *Thalassiosira*. Шестнадесет от установените оперативни таксономични единици бяха асоциирани с вредни микроводорасли (12 вида динофлагелати, 1 диатомея, 1 хаптофит и 2 рафидофита). Не беше установена зависимост на разпределение на секвенциите на микроводораслите в дълбочина. Резултатите демонстрираха големия потенциал на ДНК метабаркодирането за оценка на разнообразието на фитопланктона в седименти.

**6.3.1-3. Dzhembekova, N.,** Rubino, F., Nagai, S., Zlateva, I., Slabakova, N., Ivanova, P., Slabakova, V., Moncheva, S. Comparative analysis of morphological and molecular approaches integrated into the study of the dinoflagellate biodiversity within the recently deposited Black Sea sediments – benefits and drawbacks. *Biodiversity Data Journal*, 2020, 8: e55172 [DOI](#)

**ABSTRACT:** One of the assets, assigned to the phytoplankton resting stages, is that of serving as the “memory” of the aquatic ecosystems and preserved biodiversity in the course of time. However, an accurate cyst identification proves to be a more difficult and extremely challenging process, even today. In order to gain a better taxonomic coverage of cyst assemblages in the Black Sea, an integrated approach of the classical morphological identification with metabarcoding methods (MySeq sequencing of V7-V9 regions of the 18S rDNA) was applied on thirteen surface sediment samples collected from different sites. A total number of 112 dinoflagellate taxa was detected at the species level and ascribed to 51 genera. In general, it is the molecular analysis that yields a higher number of taxa as compared to those obtained through the morphological taxonomy (66 taxa based on the DNA sequences versus 56 morphologically-identified taxa). Besides, it should be pointed out that the integrated dataset includes 14 potentially toxic dinoflagellate species. Discerned, subsequently, was a good dataset consistency for ten species, followed by some discrepancies as to a number of taxa, identified with one of the methods only, due to specific methodological biases. On the whole, it could be concluded that the combination of morphological and molecular methods is likely to increase the potential for a more reliable taxonomic assessment of phytoplankton diversity in marine sediments which, in turn, proves conclusively the utmost importance of the integrated approach.

**РЕЗЮМЕ:** Едно от предимствата на покоящите стадии на фитопланктона, е че те служат като „памет“ на водните екосистеми и запазват биоразнообразието във времето. Точното идентифициране на цисти, обаче, се оказва труден и изключително предизвикателен процес, дори и днес. За да се получи по-добро таксономично покритие на групите цисти в Черно море, беше приложен интегриран подход на класическата морфологична идентификация и метабаркодиране (MySeq секвениране на V7-V9 региони на 18S рДНК) върху тринадесет проби от повърхностен седимент, събрани от различни локации. Общо 112 динофлагелатни таксона (принадлежащи към 51 рода) бяха идентифицирани на видово ниво. Като цяло, чрез молекулярния анализ беше установен по-голям брой таксони в сравнение с тези, получени чрез морфологична таксономия (66 таксона въз основа на ДНК секвенции срещу 56 морфологично идентифицирани таксона). Наред с това трябва да се отбележи, че интегрираният набор от данни включи 14 потенциално токсични вида динофлагелати. Беше установено съответствие в сетовите от данни за десет вида, както и някои несъответствия по отношение на таксони, идентифицирани само с един от методите, поради специфични методологични ограничения. Като цяло може да се заключи, че комбинацията от морфологични и молекулярни методи увеличава потенциала за по-надеждна таксономична оценка на разнообразието на фитопланктона в морските седименти, което от своя страна доказва убедително изключителното значение на интегрирания подход.

**6.3.1-4.** Di Cesare, A., **Dzhembekova, N.**, Cabello-Yeves, P.J., Eckert, E.M., Slabakova, V., Slabakova, N., Peneva, E., Bertoni, R., Corno, G., Salcher, M.M., Kamburska, L., Bertoni, F., Rodriguez-Valera, F., Moncheva, S., Callieri, C. Genomic Comparison and Spatial Distribution of Different *Synechococcus* Phylotypes in the Black Sea. *Frontiers in Microbiology*, 2020, 11: 1-11. [DOI](#)

**ABSTRACT:** Picocyanobacteria of the genus *Synechococcus* are major contributors to global primary production and nutrient cycles due to their oxygenic photoautotrophy, their abundance, and the extensive distribution made possible by their wide-ranging biochemical capabilities. The recent recovery and isolation of strains from the deep euxinic waters of the Black Sea encouraged us to expand our analysis of their adaptability also beyond the photic zone of aquatic environments. To this end, we quantified the total abundance and distribution of *Synechococcus* along the whole vertical profile of the Black Sea by flow cytometry, and analyzed the data obtained in light of key environmental factors. Furthermore, we designed phylotype-specific primers using the genomes of two new epipelagic coastal strains – first described here – and of two previously described mesopelagic strains, analyzed their presence/abundance by qPCR, and tested this parameter also in metagenomes from two stations at different depths. Together, whole genome sequencing, metagenomics and qPCR techniques provide us with a higher resolution of *Synechococcus* dynamics in the Black Sea. Both phylotypes analyzed are abundant and successful in epipelagic coastal waters; but while the newly described epipelagic strains are specifically adapted to this environment, the strains previously isolated in mesopelagic waters are able, in low numbers, to withstand the aphotic and oxygen depleted conditions of deep layers. This heterogeneity allows different *Synechococcus* phylotypes to occupy different niches and underscores the importance of a more detailed characterization of the abundance, distribution, and dynamics of individual populations of these picocyanobacteria.

**РЕЗЮМЕ:** Пикоцианобактериите от род *Synechococcus* са основни участници в глобалната първична продукция и биогенни цикли, поради тяхната оксигенна фотоавтотрофия, численост и обширно разпространение, станало възможно благодарение на широкообхватните им биохимични способности. Неотдавнашното изследване и изолиране на щамове от дълбоките аноксични и богати на сероводород води на Черно море ни насърчи да разширим анализа на тяхната адаптивност и извън фотичната зона на водната среда. За тази цел извършихме количествен анализ на общата численост и разпространение на *Synechococcus* по целия вертикален профил в Черно море чрез флоуцитометрия и анализирахме получените данни във връзка с ключови фактори на околната среда. Освен това създадохме филотипо-специфични праймери, използвайки геномите на два нови епипелагични крайбрежни щама – описани за първи път тук – и на два по-рано описани мезопелагични щама, анализирахме тяхното присъствие/численост чрез qPCR, като тествахме този параметър също и в метагеноми от две станции на различни дълбочини. Заедно, секвенирането на целия геном, метагеномиката и qPCR техниките ни осигуряват по-висока резолюция на динамиката на *Synechococcus* в Черно море. И двата анализирани филотипа са с висока численост в епипелагичните крайбрежни води; но докато новоописаните епипелагични щамове са специфично адаптирани към тази среда,

щамове, изолирани по-рано в мезопелагични води, са способни, в малка численост, да издържат на афотичните и изчерпани от кислород условия на дълбоките слоеве. Тази хетерогенност позволява на различни филотипове на *Synechococcus* да заемат различни ниши и подчертава значението на по-подробна характеристика на числеността, разпространението и динамиката на отделни популации на тези пикоцианобактерии.

**6.3.1-5. Dzhebekova, N., Slabakova, N., Slabakova, V., Zlateva, I., Moncheva, S.** Long-term Trends in *Pseudo-nitzschia* Complex Blooms in the Black Sea-is there a Potential Risk for Ecological and Human Hazards. *Ecologia Balkanica*, 2021, 13 (1): 55-75. [Link](#)

**ABSTRACT:** The potentially toxic genus *Pseudo-nitzschia* is constantly present in phytoplankton community in the Black Sea often proliferating to bloom concentrations. Production of domoic acid (DA) has been confirmed by local *P. calliantha* strain and the presence of the neurotoxin has been detected in cultured molluscs and plankton samples from the Bulgarian Black Sea coast. This study aims to provide an overview of the long-term trends of *Pseudo-nitzschia* blooms in the Black Sea based on inventory of the available information for the period 1959-2019 and assess the relation with key environmental variables. *Pseudo-nitzschia* species diversity and identification constraints are critically analyzed along with data about the presence of DA in the basin. The results demonstrate that *Pseudo-nitzschia* spp. may bloom at any time of the year under different environmental regimes. Application of advanced identification techniques, technologically adequate regular monitoring, complemented by toxin analysis is essential to improve our understanding of *Pseudo-nitzschia* bloom dynamics in order to protect public and ecosystem health hazards.

**РЕЗЮМЕ:** Потенциално токсичният род *Pseudo-nitzschia* е постоянен компонент на фитопланктонното съобщество в Черно море, като често се развива до цъфтежни концентрации. Производството на домоена киселина (DA) е потвърдено от местни изолати на *P. calliantha* и наличие на невротоксина е установено в култивирани мекотели и планктонни проби от българското черноморско крайбрежие. Това проучване има за цел да направи преглед на дългосрочните тенденции на цъфтежите на *Pseudo-nitzschia* в Черно море въз основа на инвентаризация на наличната информация за периода 1959-2019 г. и да оцени връзката с ключови променливи на околната среда. Разнообразието на видовете *Pseudo-nitzschia* и ограниченията за идентификация са критично анализирани, заедно с данни за наличието на DA в басейна. Резултатите показват, че цъфтежи на *Pseudo-nitzschia* spp. може да се развият по всяко време на годината при различни екологични режими. Прилагането на усъвършенствани техники за идентификация, технологично адекватен регулярен мониторинг, допълнен от анализ на токсини, е от съществено значение за подобряване на разбирането ни за динамиката на цъфтежите на *Pseudo-nitzschia*, за опазване на общественото здраве и здравето на екосистемите.



