

РЕЗЮМЕТА

на научните публикации и трудове на доц. д-р Стефан Шилев на български и на английски езици, с които участва в настоящия конкурс и които не повтарят представените за придобиване на образователната и научна степен „доктор“ и научната степен „доктор на науките“ и научната длъжност „доцент“

1. Shilev, S., M. Naydenov, V. Vancheva, A. Aladjadjian. 2007. Composting of food and agricultural wastes, In: Oreopoulou, V., Russ, W. (Eds.), "Utilization of By-Products and Treatment of Waste in the Food Industry", Series: Integrating Safety and Environmental Knowledge Into Food Studies towards European Sustainable Development, Vol. 3, ISBN-10 0-387-33511-0, ISBN-13 978-0-387-33511-7, Springer, pp. 283-302.

Резюме

В настоящата публикация са разглеждат основните моменти от технологията на компостирането на селскостопански и хранителни отпадъци. Описани са агентите участващи в процеса, източниците на отпадъци и образуваните количества в България. Разгледана е спецификата на фазите на процеса и компостните параметри, но е направен преглед и на методите за компостиране и на факторите, от които зависи качеството на крайния продукт. Накрая на публикацията са разгледани и приложенията на компоста.

Abstract

This publication considers the main points of the technology of composting agricultural and food waste. The agents involved in the process, the sources of waste, and the amounts generated in Bulgaria are described. The specifics of the process phases and composting parameters are considered, but the composting methods and the factors on which the quality of the final product depends are also reviewed. At the end of the publication, the applications of compost are also discussed.

2. Singh, B. R., Gupta, S., Azaizeh, H., Shilev, S.; Sudre, D., Song, W., Martinoia, E., Mench, M. 2011. Safety of food crops on land contaminated with trace elements. Journal of the Science of Food and Agriculture, Vol. 91: 8, pp. 1349-1366.

Резюме

Замърсяването на земеделските земи със следови елементи (ТЕ) чрез битови и промишлени отпадъци, атмосферни отлагания и торове е глобален проблем. Тъй като натрупването на ТЕ в ядливите части на растенията зависи от характеристиките на почвата, генотипа на растенията и селскостопанските практики, в настоящата разработка се преразглеждат онези специфични за почвата и растенията, които ограничават навлизането на нежелани ТЕ в хранителната верига, за да се защити здравето на хората и животните. Варианти на третиране на почвата като *in situ* стабилизиране на ТЕ в почвите, промени във физикохимичните параметри, управление на торове, взаимодействия на елементи и агрономични практики намаляват усвояването на ТЕ от хранителните култури. Освен това се обсъждат и фиторемедиацията и разтворими форми като алтернативни техники за намаляване на концентрациите на ТЕ в почвите. Възможностите относно растения се отнасят до изборът на видове и сортове, метаболитните процеси и микробните трансформации в ризосферата, тъй като те могат потенциално да повлияят на усвояването и разпространението на ТЕ в растенията. За тази цел се използват генетични вариации, за да се изберат сортове с нисък потенциал за усвояване, особено сортове пшеница и ориз със слабо натрупване на елементи като кадмия. Микробното въздействие върху формата на елементите и трансформациите им в ризосферата са други ключови моменти в цикъла на ТЕ, които могат да предложат основата за широка гама от иновативни биотехнологични процеси. В заключение, подходяща комбинация от специфични за почвата и растенията варианти може да сведе до минимум преноса на ТЕ към хранителната верига.

Abstract

Contamination of agricultural soils with trace elements (TEs) through municipal and industrial wastes, atmospheric deposition and fertilizers is a matter of great global concern. Since TE accumulation in edible plant parts depends on soil characteristics, plant genotype and agricultural practices, those soil- and plant-specific options that restrict the entry of harmful TEs into the food chain to protect human and animal health are reviewed. Soil options such as *in situ* stabilization of TEs in soils, changes in physicochemical parameters, fertilizer management, element interactions and agronomic practices reduce TE uptake by food crops. Furthermore, phytoremediation and solubilization as alternative techniques to reduce TE concentrations in soils are also discussed. Among plant options, selection of species and cultivars, metabolic processes and microbial transformations in the rhizosphere can potentially affect TE uptake and distribution in plants. For this purpose, genetic variations are exploited to select cultivars with low uptake potential, especially low-cadmium accumulator

wheat and rice cultivars. The microbial reduction of elements and transformations in the rhizosphere are other key players in the cycling of TEs that may offer the basis for a wide range of innovative biotechnological processes. It is thus concluded that appropriate combination of soil- and plant-specific options can minimize TE transfer to the food chain.

3. Shilev, S., Sancho, E.D., Benlloch-González, M. 2012. Rhizospheric bacteria alleviate salt-produced stress in sunflower. Journal of Environmental Management. Volume 95, Issue SUPPL., March 2012, Pages S37-S41. IF=8,7; Q1.