**6.3.1-6. Dzhembekova, N., Rubino, F., Belmonte, M., Zlateva, I., Slabakova, N., Ivanova, P., Slabakova, V., Nagai, S., Moncheva, S.** Distribution of Different *Scrippsiella acuminata* (Dinophyta) Cyst Morphotypes in Surface Sediments of the Black Sea: A Basin Scale Approach. *Frontiers in Marine Science*, 2022, 9: 1-13. [DOI](#)

**ABSTRACT:** Plankton cyst abundance and distribution is controlled by multiple factors. The stress linked to the fluctuations and variations of the environmental conditions in the water column is a major vector of encystment and intraspecific variability is an important adaptive strategy. The present study aims to disclose a link between the spatial distribution and abundance of different cyst morphotypes of *Scrippsiella acuminata* complex in surface sediments collected in the Black Sea at 34 sites and selected environmental variables. With this purpose, a basin scale data set was analyzed for patterns of intraspecific spatial heterogeneity. Redundancy analysis (RDA) was implemented to identify explanatory environmental variables associated with the cyst morphotypes abundance. Environmental multiyear data were used to ensure better approximation of a model that links environmental gradients with cyst abundance. Our results show that all *S. acuminata* cysts morphotypes are significantly correlated to one or a combination of the environmental variables, i.e., salinity, temperature and nutrients (nitrates and phosphates). The geographical distribution of *Scrippsiella* blooms in the Black Sea indicates that the interplay between the planktonic and benthic habitat of the dinoflagellate gives to *S. acuminata* the advantage to dominate in the plankton communities.

**РЕЗИОМЕ:** Числеността и разпространението на планктонните цисти се контролира от множество фактори. Стресът, свързан с колебанията и вариациите на условията на среда във водния стълб, е основен вектор на инцистирането, а вътревидовата вариабилност е важна адаптивна стратегия. Настоящото изследване има за цел да разкрие връзката между пространственото разпределение и численост на различни морфотипове на цисти на комплекса *Scrippsiella acuminata* в повърхностни седименти, събрани от 34 локации в Черно море и избрани променливи на околната среда. За тази цел, набор от данни, обхващащ целия басейн, беше анализиран за модели на вътревидова пространствена хетерогенност. За да се идентифицират обяснителни променливи на околната среда, свързани с числеността на морфотиповете, беше приложен статистически анализ (RDA). За осигуряване на по-добър модел, който свързва градиентите на околната среда с числеността на цистите, са използвани многогодишни данни за околната среда. Нашите резултати показват, че всички морфотипове на цисти на *S. acuminata* са свързани с една или с комбинация от променливи на околната среда, като соленост, температура и биогени (нитрати и фосфати). Географското разпространение на цъфтежи на *Scrippsiella* в Черно море показва, че взаимодействието между планктонното и бентосното местообитание на динофлагелатния вид дава на *S. acuminata* предимството да доминира в планктонните съобщества.

**6.3.1-7. Dzhebekova, N., Moncheva, S., Slabakova, N., Zlateva, I., Nagai, S., Wietkamp, S., Wellkamp, M., Tillmann, U., Krock, B.** New Knowledge on Distribution and Abundance of Toxic Microalgal Species and Related Toxins in the Northwestern Black Sea. *Toxins*, 2022, 14, 685: 1-25. [DOI](#)

**ABSTRACT:** Numerous potentially toxic plankton species commonly occur in the Black Sea, and phycotoxins have been reported. However, the taxonomy, phycotoxin profiles, and distribution of harmful microalgae in the basin are still understudied. An integrated microscopic (light microscopy) and molecular (18S rRNA gene metabarcoding and qPCR) approach complemented with toxin analysis was applied at 41 stations in the northwestern part of the Black Sea for better taxonomic coverage and toxin profiling in natural populations. The combined dataset included 20 potentially toxic species, some of which (*Dinophysis acuminata*, *Dinophysis acuta*, *Gonyaulax spinifera*, and *Karlodinium veneficum*) were detected in over 95% of the stations. In parallel, pectenotoxins (PTX-2 as a major toxin) were registered in all samples, and yessotoxins were present at most of the sampling points. PTX-1 and PTX-13, as well as some YTX variants, were recorded for the first time in the basin. A positive correlation was found between the cell abundance of *Dinophysis acuta* and pectenotoxins, and between *Lingulodinium polyedra* and *Protoceratium reticulatum* and yessotoxins. Toxic microalgae and toxin variant abundance and spatial distribution was associated with environmental parameters. Despite the low levels of the identified phycotoxins and their low oral toxicity, chronic toxic exposure could represent an ecosystem and human health hazard.

**РЕЗЮМЕ:** Множество потенциално токсични видове планктон са често срещани в Черно море, като е съобщавано и присъствие на фикотоксини. Въпреки това, таксономията, профилите на фикотоксините и разпространението на вредните микроводорасли в басейна са все още недостатъчно проучени. Интегриран микроскопски (светлинна микроскопия) и молекулярен (18S рРНК-ген метабаркодиране и qPCR) подход, допълнен с анализ на токсини, беше приложен за 41 станции в северозападната част на Черно море с цел по-добро таксономично покритие и профилиране на токсини в естествените популации. Комбинираният набор от данни включва 20 потенциално токсични вида, някои от които (*Dinophysis acuminata*, *Dinophysis acuta*, *Gonyaulax spinifera* и *Karlodinium veneficum*) са открити в над 95% от станциите. Успоредно с това, във всички проби са регистрирани пектенотоксини (PTX-2 като основен токсин), а в повечето станции присъстват и йесотоксини. PTX-1 и PTX-13, както и някои варианти на YTX, бяха регистрирани за първи път в басейна. Установена е положителна корелация между числеността на *Dinophysis acuta* и пектенотоксините, и между *Lingulodinium polyedra* и *Protoceratium reticulatum* и йесотоксините. Числеността и пространственото разпределение на токсичните микроводорасли и на токсините са свързани с параметрите на околната среда. Въпреки ниските нива на идентифицираните фикотоксини и тяхната ниска орална токсичност, хроничната токсична експозиция може да представлява опасност за екосистемата и човешкото здраве.

**6.3.2. Научни публикации в издания, които са реферирани и индексирани в световноизвестни бази данни с научна информация (Web of Science и Scopus), извън хабилитационния труд (Показател Г 7 от Приложение към чл.1 а, ал.1 от Правилника за условията и реда за придобиване на образователни и научни степени и за заемане на академични длъжности в ИО – БАН)**

**6.3.2-1.** Callieri, C., Slabakova, V., **Dzhembekova, N.**, Slabakova, N., Peneva, E., Cabello-Yeves, P.J., Di Cesare, A., Eckert, E.M., Bertoni, R., Corno, G., Salcher, M.M., Kamburska, L., Bertoni, F., Moncheva, S. The mesopelagic anoxic Black Sea as an unexpected habitat for *Synechococcus* challenges our understanding of global “deep red fluorescence”. The ISME journal, 2019. [DOI](#)

**ABSTRACT:** The Black Sea is the largest meromictic sea with a reservoir of anoxic water extending from 100 to 1000 m depth. These deeper layers are characterised by a poorly understood fluorescence signal called “deep red fluorescence”, a chlorophyll a- (Chl a) like signal found in deep dark oceanic waters. In two cruises, we repeatedly found up to 103 cells ml<sup>-1</sup> of picocyanobacteria at 750 m depth in these waters and isolated two phycoerythrin-rich *Synechococcus* sp. strains (BS55D and BS56D). Tests on BS56D revealed its high adaptability, involving the accumulation of Chl a in anoxic/dark conditions and its capacity to photosynthesise when re-exposed to light. Whole-genome sequencing of the two strains showed the presence of genes that confirms the putative ability of our strains to survive in harsh mesopelagic environments. This discovery provides new evidence to support early speculations associating the “deep red fluorescence” signal to viable picocyanobacteria populations in the deep oxygen-depleted oceans, suggesting a reconsideration of the ecological role of a viable stock of *Synechococcus* in dark deep waters.

**РЕЗЮМЕ:** Черно море е най-голямото меромиктично море с резервоар от аноксични води, простиращи се от 100 до 1000 м дълбочина. Тези по-дълбоки слоеве се характеризират с флуоресцентен сигнал с неясен произход, наречен „дълбоководна червена флуоресценция“, подобен на хлорофил а- (Chl a) сигнал, открит в дълбоки тъмни океански води. По време на две експедиции многократно открихме пикоцианобактерии до 103 клетки на милилитър на дълбочина 750 м в тези води и изолирахме два богати на фикоеритрин щама *Synechococcus* sp. (BS55D и BS56D). Тестовете на BS56D разкриха неговата висока адаптивност, включваща натрупване на Chl a в аноксични/тъмни условия и способността му да фотосинтезира при повторно излагане на светлина. Секвенирането на целия геном на двата щама показва наличието на гени, потвърждаващи предполагаемата им способност да оцеляват в суровите мезопелагични условия. Това откритие предоставя нови доказателства в подкрепа на предишни хипотези, свързващи сигнала за „дълбоководна червена флуоресценция“ с жизнеспособни популации на пикоцианобактерии в дълбоките безкислородни океански зони, което предполага преразглеждане на екологичната роля на жизнеспособен запас от *Synechococcus* в дълбоките тъмни води.



**6.3.2-2.** Cabello-Yeves, P. J., Callieri, C., Picazo, A., Mehrshad, M., Haro-Moreno, J. M., Roda-Garcia, J. J., **Dzhembekova, N.**, Slabakova, V., Slabakova, N., Moncheva, S., Rodriguez-Valera, F. The microbiome of the Black Sea water column analyzed by shotgun and genome centric metagenomics. *Environmental Microbiomes*, 2021,16 (5): 1-15. [DOI](#)

#### **ABSTRACT:**

**Background:** The Black Sea is the largest brackish water body in the world, although it is connected to the Mediterranean Sea and presents an upper water layer similar to some regions of the former, albeit with lower salinity and temperature. Despite its well-known hydrology and physicochemical features, this enormous water mass remains poorly studied at the microbial genomics level.

**Results:** We have sampled its different water masses and analyzed the microbiome by shotgun and genomeresolved metagenomics, generating a large number of metagenome-assembled genomes (MAGs) from them. We found various similarities with previously described Black Sea metagenomic datasets, that show remarkable stability in its microbiome. Our datasets are also comparable to other marine anoxic water columns like the Cariaco Basin. The oxic zone resembles to standard marine (e.g. Mediterranean) photic zones, with Cyanobacteria (*Synechococcus* but a conspicuously absent *Prochlorococcus*), and photoheterotrophs domination (largely again with marine relatives). The chemocline presents very different characteristics from the oxic surface with many examples of chemolithotrophic metabolism (*Thioglobus*) and facultatively anaerobic microbes. The euxinic anaerobic zone presents, as expected, features in common with the bottom of meromictic lakes with a massive dominance of sulfate reduction as energy-generating metabolism, a few (but detectable) methanogenesis marker genes, and a large number of “dark matter” streamlined genomes of largely unpredictable ecology.

**Conclusions:** The Black Sea oxic zone presents many similarities to the global ocean while the redoxcline and euxinic water masses have similarities to other similar aquatic environments of marine (Cariaco Basin or other Black Sea regions) or freshwater (meromictic monimolimnion strata) origin. The MAG collection represents very well the different types of metabolisms expected in this kind of environment. We are adding critical information about this unique and important ecosystem and its microbiome.

#### **РЕЗЮМЕ:**

**Преглед:** Черно море е най-голямото бракично водно тяло в света, въпреки че е свързано със Средиземно море и повърхностния му воден слой е подобен на някои негови региони, макар и с по-ниска соленост и температура. Въпреки добре познатите си хидрологични и физикохимични характеристики, тази огромна водна маса остава слабо проучена на ниво микробна геномика.

**Резултати:** Събрани са проби от различни водни маси и е анализиран микробиома чрез шотгън метагеномика, генерирайки голям брой метагеномно-асемблирани геноми (MAG). Открити са различни прилики с описаните по-рано черноморски метагеномни набори от данни, показващи забележителна стабилност в неговия микробиом. Данните са сравними и с други морски аноксични басейни, като басейна Кариако. Кислородната зона наподобява стандартните морски (напр. средиземноморски) фотични зони, с

цианобактерии (*Synechococcus*, но видимо отсъстващ *Prochlorococcus*) и доминиране на фотохетеротрофи (до голяма степен отново с морски произход). Хемоклинът представя много различни характеристики от кислородната повърхност с много примери за хемолитотрофен метаболизъм (*Thioglobus*) и факултативно анаеробни микроби. Богатата на сероводород анаеробна зона представя, както се очаква, характеристики, общи с дъното на меромиктични езера с масивно доминиране на редуция на сулфат като генериращ енергия метаболизъм, няколко (но откриваеми) маркерни гени за метаногенеза и голям брой неклассифицирани геноми с непредвидима екология.

**Заклучения:** Кислородната зона на Черно море има много прилики със световния океан, докато водните маси от редоксклина и аноксичните и богати на сероводород слоеве имат прилики с други подобни водни среди от морски (басейн Кариакко или други черноморски региони) или сладководен (меромиктични стратифицирани слоеве) произход. Получените MAGs представят много добре различните видове метаболизми, очаквани в този вид среда. Добавена е важна информация за тази уникална и важна екосистема и нейния микробиом.

**6.3.2-3.** Sabatino, R., Di Cesare, A., **Dzhembekova, N.**, Fontaneto, D., Eckert, E.M., Corno, G., Moncheva, S., Bertoni, R., Callieri, C. Spatial distribution of antibiotic and heavy metal resistance genes in the Black Sea. *Marine Pollution Bulletin*, 2020, 160: 111635. [DOI](#)

**ABSTRACT:** Antibiotic resistance genes (ARGs) and antibiotic resistant bacteria (ARB) are worldwide considered as emerging contaminants of large interest, and a primary threat to human health. It is becoming clear that the environment plays a central role in the transmission, spread, and evolution of antibiotic resistance. Although marine systems have been largely investigated, only a few studies have considered the presence of ARGs in meso- and bathypelagic waters. To date, no molecular based studies have yet been made to investigate the occurrence of ARGs in the Black Sea, the largest meromictic basin in the world, receiving water from a number of important European rivers and their residues of anthropogenic activities in permanently stratified mesopelagic water masses. In this study, we determined the presence and the abundance of five ARGs (*bla<sub>CTXM</sub>*, *ermB*, *qnrS*, *sul2*, *tetA*) and of the heavy metal resistance gene (HMRG) *czcA*, in different sampling sites in the eastern and western Black Sea, at several depths (up to 1000 m) and various distances from the shoreline. Three ARGs (*bla<sub>CTXM</sub>*, *sul2*, and *tetA*) and *czcA* were present in at least 43% of the analysed samples, whereas *ermB* and *qnrS* were never detected. In particular, *sul2* abundances increased significantly in coastal location, whereas *tetA* increased with sampling depth. These findings point out the Black Sea as a source of ARGs and HMRGs distributed along the whole water column.

**РЕЗЮМЕ:** Гените за резистентност към антибиотици (ARGs) и резистентните към антибиотици бактерии (ARB) в световен мащаб се считат за възникващи замърсители от голям интерес и основна заплаха за човешкото здраве. Околната среда играе централна роля в предаването, разпространението и еволюцията на антибиотичната резистентност. Въпреки че морските системи са широко проучени, само няколко изследвания разглеждат наличието на ARG в мезо- и батипелагични води. Към днешна дата все още не са правени молекулярни проучвания за изследване на появата на ARGs

в Черно море, най-големият меромиктичен басейн в света, получаващ вода от редица важни европейски реки и техните остатъци от антропогенни дейности в постоянно стратифицираните мезопелагични водни маси. В това проучване определихме наличието и концентрацията на пет ARGs (*blaCTXM*, *ermB*, *qnrS*, *sul2*, *tetA*) и на гена за устойчивост на тежки метали (HMRG) *czcA*, в различни локации в източната и западната част на Черно море, в няколко дълбочини (до 1000 м) и различни разстояния от брега. Три ARGs (*blaCTXM*, *sul2* и *tetA*) и *czcA* присъстваха в най-малко 43% от анализираниите проби, докато *ermB* и *qnrS* не бяха открити. Установено е значително увеличаване на количествата на *sul2* в крайбрежието, докато *tetA* се увеличава в дълбочина. Тези открития указват Черно море като източник на ARGs и HMRGs, разпределени по целия воден стълб.

**6.3.2-4.** Sabatino, R., Cabello-Yeves, P., Eckert, E., Corno, G., Callieri, C., Brambilla, D., Dzhembekova, N., Moncheva, S., Di Cesare, A. Antibiotic resistance genes correlate with metal resistances and accumulate in the deep water layers of the Black Sea. *Environmental Pollution*, 2022, 312: 120033. [DOI](#)

**ABSTRACT:** Seas and oceans are a global reservoir of antibiotic resistance genes (ARGs). Only a few studies investigated the dynamics of ARGs along the water column of the Black Sea, a unique environment, with a peculiar geology, biology and history of anthropogenic pollution. In this study, we analyzed metagenomic data from two sampling campaigns (2013 and 2019) collected across three different sites in the Western Black Sea at depths ranging from 5 to 2000 m. The data were processed to annotate ARGs, metal resistance genes (MRGs) and integron integrase genes. The ARG abundance was significantly higher in the deep water layers and depth was the main driver of beta-diversity both for ARGs and MRGs. Moreover, ARG and MRG abundances strongly correlated ( $r = 0.95$ ). The integron integrase gene abundances and composition were not influenced by the water depth and did not correlate with ARGs. The analysis of the obtained MAGs showed that some of them harbored *intI* gene together with several ARGs and MRGs, suggesting the presence of multidrug resistant bacteria and that MRGs and integrons could be involved in the selection of ARGs. These results demonstrate that the Black Sea is not only an important reservoir of ARGs, but also that they accumulate in the deep water layers where co-selection with MRGs could be assumed as a relevant mechanism of their persistence.

**РЕЗИЮМЕ:** Моретата и океаните са глобален резервоар на гени за резистентност към антибиотици (ARGs). Само няколко проучвания изследват динамиката на ARGs във водния стълб на Черно море, уникална среда, с особена геология, биология и история на антропогенно замърсяване. В това проучване анализирахме метагеномни данни от две кампании за пробонабиране (2013 и 2019), събрани в три различни локации в западната част на Черно море, на дълбочини от 5 до 2000 м. Данните бяха обработени, за да се аотират ARGs, гени за устойчивост на метали (MRGs) и интегрон-интегразни гени. Числеността на ARGs беше значително по-висока в дълбоките водни слоеве и дълбочината беше основният фактор, влияещ на бета-разнообразието както за ARGs, така и за MRGs. Освен това е установена силна корелация между числеността на ARG и MRG ( $r = 0.95$ ). Числеността и съставът на интегрон-интегразни гени не са повлияни

от дълбочината на водата и не корелират с ARGs. Анализът на получените MAGs показва, че някои от тях съдържат *intI* ген заедно с няколко ARGs и MRGs, което предполага наличието на мултирезистентни бактерии, и че MRGs и интегроните могат да бъдат включени в селекцията на ARGs. Резултатите демонстрират, че Черно море е не само важен резервоар на ARGs, но и че те се натрупват в дълбоките водни слоеве, където съвместният подбор с MRGs може да се приеме като подходящ механизъм за тяхното присъствие.