Резюме

Ефектът от инокулацията на изолат *Pseudomonas fluorescens* биотип F и *P. fluorescens* CECT 378T върху свежото тегло и натрупването на йони е изследван в слънчогледови растения, отгледани в пясъчно-торфен субстрат с добавяне на 100 mM NaCl. Инокулацията доведе до увеличаване на свежото тегло с повече от 10% при третиране със сол и до натрупване на по-малко Na⁺ и повече K⁺ в растителните тъкани във всички варианти. Бактериалните инокуланти благоприятстваха съотношението K⁺/Na⁺ във всички растителни части и в случая на изолата CECT 378T доведоха до 66% прираст в листата, 34% в стъблата и 16% в корените, докато ефектът от инокулацията на изолата беше (само) по-отчетлив в листата и стъблата, съответно с 30% и 26%. Установено е, че и двата щамове произвеждат индолецетна киселина и сидерофори при *in vitro* тестове, поради което образуването на индол е силно зависимо от екзогенния триптофан в средата. Резултатите предполагат, че солевият стрес в слънчогледовите растения е облекчен частично чрез инокулация с щамове, които произвеждат индол и сидерофори, като също има положителен ефект върху съотношението K⁺/Na⁺ в младите растения. Освен това тези растения се характеризират с по-добре развити корени.

Abstract

The effect of isolate *Pseudomonas fluorescens* biotype F and *P. fluorescens* CECT 378T inoculation on fresh weight and ions accumulation was studied in sunflower plants grown in sand:peat substrate with addition of 100 mM NaCl. The inoculation resulted in an increase in fresh weight of more than 10% in salt treatments and in an accumulation of less Na⁺ and more K⁺ in plant tissues in all cases. The bacterial inoculants favoured the K⁺/Na⁺ ratio in all plant parts and in the case of the isolate CECT 378T conducted to 66% increment in leaves, 34% in stems and 16% in roots,

while the effect of isolate inoculation was (only) more evident in leaves and stems with 30% and 26%, respectively. Both strains were found to produce indoleacetic acid and siderophores in in-vitro tests, thus the production of indoles was highly dependent on the exogenous tryptophan in the medium. The results suggest that salt stress in sunflower plants was alleviated partially by the inoculation with strains that produce indoles and siderophores, having also a positive effect on the K⁺/Na⁺ ratio in the shoot. Moreover, those plants were characterized with better-developed roots.

4. Atanassov, D., Shilev, S., Naydenova, E., Chervenkov, H., Yankova, T. 2014. Air quality management system of the city of plovdiv -Annual analysis for 2013, 16th International Conference on Harmonisation within Atmospheric Dispersion Modelling for Regulatory Purposes 8-11 September 2014, Varna, Bulgaria.

Резюме

Системата за управление на качеството на атмосферния въздух на град Пловдив работи оперативно от 2004 г. Тя изпълнява няколко основни задачи: мониторинг на качеството на атмосферния въздух, дисперсионно моделиране в реално време, анализ на приноса на емисионните сектори и дисперсионно моделиране на случайно изпуснато пасивно вещество. Системата е разработена стъпка по стъпка и се обсъждат нейните скорешни разширения и бъдещо развитие.

В настоящата публикация се направи анализ на качеството на градския въздух въз основа на изходните данни на системата. Данните от мониторинга на качеството на въздуха се съпоставиха със стандартите за качество. Годишните и сезонните карти на емисиите и концентрациите бяха взети от архива с почасовите карти, изготвени от системата за моделиране. Очертахта се някои заключения относно приноса на различните сектори и значението на метеорологичните условия.

Abstract

Air Quality Management System of the city of Plovdiv is working operationally since 2004. The system performs several main tasks: air quality monitoring, real time dispersion modeling, analysis of the emission sectors contribution, and dispersion modeling of an accidentally released passive substance. The system has been developed step by step and its recent extensions and future development are discussed.

Analysis of the city air quality based on the system 's outputs is made. The data from air quality monitoring are juxtaposed to the air quality standards. Annual and seasonal maps of the emissions and concentrations are made up from the archive of hourly maps produced by the modeling system. Some conclusions concerning contribution of different snap sectors and significance of meteorological conditions are outlined.

5. Shilev, S., Azaizeh, H., Angelova, D. 2019. Biological treatment: a response to the accumulation of biosolids. pp.: 149-178. In: Singh, D.P., Gupta, V.K., Prabha, R. (Eds.) Microbial Interventions in Agriculture and Environment, Volume 2: Rhizosphere, Microbiome and Agro-ecology. Springer Singapore. doi: DOI: 10.1007/978-981-13-8383-0_5, ISBN: 978-981-13-8383-0.

Резюме

Обществената загриженост за проблемите на околната среда непрекъснато нараства през последните няколко десетилетия. Едно от най-значимите предизвикателства при управлението на отпадъците е пречистването на отпадъчните води. Активната утайка формирана от пречистването е неизбежен и опасен страничен продукт, генериран в значителни обеми. Утайките от отпадъчни води са потенциално опасни за околната среда и нейните компоненти (почви, въздух, води, биоразнообразие) и крият определени рискове за човешкото здраве. Те може да съдържат вредни концентрации на токсични метали като цинк, кадмий, живак, мед и др. В настоящата публикация направихме преглед на текущото състояние на биологичното третиране на утайки от пречиствателни станции за битови отпадъчни води, като се фокусираме върху управлението им в България. В началото се разглеждат различни стратегии за третиране – анаеробно разграждане, пиролиза за производство на биовъглен и процеси на биологично третиране. Описани са процесите на компостиране и вермикомпостиране на утайки от гледна точка на получаване на краен продукт и неговото качество. Накрая, депонирането на утайки, като част от управлението на тези отпадъци, също беше разгледано. В края е показана научна разработка, описваща компостиране и вермикомпостиране на утайки от пречиствателни станции извършена в Аграрен университет – Пловдив.