**6.3.2-5.** Ivanova, P., **Dzhembekova, N.**, Atanassov, I., Rusanov, K., Raykov, V., Zlateva, I., Yankova, M., Raev, Y., Nikolov, G. Genetic diversity and morphological characterisation of three turbot (*Scophthalmus maximus* L., 1758) populations along the Bulgarian Black Sea coast. *Nature Conservation*, 2021, 43: 123-146.

**ABSTRACT:** Turbot (*Scophthalmus maximus* L., 1758) is a valuable commercial fish species classified as endangered. The conservation and sustainability of the turbot populations require knowledge of the population's genetic structure and constant monitoring of its biodiversity. The present study was performed to evaluate the population structure of turbot along the Bulgarian Black Sea coast using seven pairs of microsatellites, two mitochondrial DNA (COIII and CR) and 23 morphological (15 morphometric and 8 meristic) markers. A total of 72 specimens at three locations were genotyped and 59 alleles were identified. The observed number of alleles of microsatellites was more than the effective number of alleles. The overall mean values of observed ( $H_o$ ) and expected heterogeneity ( $H_e$ ) were 0.638 and 0.685. A high rate of migration between turbot populations (overall mean of  $Nm = 17.484$ ), with the maximum value (19.498) between Shabla and Nesebar locations, was observed. This result corresponded to the low level of genetic differentiation amongst these populations (overall mean  $F_{st} = 0.014$ ), but there was no correlation between genetic and geographical distance. A high level of genetic diversity in the populations was also observed. The average Garza-Williamson  $M$  index value for all populations was low (0.359), suggesting a reduction in genetic variation due to a founder effect or a genetic bottleneck. Concerning mitochondrial DNA, a total number of 17 haplotypes for COIII and 41 haplotypes for CR were identified. The mitochondrial DNA control region showed patterns with high haplotype diversity and very low nucleotide diversity, indicating a significant number of closely-related haplotypes and suggesting that this population may have undergone a recent expansion. Tajima's  $D$  test and Fu's  $FS$  test suggested recent population growth. Pairwise  $F_{st}$  values were very low. The admixture and lack of genetic structuring found pointed to the populations analysed probably belonging to the same genetic unit. Therefore, a proper understanding and a sound knowledge of the level and distribution of genetic diversity in turbot is an important prerequisite for successful sustainable development and conservation strategies to preserve their evolutionary potential.

**РЕЗЮМЕ:** Калканът (*Scophthalmus maximus* L., 1758) е стопански ценен вид риба, класифициран като застрашен. Опазването и устойчивостта на популациите на калкана изисква познаване на генетичната структура на популацията и постоянен мониторинг на нейното биоразнообразие. Настоящото изследване е проведено с цел оценка на популационната структура на калкана по българското черноморско крайбрежие чрез

използване на седем двойки микросателити, два митохондриални ДНК маркера (СОIII и CR) и 23 морфологични (15 морфометрични и 8 меристични) характеристики. Генотипирани са 72 екземпляра от три района, като са идентифицирани 59 алела. Наблюдаваният брой алели на микросателитите превишава ефективния брой алели. Общите средни стойности на наблюдаваната ( $H_o$ ) и очакваната хетерозиготност ( $H_e$ ) са 0.638 и 0.685. Установена е висока скорост на миграция между популациите на калкана (обща средна стойност от  $Nm = 17.484$ ), с максимална стойност (19.498) между Шабла и Несебър. Този резултат съответства на ниското ниво на генетична диференциация сред тези популации (обща средна стойност  $F_{st} = 0.014$ ), като липсва корелация между генетичната и географска дистанция. Наблюдавано е високо ниво на генетично разнообразие в популациите. Средната стойност на индекса Garza-Williamson  $M$  за всички популации е ниска (0.359), което предполага намаляване на генетичната вариация поради ефекта на основаване или генетичен ботълнек. По отношение на митохондриалната ДНК са идентифицирани общо 17 хаплотипа за СОIII и 41 хаплотипа за CR. Контролният регион на митохондриалната ДНК показва високо хаплотипно разнообразие и много ниско нуклеотидно разнообразие със значителен брой тясно свързани хаплотипове и предполага, че тази популация може да е претърпяла скорошно разширяване.  $D$  тестът на Tajima и  $F_S$  тестът на Fu предполагат скоросен ръст на популацията. Стойностите на  $F_{st}$  са много ниски. Установеното смесване и липса на генетично структуриране показва, че анализирани популации вероятно принадлежат към една и съща генетична единица. Следователно, правилното разбиране и задълбочено познаване на нивото и разпространението на генетичното разнообразие при калкана е важна предпоставка за успешното устойчиво развитие и стратегии за опазване, за съхраняване на техният еволюционен потенциал.

**6.3.2-6.** Ivanova, P., Zlateva, I., Raykov, V., Yankova, M., **Dzhembekova, N.**, Slabakova, V., Raev, Y. Comparative Analysis of Morphometric and Meristic Characters of *Scophthalmus maximus* (Linnaeus 1758), Sampled in Four Different Sites Along the Bulgarian Black Sea Coast. Acta Zoologica Bulgarica, 2024, Supplement 18: 1-9.

**ABSTRACT:** Morphometric and meristic characters of fish are important for species differentiation, overall stock status assessment, in the analysis of the population structure and genetic variations within and between populations, and as an indicator for utilization of environmental resources or habitat diversity. Comparative analysis of morphometric and meristic characters of *Scophthalmus maximus* L., sampled in the regions of Shabla, Shkorpilovtsi, Nesebar and Tsarevo, along the Bulgarian Black Sea coast was carried out. Selected growth models as length-weight relationship (LWR) and relationships and ratios as standard length (SL) – total length (TL), head length (HL) – body depth/height (BD/BH), BD/BH – SL, were studied, aiming at identification of specific or significant differences in the sampled specimens and indirect differentiation of specific environment constraints in species habitat. The studied turbot populations demonstrated considerable intra-species morphometric variations, which are further to be justified by thorough analysis of genetic diversity at a local and regional level. Environmental differences between sites in the



sampling period have not been recorded and the species habitat appeared to be homogenous in terms of abiotic environment.

**РЕЗЮМЕ:** Морфометричните и меристичните характеристики на рибите са важни за диференциацията на видовете, цялостната оценка на състоянието на запасите, при анализа на структурата на популацията и генетичните вариации в рамките на и между популациите и като индикатор за използване на ресурсите на околната среда или разнообразието на местообитанията. Извършен беше сравнителен анализ на морфометрични и меристични характеристики на вида *Scophthalmus maximus* L., по българското черноморско крайбрежие, от районите на Шабла, Шкорпиловци, Несебър и Царево. Избрани модели на растеж, като връзка дължина-тегло (LWR) и връзки и съотношения като стандартна дължина (SL) – обща дължина (TL), дължина на главата (HL) – дълбочина/височина на тялото (BD/BH), BD/BH – SL, бяха проучени с цел идентифициране на специфични или статистически значими разлики в пробите и непряка диференциация на специфични ограничения на околната среда в местообитанието на вида. Изследваните популации на калкан демонстрират значителни вътревидови морфометрични вариации, които допълнително трябва да се изследват чрез задълбочен анализ на генетичното разнообразие на местно и регионално ниво. Екологични разлики между сайтовете за пробонабиране не са регистрирани и местообитанието на вида е хомогенно по отношение на абиотичните параметри.

**6.3.2-7.** Yankova, M., Raykov, V., Ivanova, P., **Dzhembekova, N.**, Turan, C., Raev, Y. Morphological and genetic characteristics of garfish *Belone belone* (L., 1760) (Belonidae, Teleostei) population from the southern Bulgarian Black Sea coast. *Nature Conservation*, 2023, 54: 1-12. [DOI](#)

**ABSTRACT:** This study was conducted to investigate genetic and some morphometric and meristic characteristics of garfish *Belone belone* from Nesebar in the Bulgarian Black Sea coast. Twelve morphometric characters were measured, and six meristic characters were counted for each individual. Based on both sexes' morphological and meristic analyses, no statistically significant sexual differences were observed. Additionally, DNA barcoding was done. The fragment of the cytochrome oxidase subunit I (COI) gene of mitochondrial DNA was sequenced to supplement the species identification and population diversity study. Two haplotypes were found out of 39 sequences, indicating a low level of haplotype diversity ( $0.146 \pm 0.072$ ). Nucleotide diversity was also found to be low ( $0.00023 \pm 0.00011$ ). The Nesebar population of *B. belone* requires conservation efforts, due to the highly decreased mtDNA genetic diversity.

**РЕЗЮМЕ:** Изследването беше проведено с цел проучване на генетични и някои морфометрични и меристични характеристики на зарган *Belone belone* от българското черноморско крайбрежие – Несебър. Бяха измерени 12 морфометрични признака и преброени шест меристични признака за всеки индивид. Въз основа на морфологичните и меристичните анализи на двата пола не бяха наблюдавани статистически значими полови разлики. Допълнително беше направено ДНК баркодиране. С цел видова идентификация и популационен анализ, беше секвениран фрагмент от гена на цитохромоксидазната субединица I (COI) на митохондриалната

ДНК. От изследваните 39 секвенции, бяха установени два хаплотипа, показващо ниско ниво на хаплотипно разнообразие ( $0.146 \pm 0.072$ ). Установено беше и ниско нуклеотидно разнообразие ( $0.00023 \pm 0.00011$ ). Ниското генетично разнообразие на мтДНК на несебърската популация на *B. belone* е индикация за нуждата от опазване.

**6.3.2-8.** Zlateva, I., Ivanova, P., **Dzhembekova, N.**, Doncheva, V., Popov, I., Slabakova, V., Raev, Y., Raykov, V., Dimitrov, D. Spatial Distribution and Genetic Diversity of Turbot (*Scophthalmus maximus*, Linnaeus, 1758) in Bulgarian Black Sea Waters Relative to Fishing Pressure and Their Abiotic Environment. Journal of Marine Science and Engineering, 2023, 11: 1982. [DOI](#)

**ABSTRACT:** The present study examined the genetic diversity and spatial distribution of turbot (*Scophthalmus maximus*), an economically important species on the Bulgarian Black Sea coast. Maximum entropy (MaxEnt) modeling software Version 3.4.4. was utilized to develop a habitat suitability model for *S. maximus* in the Bulgarian Black Sea region. Data collected via demersal and pelagic surveys and genetic sampling from 2017 to 2021 were utilized to link species occurrence localities with selected abiotic factors. Our findings showed that the species' habitat preferences are strongly influenced by temperature and dissolved oxygen, and projections based on simplified climatic scenarios indicated potential distribution shifts and a substantial reduction in reproduction habitats in the northern region. The assessment of genetic diversity was based on mtDNA COIII sequencing; MtDNA revealed a low level of polymorphism in all analyzed populations. The extensive fishing pressure may have increased the likelihood of genetic and population bottlenecks and a consequent decline in genetic diversity in the Shabla, Nesebar, and Tsarevo populations. The Tajima's D values for the latter indicated that turbot underwent a bottleneck followed by rapid population expansion. Our findings are essential for the conservation and effective management of *S. maximus* stocks in the region.

**РЕЗЮМЕ:** Настоящото изследване проучва генетичното разнообразие и пространственото разпространение на калкана (*Scophthalmus maximus*), стопански ценен вид по българското черноморие. За разработване на модел за пригодност на местообитанието за *S. maximus* в българския черноморски регион беше използван софтуер за моделиране на максимална ентропия (MaxEnt) Версия 3.4.4. Данните, събрани чрез дънни и пелагични проучвания и генетични анализи в периода от 2017 г. до 2021 г., бяха използвани за изследване на връзката между местонахожденията на вида и избрани абиотични фактори. Нашите открития демонстрират, че предпочитанията на вида към местообитанията са силно повлияни от температурата и разтворения кислород, а прогнозите, базирани на опростени климатични сценарии, показват потенциални промени в разпространението и значително намаляване на местообитанията за възпроизвеждане в северния регион. Оценката на генетичното разнообразие на база секвениране на мтДНК COIII разкрива ниско ниво на полиморфизъм във всички анализирани популации. Екстензивният риболовен натиск може да е увеличил вероятността от генетични и популационни ботълнек ефекти и последващо намаляване на генетичното разнообразие в популациите на Шабла, Несебър и Царево. Стойностите Tajima's D показват, че калканът е претърпял

ботълнек, последван от бързо разширяване на популацията. Получените резултати са от съществено значение за опазването и ефективното управление на запасите от *S. maximus* в региона.

**6.3.2-9.** Zlateva, I., Raykov, V., Alexandrova, A., Ivanova, P., Chipev, N., Stefanova, K., **Dzhembekova, N.**, Doncheva, V., Slabakova, V., Stefanova, E., Mihova, S., Valcheva, N., Hristova, O., Dzhurova, B., Dimitrov, D., Georgieva, A., Tsvetanova, E., Andreeva, M., Popov, I., Yankova, M., Raev, Y., Petrov, K. Effects of anthropogenic and environmental stressors on the current status of red mullet (*Mullus barbatus* L., 1758) populations inhabiting the Bulgarian Black Sea waters. *Nature Conservation*, 2023, 54, 55-79. [DOI](#)

**ABSTRACT:** The red mullet (*Mullus barbatus* Linnaeus, 1758) is a keynote species for the Bulgarian Black Sea ecosystem and fisheries; nevertheless, existing knowledge on population status is very scarce. The present study was intended to assess the health status and adaptive potential of *M. barbatus* populations inhabiting the Bulgarian waters of the Black Sea. Our findings revealed that populations of *M. barbatus* are exposed to a variety of anthropogenic and environmental stressors. The species' status was assessed using representative genetic, morphological, biochemical and chemical biomarkers from specimens obtained in the research area's northern and southern regions. Based on mtDNA markers, genetic analysis revealed low haplotype and nucleotide diversity, typically observed in overexploited or "threatened" populations. Examining the morphology of the specimens revealed no discernible pattern of differentiation. Except for aluminium and chrome, metal and PAH concentrations in fish were below the regulatory thresholds. The specimens from the southern region ingested more microplastics than those from the northern region. The majority of specimens collected from the southern region also exhibited elevated levels of oxidative stress and decreased antioxidant defence, which can be interpreted as an early indication that they had reached the limits of their adaptive potential. Further research on the composite effects of the stressogenic environment on the Black Sea biota are critically needed, as well as the introduction of new indicators and thresholds at molecular and cellular levels for adequate monitoring of both the ecological state of the marine environment and its biota.

**РЕЗЮМЕ:** Барбунът (*Mullus barbatus* Linnaeus, 1758) е важен вид за българската черноморска екосистема и риболов; въпреки това съществуващите познания за състоянието на популацията са много оскъдни. Настоящото изследване има за цел да оцени здравния статус и адаптивния потенциал на популациите на *M. barbatus*, обитаващи българските води на Черно море. Нашите резултати показаха, че популациите на *M. barbatus* са изложени на различни антропогенни и екологични стресови фактори. Състоянието на вида беше оценено с помощта на представителни генетични, морфологични, биохимични и химични биомаркери от проби, събрани в северните и южните райони на изследване. Въз основа на митохондриални ДНК маркери беше установено ниско хаплотипно и нуклеотидно разнообразие, обикновено наблюдавано при свръхексплоатирани или „застрашени“ популации. Морфологичните изследвания не дискриминираха забележим модел на диференциация. С изключение на алуминия и хрома, концентрациите на метали и ПАВ в рибите са под нормативните прагове. Екземплярите от южния регион са погълнали повече микропластмаси от тези

от северния регион. По-голямата част от екземплярите, събрани от южния регион, показват повишени нива на оксидативен стрес и намалена антиоксидантна защита, което може да се тълкува като ранна индикация, че са достигнали границите на своя адаптивен потенциал. От изключителна важност е провеждане на допълнителни изследвания на комбинираните ефекти на стресогенната среда върху черноморската биота, както и въвеждането на нови индикатори и прагове на молекулярно и клетъчно ниво за адекватен мониторинг както на екологичното състояние на морската среда, така и на нейната биота.

**6.3.2-10.** Zidarova, R., Ivanov, P., **Dzhembekova, N.** Diatom colonization and community development in Antarctic marine waters - a short term experiment. Polish Polar Research, 2020, 41 (2): 187-212. [DOI](#)

**ABSTRACT:** Main aim of the study was to search for possible differences in diatom colonization and their communities under the influence of glacier meltwater inflow and when unaffected by glacier meltwater, and also to define the time needed for the development of diatom communities on newly submerged substrates at small depths in Antarctica. We used artificial substrates (Plexiglass© tiles), submerged at a depth of 1 m below the sea surface at two locations at the South Bay of Livingston Island: (1) Johnsons Dock – a cove, known to receive glacier meltwater with sediments, and (2) outside the cove, generally unaffected by glacial meltwater. Samples from the natural epilithon at similar depth were also taken as a reference for diatom community structure. Statistical testing the differences between the two sites was not possible this time, but the samples allowed us to compare the sites in terms of diatom growth, species richness, diversity and evenness changes in diatom communities along the time of the experiment at both sites and with the natural epilithon at similar depths. Diatom colonization followed the three-phases scheme (colonization, logarithmic growth and equilibrium) as in other latitudes. Based on the valve density and community indices e.g. species richness, diversity (1-D) and evenness ( $J'$ ), we consider that at least three weeks might be necessary to obtain sufficiently representative for the environment diatom communities on new substrates at small depths in Antarctica, in conditions similar to those of South Bay. No particular differences between the sites were noted in the colonization scheme, but the diversity (1-D) and evenness ( $J'$ ) were higher at glacier influenced site, as well as the number of the valves on the substrates. Sea ice diatoms prevailed at the glacier influenced site. We suggest that species exchange between the sea ice and other hard substrates do exist, at least for some taxa, and such species might be indicative for variations in both salinity and water transparency, related to glacial meltwater inflow.

**РЕЗЮМЕ:** Основната цел на изследването беше да се търсят възможни разлики в колонизацията на диатомеи и техните съобщества под въздействието на притока на ледникова вода и когато не са засегнати от ледниковата вода, както и да се определи времето, необходимо за развитието на диатомейните съобщества върху новопотопени субстрати на малки дълбочини в Антарктика. Използвахме изкуствени субстрати (плочки от плексиглас), потопени на дълбочина 1 м под морската повърхност на две места в Южния залив на остров Ливингстън: (1) Джонсънс Док – залив, за който е известно, че приема ледникова вода със седименти и (2) извън залива, като цяло

незасегнат от ледниковата вода. Проби от естествения епилитон на подобна дълбочина също бяха взети като референтни за структурата на диатомейното съобщество. Статистическият анализ на разликите между двете места не беше възможно, но пробите ни позволиха да сравним местата по отношение на развитието на диатомеите, видовото богатство, разнообразието и равномерността на промените в съобществата на диатомеите по време на експеримента на двете места и с естествения епилитон на подобни дълбочини. Колонизацията на диатомеите следва трифазовата схема (колонизация, логаритмичен растеж и равновесие), както е в други географски ширини. Въз основа на индексите на плътността на клетките и индекси за оценка на съобществата, напр. видово богатство, разнообразие (1-D) и равномерност (J'), считаме, че може да са необходими поне три седмици, за да се получат достатъчно представителни за околната среда диатомейни съобщества върху нови субстрати на малки дълбочини в Антарктика, в условия, подобни на тези в Южен залив. Не са отбелязани особени разлики между местата по отношение на схемата за колонизация, но разнообразието (1-D) и равномерността (J') са по-високи на мястото, повлияно от ледника, както и броят на клетките на субстратите. Диатомеите от морски лед преобладават на мястото, повлияно от ледника. Предполагаме, че съществува обмен на видове между морския лед и други твърди субстрати, поне за някои таксони, и такива видове могат да бъдат показателни за вариации както в солеността, така и в прозрачността на водата, свързани с притока на ледникова вода.

**6.3.2-11.** Zidarova, R., Hineva, E., Ivanov, P., **Dzhembekova, N.** Diatom communities on an artificial substratum at two contrasting sites at South Bay, Livingston Island. Polish Polar Research, 2022, 43 (3): 187-222. [DOI](#)

**ABSTRACT:** We used an artificial substratum (plexiglass tiles) to compare diatom communities at three different depths at two sites differing in their hydrological conditions and glacier melt-water influence. Samples at 1 m depth were taken during early summer in 2018, whereas samples at 3 m and 6.5 m were obtained in late summer 2020. The tiles were submerged for a period of up to 45 days in 2018, and up to 34 days in 2020. Water temperature, salinity, conductivity, oxygen saturation and concentrations, and Secchi depth were measured multiple times at both sites. During late summer of 2020 Photosynthetically Active Radiation (PAR) was also measured at depths of 3, 6.5 and 10 m at both sites. A total of 50 taxa constituted the diatom communities. Colonization and community development followed the same scheme at both sites and at all depths, with an early establishment of the dominant taxa, and a decline in species richness, diversity and evenness indices over the time towards relatively stable low values. Based on the results of PERMANOVA, ANOSIM and SIMPER analyses, diatom communities were site-specific, with 49% dissimilarity between the sites. Mechanical disturbances, such as wave action and ice scouring, as well as depth (and light availability) seemed to be the main factors driving the differences. The motile *Navicula* aff. *perminuta* dominated under mechanical disturbances at various light conditions, *Navicula glaciei* preferred calm shallow waters, and erect diatom growth forms were present in higher numbers in deeper waters with deteriorated light conditions.



**РЕЗЮМЕ:** Използвахме изкуствен субстрат (плочки от плексиглас), за да сравним съобществата от диатомови водорасли на три различни дълбочини в две локации, различаващи се по своите хидрологични условия и влиянието на ледниковата вода. В началото на лятото на 2018 г. бяха събрани проби на дълбочина 1 м, а в края на лятото на 2020 г. бяха събрани проби на дълбочина 3 м и 6.5 м. Плочките бяха потопени за период до 45 дни през 2018 г. и до 34 дни през 2020 г. Температурата на водата, солеността, проводимостта, насищането и концентрацията на кислород, и прозрачността (диск на Секки) бяха измерени многократно и на двете локации. През късното лято на 2020 г. фотосинтетично активната радиация (ФАР) също беше измерена на дълбочини от 3, 6.5 и 10 м и на двете места. Диатомейните съобщества бяха съставени от общо 50 таксона. Колонизацията и развитието на съобществото следват една и съща схема на двете места и на всички дълбочини, с ранно установяване на доминиращите таксони и спад във видовото богатство, разнообразието и индексите на равномерност с течение на времето към относително стабилни ниски стойности. Въз основа на резултатите от статистическите анализи, PERMANOVA, ANOSIM и SIMPER, е установено, че диатомейните съобщества са специфични за локацията, с 49% разлика между пунктовете. Механичните смущения, като вълновата дейност и изтъркването на леда, както и дълбочината (и наличието на светлина) изглежда са основните фактори, водещи до разликите. Подвижната *Navicula* aff. *perminuta* доминира при механични смущения при различни светлинни условия, *Navicula glaciei* предпочита спокойни плитки води, а прикрепените растежни форми на диатомеите присъстват в по-голям брой в по-дълбоки води с влошени светлинни условия.

**6.3.2-12.** Zidarova, R., Ivanov, P., Hineva, E., **Dzhembekova, N.** Diversity and habitat preferences of benthic diatoms from South Bay (Livingston Island, Antarctica). *Plant Ecology and Evolution*, 2022, 155 (1): 70-106. [DOI](#)

**ABSTRACT:**

**Background and aims** – Despite a long research history, knowledge of Antarctic marine benthic diatoms is fragmentary. This study reports on marine benthic diatoms from South Bay, Livingston Island, focusing on diatoms living on hard substrata, and species distribution across different coastal habitats.

**Material and methods** – Samples were collected from tidal pools (19), intertidal cobbles (9), artificial substrata installed at various depths (10), coastal rocks (2), and bottom sediments at depths > 20 m (2). Species identifications and community analyses were done using LM with additional information obtained using SEM. nMDS based on diatom abundance data was applied to display differences between the samples by habitat/substratum type and sampling month. The significance of the habitat/substratum type and sampling month on diatom communities was checked with PERMANOVA. Similarity/dissimilarity within and between sample groups and their contributing species were explored with SIMPER.

**Key results** – In total, 133 diatom taxa were recorded, of which 110 are benthic. A large number of taxa could not be certainly identified. Taxonomic remarks and ecology and distribution data for some rarely reported species with convoluted taxonomic and nomenclatural histories are given. One new combination is proposed. Diatom communities

were influenced by the habitat/substratum type, but not by seasonality. Significant differences existed between communities in tidal pools and those on cobbles, artificial substrata, and sediments, and between those on sediments and artificial substrata. *Navicula* aff. *perminuta* dominated on cobbles and often on artificial substrata. Species forming mucilage tubes, tree-like colonies, and chains of cells embedded in mucilage were restricted to tidal pools.

**Conclusion** – Benthic diatom communities from South Bay are highly diverse and species show distinct distributions in the coastal habitats, but the scarce studies and often confusing nomenclature history of the taxa make their identification challenging, and potentially common species for the region remain unknown.

#### **РЕЗЮМЕ:**

**Преглед и цели** – Въпреки дългата история на изследванията, познаването на антарктическите морски бентосни диатомеи е фрагментарно. Това проучване дава информация за морските бентосни диатомеи от Саут Бей, остров Ливингстън, като се фокусира върху диатомеите, живеещи върху твърди субстрати и разпространението на видове в различни крайбрежни местообитания.

**Материали и методи** – Бяха събрани проби от приливни басейни (19), междуотливни камъни (9), изкуствени субстрати, поставени на различни дълбочини (10), крайбрежни скали (2) и дънни седименти на дълбочини > 20 м (2). Идентификацията на видовете и анализите на съобществата бяха направени с помощта на светлинен микроскоп, като допълнителна информация беше получена с помощта на сканиращ електронен микроскоп. Статистически анализ (nMDS), базиран на данни за числеността на диатомеите, беше приложен за установяване на различия между пробите по тип местообитание/субстрат и месец на пробонабиране. Значението на влиянието на типа местообитание/субстрат и месеца на пробонабиране върху диатомейните съобщества беше проверено с PERMANOVA. Сходството/несходството в рамките на и между групите проби и техните допринасящи видове бяха изследвани със SIMPER.

**Ключови резултати** – Регистрирани бяха общо 133 таксона диатомеи, от които 110 бентосни. Голям брой таксони не можаха да бъдат точно идентифицирани. Дадени бяха таксономични бележки и данни за екологията и разпространението на някои рядко съобщавани видове със сложна таксономична и номенклатурна история. Предложена е една нова комбинация. Беше установено, че съобществата на диатомеите са повлияни от типа местообитание/субстрат, но не и от сезонността. Установени бяха значителни разлики между съобществата в приливни басейни и тези върху камъни, изкуствени субстрати и седименти, както и между тези върху седименти и изкуствени субстрати. *Navicula* aff. *perminuta* доминира върху камъните и често върху изкуствените субстрати. Видове, образуващи слузни тръби, дървоподобни колонии и вериги от клетки, вградени в слуз, бяха ограничени до приливните басейни.

**Заклучение** – Бентосните диатомейни съобщества от Саут Бей са силно разнообразни и видовете показват ясно разпределение в крайбрежните местообитания, но оскъдните проучвания и често обърканата номенклатурна история на таксоните правят

идентифицирането им предизвикателство и потенциално често срещаните видове за региона остават неизвестни.

**6.3.2-13.** Zidarova, R., Ivanov, P., **Dzhembekova, N.**, de Haan, M., Van de Vijver, B. Two new *Halamphora* (Bacillariophyta) species from the marine coasts off Livingston Island, Antarctica. *PhytoKeys*, 2022, 195: 161-174. [DOI](#)

**ABSTRACT:** During a survey of the marine benthic diatom flora on the coasts off Livingston Island (South Shetland Islands, Maritime Antarctic Region), two *Halamphora* species that could not be identified based on the currently available literature, were observed. Detailed light and scanning electron microscopy observations and thorough comparison with similar taxa in the literature revealed that both taxa should be described as new species. The first taxon, *Halamphora kenderoviana* **sp. nov.**, was most likely misidentified in past Antarctic studies, and included within the range of another taxon, *Halamphora coffeaeformis*. Analysis of literature data showed that the second new taxon, *Halamphora moncheviana* **sp. nov.**, has been previously reported from the Antarctic Continent (but as an unidentified species). The new taxa are compared with similar *Halamphora* taxa worldwide. Data on their ecology and distribution are also provided.

**РЕЗЮМЕ:** По време на проучване на морската бентосна диатомейна флора по бреговете на остров Ливингстън (Южни Шетландски острови, морски антарктически регион) бяха регистрирани два вида *Halamphora*, които не могат да бъдат идентифицирани въз основа на наличната в момента литература. Подробни изследвания със светлинен и сканиращ електронен микроскоп и задълбочено сравнение с подобни таксони в литературата разкриха, че и двата таксона трябва да бъдат описани като нови видове. Първият таксон, *Halamphora kenderoviana* **sp. nov.**, най-вероятно е погрешно идентифициран в минали антарктически проучвания и е включен в обхвата на друг таксон, *Halamphora coffeaeformis*. Анализът на литературните данни показва, че вторият нов таксон, *Halamphora moncheviana* **sp. nov.**, е съобщаван преди това от Антарктическият континент (но като неидентифициран вид). Новите таксони се сходни с подобни таксони на *Halamphora* по света. Предоставени са и данни за тяхната екология и разпространение.

**6.3.2-14.** Karachle, P. K., Corsini Foka, M., Crocetta, F., Dulčić, J., **Dzhembekova, N.**, Galanidi, M., Ivanova, P., Shenkar, N., Skolka, M., Stefanova, E., Stefanova, K., Surugiu V., Uysal I., Verlaque M., Zenetos, A. Setting-up a billboard of marine invasive species in the ESENIAS area: current situation and future expectancies. *Acta Adriatica*, 2017, 58 (3): 429-458. [Link](#)

**ABSTRACT:** In this study we present a list of invasive/potential invasive alien species in the East and South European Network for Invasive Alien Species (ESENIAS) countries with marine borders. The species were classified according to the existing literature and experts' judgment, as established, casual, invasive and expected. Finally, factsheets were compiled for ten species of high importance based on their expanding/invading character. Of the 160 species comprising the list, 149 were already present in the ESENIAS countries, while eleven were invasive species either present in the Mediterranean or in other European Seas, likely to be recorded in the ESENIAS countries. The majority of the species were of Red Sea/Indo-

Pacific origin (97 species; 60.6%). Italy, Turkey and Greece were the countries with the highest representation of species (159, 152 and 139 species respectively), due to their extended coastline and the number of scholars working on marine invasive species. The highest number of established species was recorded in Turkey (116 species), whereas in Italy and Greece the most numerous species were the “expected” ones (85 and 48 species, respectively). The eastern Adriatic Sea countries (i.e. Albania, Croatia, Montenegro and Slovenia) had generally low numbers of species in this list, many of which are still “expected” to arrive from the neighbouring countries of Greece and Italy. Finally, the most frequently potential pathway was transfer stowaways (ship ballast water: 41 cases; ship hull fouling: 55), whereas unaided spread of Lessepsian immigrants followed (95 cases). This list is intended to serve as an early warning system that through horizon scanning process would assist ESENIAS countries to prioritise invasive alien species, their pathways and the areas of higher likelihood to appear, in order to take management measures.

**РЕЗЮМЕ:** В това проучване ние представяме списък на инвазивни/потенциално инвазивни чужди видове в страните от източно- и южноевропейската мрежа за инвазивни чужди видове (ESENIAS) с морски граници. Видовете бяха класифицирани според съществуващата литература и преценката на експертите, като установени, случайни, инвазивни и очаквани. Съставени бяха информационни листове за десет вида с голямо значение въз основа на техния разширяващ се / инвазивен характер. От 160 вида, съставляващи списъка, 149 вече присъстват в страните от ESENIAS, докато единадесет са инвазивни видове, присъстващи или в Средиземно море, или в други европейски морета, и вероятно ще бъдат регистрирани в страните от ESENIAS. По-голямата част от видовете са с произход от Червено море/Индийския и Тихия океан (97 вида; 60.6%). Италия, Турция и Гърция са страните с най-голямо представителство на видовете (съответно 159, 152 и 139 вида), поради тяхната разширена брегова линия и броя на учените, работещи върху морски инвазивни видове. Най-много установени видове са регистрирани в Турция (116 вида), докато в Италия и Гърция най-много са „очакваните” видове (съответно 85 и 48 вида). Страните от източната част на Адриатическо море (Албания, Хърватия, Черна гора и Словения) като цяло имат малък брой видове в този списък, много от които все още се „очакват“ да навлязат от съседните страни Гърция и Италия. Най-честият потенциален път е чрез трансфер (чрез баластните води на корабите: 41 случая, обрастване на корпуса на корабите: 55), последвано от разпространение през Суетския канал (95 случая). Този списък е предназначен да служи като система за ранно предупреждение, която чрез процеса на сканиране би помогнала на страните от ESENIAS да дадат приоритет на инвазивните чужди видове, техните пътища и областите с по-голяма вероятност да се появят, за да предприемат мерки за тяхното управление.

**6.3.2-15.** Danovaro R., Carugati L., Berzano M., Cahill A., Carvalho S., Chenuil A., Corinaldesi C., Cristina S., David R., Dell'Anno A., **Dzhembekova N.**, Garcés E., Gasol J., Goela P., Féral J., Rastelli E., Marinova V., Miller P., Moncheva S., Newton A., Pearman J., Pitois S., Reñé A., Rodríguez-Ezpeleta N., Saggiomo V., Simis S., Stefanova K., Wilson C., Martire M., Greco S., Cochran S., Mangoni O., Borja A., Kurekin A., Forster R., Ferrera I. Implementing and Innovating Marine Monitoring Approaches for Assessing Marine Environmental Status. *Frontiers in Marine Science*, 2016, 3: 1-25. [DOI](#)

**ABSTRACT:** Marine environmental monitoring has tended to focus on site-specific methods of investigation. These traditional methods have low spatial and temporal resolution and are relatively labor intensive per unit area/time that they cover. To implement the Marine Strategy Framework Directive (MSFD), European Member States are required to improve marine monitoring and design monitoring networks. This can be achieved by developing and testing innovative and cost-effective monitoring systems, as well as indicators of environmental status. Here, we present several recently developed methodologies and technologies to improve marine biodiversity indicators and monitoring methods. The innovative tools are discussed concerning the technologies presently utilized as well as the advantages and disadvantages of their use in routine monitoring. In particular, the present analysis focuses on: (i) molecular approaches, including microarray, Real Time quantitative PCR (qPCR), and metagenetic (metabarcoding) tools; (ii) optical (remote) sensing and acoustic methods; and (iii) in situ monitoring instruments. We also discuss their applications in marine monitoring within the MSFD through the analysis of case studies in order to evaluate their potential utilization in future routine marine monitoring. We show that these recently-developed technologies can present clear advantages in accuracy, efficiency and cost.

**РЕЗЮМЕ:** Мониторингът на морската околна среда се фокусира върху специфични методи на изследване. Тези традиционни методи имат ниска пространствена и времева разделителна способност и са относително трудоемки за единица площ/време, което покриват. За да приложат Рамковата директива за морска стратегия (РДМС), от европейските държави-членки се изисква да подобрят мониторинга на морето и да проектират мрежи за мониторинг. Това може да се постигне чрез разработване и тестване на иновативни и икономически ефективни системи за мониторинг, както и на индикатори за състоянието на околната среда. Тук представяме няколко наскоро разработени методологии и технологии за подобряване на индикаторите за морското биоразнообразие и методите за мониторинг. Иновативните инструменти са дискутирани по отношение на използваните в момента технологии, както и предимствата и недостатъците от прилагането им при рутинно наблюдение. По-специално, настоящият анализ се фокусира върху: (i) молекулярни подходи, включително микроарей, количествен PCR в реално време (qPCR) и метагенетични инструменти (метабаркодиране); (ii) оптични (дистанционни) сензорни и акустични методи; и (iii) инструменти за мониторинг на място (in situ). Обсъдени са и техните приложения в морския мониторинг в рамките на MSFD чрез анализ на казуси, за да оценим потенциалното им използване в бъдещ рутинен морски мониторинг. Ние



демонстрираме, че тези наскоро разработени технологии могат да представят ясни предимства по отношение на точност, ефективност и разходи.

### 6.3.3. Научни публикации в издания, които не са реферирани или индексирани в световноизвестни бази данни с научна информация (Web of Science и Scopus)

**6.3.3-1.** Zlateva, I., **Dzhembekova, N.**, Rubino, F., Slabakova, N., Slabakova, V., Moncheva, S. Spatial Distribution of Cyst Morphotypes of *Scrippsiella acuminata* Complex in the Black Sea Surface Sediments in Relation to Environmental Factors. Proceedings of International conference on marine sciences and technologies Black Sea 2020, Varna Scientific And Technical Unions, 2020, 40-46. [Link](#)

**ABSTRACT:** The present research aimed to disclose a link between the spatial distribution and abundance of different cyst morphotypes of *Scrippsiella acuminata* and in situ environmental variables. Surface sediment samples collected at 30 sites in the Black Sea, were screened for *Scrippsiella acuminata* cyst morphotypes presence during spring and summer. The cysts data were analyzed along with environmental in situ sampling site variables (temperature, salinity, water transparency, Chlorophyll a, ammonia, nitrates and phosphates concentrations). Canonical correspondence analysis (CCA) was employed to the in situ data to expand our understanding of specific morphotypes traits/environment relationships and niche breadth. The analysis highlighted statistically significant model, linking *Scrippsiella acuminata* cysts morphotypes distribution with temperature, salinity and eutrophication.

**РЕЗИОМЕ:** Настоящото изследване има за цел да разкрие връзката между пространственото разпределение и изобилието на различни морфотипове на цисти на *Scrippsiella acuminata* и in situ променливите на околната среда. Проби от повърхностни седименти, събрани в 30 пункта в Черно море, бяха изследвани за наличие на морфотипове на *Scrippsiella acuminata* през пролетта и лятото. Данните за цистите бяха анализирани заедно с променливите на средата, регистрирани по време на пробонабирането (температура, соленост, прозрачност на водата, концентрация на хлорофил а, амоняк, нитрати и фосфати). Приложеният статистически анализ (Canonical correspondence analysis – CCA) беше използван за in situ данните, за да разшири нашето разбиране за специфични зависимости между морфотипове/околна среда и реализираната ниша. Анализът подчертава статистически значим модел, свързващ разпределението на морфотипите на цистите на *Scrippsiella acuminata* с температурата, солеността и еутрофикацията.

**6.3.3-2.** **Dzhembekova, N.**, Moncheva, S., Ivanova, P., Slabakova, N., Nagai, S. Molecular taxonomy – new insights for potentially toxic phytoplankton species in the Black Sea. Humboldt Kolleg - Science without Borders: Alexander von Humboldt's Concept in Today's World, Proceedings of the Humboldt Kolleg, Varna, September 18 – 21, 2019, Faber Publishing House, 2020, 90-100. [Link](#)

**ABSTRACT:** The innovative metagenetic approach was applied to both water column and sediment samples to explore “realized” and “hidden” microalgal diversity. The results revealed much higher microalgal species diversity in the Black Sea than previously

described. In planktonic communities, 13 operational taxonomic units (OTUs) associated with potentially toxic species were detected, based on amplifying 18S V4-V5 rRNA gene regions from some of them (e.g. *Aureococcus anophagefferens*, *Karenia bicuneiformis*, *Karlodinium veneficum*, and *Pfiesteria piscicida*) hereby reported for the first time in the Black Sea. Among the resting stages in the benthic communities assessed by using 18S V7-V9 rRNA gene regions, 21 OTUs were assigned to harmful microalgae, most of them not yet identified morphologically in Black Sea sediments (e.g. *Azadinium dexteroporum*, *A. poporum*, *Amphidoma languida*, *Karenia papilionacea*, and *Fibrocapsa japonica*). The new approach provides a perspective for more precise identification of species and, in particular, for detection of harmful algal bloom species and their resting stages, which is instrumental for the implementation of robust monitoring programs and ecological risk assessment studies.

**РЕЗЮМЕ:** Приложен е иновативен метагенетичен подход за анализ на проби както от водния стълб, така и от седименти, за изследване на „видимото“ и „скритото“ микроводорасло разнообразие. Резултатите разкриват много по-голямо разнообразие на микроводорасли в Черно море в сравнение с описаното по-рано. На базата на амплифициране на 18S V4-V5 рРНК генни региони, в планктонните съобщества са открити 13 оперативни таксономични единици, асоциирани с потенциално токсични видове, някои от които (*Aureococcus anophagefferens*, *Karenia bicuneiformis*, *Karlodinium veneficum* и *Pfiesteria piscicida*) са съобщени за първи път в Черно море. Сред покоящите стадии в бентосните съобщества, оценени чрез използване на 18S V7-V9 рРНК генни региони, 21 оперативни таксономични единици бяха определени като вредни микроводорасли, повечето от които не са идентифицирани морфологично в седиментите на Черно море (напр. *Azadinium dexteroporum*, *A. poporum*, *Amphidoma longuda*, *Karenia papilionacea* и *Fibrocapsa japonica*). Новият подход предоставя перспектива за по-прецизно идентифициране на видовете и особено за откриване на видове, предизвикващи вредни цъфтежи в етапите на покоящите им стадии, което е инструмент за прилагане на ефективни програми за мониторинг и проучвания за оценка на екологичния риск.

**6.3.3-3.** Ivanova, P., Dzhembekova, N., Atanassov, I., Rusanov, K., Raykov, V., Zlateva, I., Yankova, M. Applicability of Control Region of Mitochondrial DNA for Assessment of Turbot Populations Along the Bulgarian Black Sea Coast. Proceeding of 1st International conference on Environmental protection and disaster RISKS, Az-buki National Publishing House, Sofia, 2020, 221-230. [DOI](#)

**ABSTRACT:** Turbot is a valuable commercial fish species classified as endangered. Knowledge of the level and distribution of genetic diversity in turbot is important for designing conservation strategies for their sustainable survival and to preserve their evolutionary potential. Mitochondrial control region sequences were investigated to evaluate variability in population genetic structure of one population along the northern Black Sea coast. 19 CR haplotypes were found in the Shabla population, which were shared with turbot haplotypes, previously described for the Black Sea and the Mediterranean. A pattern with a high level of haplotype diversity ( $h = 0.954 \pm 0.022$ ) and a very low level of nucleotide diversity ( $\pi = 0.00563 \pm 0.00063$ ) indicated a high number of closely related haplotypes and

suggested that this population may have undergone a recent expansion. Tajima's D test and Fu's FS test both suggest recent population growth. The haplotypes found in the Shabla population were typical for the north Black Sea populations and could be used for distinguishing the population along the Bulgarian Black Sea coast.

**РЕЗЮМЕ:** Калканът е стопански ценен вид риба, класифициран като застрашен. Познаването на нивото и разпространението на генетичното разнообразие при калкана е важно за разработването на стратегии за оцеляване и за запазване на техния еволюционен потенциал. Секвенциите на митохондриалния контролен регион бяха анализирани, за да се оцени вариабилността в популационно-генетичната структура на една популация калкан от северната масг от българсконо черноморско крайбрежие. В популацията от Шабла са открити 19 CR хаплотипа, срещани по-рано при калкана в Черно и Средиземно морета. Високото ниво на хаплотипно разнообразие ( $h = 0.954 \pm 0.022$ ) и много ниското ниво на нуклеотидно разнообразие ( $\pi = 0.00563 \pm 0.00063$ ) показват голям брой тясно свързани хаплотипове и предполага, че тази популация може да е претърпяла скорошно разширяване. D тестът на Tajima и FS тестът на Fu предполагат скорошен ръст на популацията. Установените за популацията на Шабла хаплотипове са характерни за тези, наблюдавани за северното черноморско крайбрежие и имат потенциал да се използват за разграничаването на популациите по българското черноморско крайбрежие.

#### 6.4. ДРУГИ ПУБЛИКАЦИИ

**6.4-1.** Доклад анализ на състоянието на морската околна среда – 2017 г. ИО-БАН, Варна, 2022, 359-380.

**ABSTRACT:** A new element - Potentially toxic phytoplankton species, within the indicator Harmful Phytoplankton Blooms (Descriptor 5 - Eutrophication) was tested for the analysis of the state of the marine environment in 2017 through an integrated approach - quantitative microscopic data and metabarcoding. A constant presence of potentially toxic phytoplankton and a better resolution of the molecular method for species detection were found. The applicability of the new element has been assessed and recommendations have been made for future use in the Black Sea monitoring within MSFD.

**РЕЗЮМЕ:** Тестван е нов елемент – Потенциално токсични фитопланктонни видове, в рамките на индикатор вредни цъфтежи на фитопланктона (Дескриптор 5 – Еутрофикация) за анализ на състоянието на морската околна среда през 2017 г. чрез интегриран подход – количествени микроскопски данни и метабаркодиране. Установено е постоянно присъствие на потенциално токсичен фитопланктон и по-добра резолюция на молекулярния метод за откриване на видове. Оценена е приложимостта на новия елемент и са направени препоръки при бъдещо използване в мониторинга на Черно море в рамките на РДМС.

**6.4-2.** Black Sea Strategic Research and Innovation Agenda - Final Edition. H2020 funded Black Sea CONNECT Coordination and Support Action (CSA) Steering Committee team members, 2023.

**ABSTRACT:** The Strategic Research and Innovation Agenda (SRIA) was prepared to guide stakeholders from academia, funding agencies, industry, policy and society to address together the fundamental Black Sea challenges, to promote blue economy and economic prosperity of the Black Sea region, to build critical support systems and innovative research infrastructure and to improve education and capacity building. The Black Sea SRIA defines the general framework for strategic research, development and innovation. A key output of the SRIA is to help identify national level priorities to contribute to the development of national Sustainable Blue Economy agendas. Furthermore, the actions proposed in the SRIA and their implementation generates scientific knowledge. Such new knowledge includes better ecosystem assessments, forecasts and management, as well as an understanding of the vulnerabilities of the ecosystem. Knowledge is the key element towards science-based and well-informed decisionmaking.

**РЕЗЮМЕ:** Стратегическата програма за изследвания и иновации (SRIA) беше изготвена, за да насочи заинтересованите страни от академичните среди, финансиращите агенции, промишлеността, политиката и обществото да се справят заедно с фундаменталните черноморски предизвикателства, да насърчат синята икономика и икономическия просперитет на Черноморския регион, да изградят критични поддържащи системи и иновативна изследователска инфраструктура и за подобряване на образованието и изграждането на капацитет. Черноморската SRIA определя общата рамка за стратегически изследвания, развитие и иновации. Ключов резултат от SRIA е да помогне за идентифициране на приоритетите на национално ниво, за да допринесе за разработването на национални програми за устойчива синя икономика. Освен това действията, предложени в SRIA, и тяхното изпълнение генерират научни знания. Такива нови знания включват по-добри оценки на екосистемите, прогнози и управление, както и разбиране на уязвимостите на екосистемата. Знанието е ключовият елемент за вземане на научно обосновани и добре информирани решения.

27.02.2024 г.

гр. Варна

/гл. ас. д-р Н. Джембекова/