Abstract

The public concern about environmental issues has been constantly increasing in the last few decades. One of the most significant challenges in waste management is wastewater treatment. The organic part of solids (sludge) is an inevitable and dangerous by-product generated in significant volumes. The sewage sludge is potentially dangerous to the environment (all environmental components: soil, air, water) and has certain risks for human health. It may contain harmful levels of toxic metals such as zinc, cadmium, mercury, copper, etc. In present chapter we reviewed the current state of the art of biological treatment of biosolids focusing on sludge management in Bulgaria. In the beginning different strategies of treatment of biosolids are reviewed – anaerobic digestion, pyrolysis for biochar production, and biotreatment processes. Composting and vermicomposting processes of biosolids are described from the point of view of obtaining a final product and its quality. Finally, the landfilling of biosolids as a waste management was also considered. In the end, a case study developed in the Agricultural University – Plovdiv was described concerning composting and vermicomposting of biosolids.

6. Shilev, S., Azaizeh, H., Vassilev, N., Georgiev, D., Babrikova I. 2019. Interactions in soil-microbe-plant system: adaptation to stressed agriculture. pp.131-171. In: Singh, D.P., Gupta, V.K., Prabha, R. (Eds.) Microbial Interventions in Agriculture and Environment, Volume 1: Research Trends, Priorities and Prospects. Springer Singapore. DOI: 10.1007/978-981-13-8391-5_6, ISBN: 9789811383915.

Резюме

През последните десетилетия интензивното земеделие е изправено пред сериозни проблеми, породени от необходимостта от по-високи добиви и качество на селскостопанската продукция. Очаквайки броя на световното население да достигне почти девет милиарда до 2050 г., необходимостта от повече количество и по-сигурна храна е очевидна. В резултат на това във всички индустриализирани страни се прилага интензивно торене като начин за увеличаване на добива. Всички тези приложения насочени към промени в агроecosystemите, вкл. прилагане на пестициди, води до натрупване на химични вещества в почвите, водите и растителната продукция и до намаляване на продуктивността на културите. Алтернатива на този начин на отглеждане е стимулиране на естествените взаимодействия в системата почва-микробиом-корен-растение. Тук правим преглед на взаимодействията в ризосферата, водещи до получаване на здрави растения и почва и увеличено селскостопанско производство. Растенията са уникални организми, които оформят своя

микробиом чрез отделяне на коренови ексудати в почвата. По този начин прокариотни и еукариотни микроорганизми, включително полезни ризобактерии, микоризи, ендوفити и др. са „привлечени“ от растенията. Техните инструменти за смекчаване на стреса при растенията са описани подробно в настоящата публикация.

Abstract

In the last decades, the intensive agriculture faces serious problems originated by the necessity of higher yield and quality of the agricultural products. Expecting the number of world population to reach almost nine billion by 2050, the necessity of more quantity and more secure food is evident. As a result, in all industrialized countries an intensive fertilization is applied as a method for yield increase. All these applications, incl. pesticide application, conducted to changes in the agroecosystem having as a result accumulation of chemicals in soil, water and plant production, and decreasing crop productivity. An alternative is the naturally occurring soil-microbiome-root-plant interactions. Here we reviewed the interactions in the rhizosphere conducting to a healthy plant and soil and increased agricultural production. Plants are unique biota shaping their on microbiome through releasing of root exudates. In this relationship prokaryotic and eukaryotic microorganisms are involved, including beneficial rhizobacteria, mycorrhizae, endophytes, etc. Their tools for plant stress alleviation are described in present book chapter.

7. Vassileva, M., Malusà, E., Sas-Paszt, L., Trzcinski, P., Galvez, A., Flor-Peregrin, E., Shilev, S., Canfora, L., Mocali, S., Vassilev, N. 2021. Fermentation Strategies to Improve Soil Bio-Inoculant Production and Quality. *Microorganisms* 9(6), 1254.

Резюме

Прилагането на полезни за растенията микроорганизми е широко прието като ефективна алтернатива на химическите торове и пестицидите. Изолирането и селекцията на ефективни микроорганизми, тяхното характеризиране и тестване в системи почва-растение са добре проучени. Етапът на производство и формулирането на крайните продукти обаче не са във фокуса на изследванията, което се отразява на постигането на стабилни и последователни резултати в областта. Скорошен полски опит с полезните за растенията микроорганизми предполага по-интегриран поглед върху почвените инокуланти със специален акцент върху процеса на производство им, включително ферментация, формулиране, процеси и добавки. Този мини-преглед описва различните групи

процеси на ферментация и техните характеристики, като се имат предвид различни фактори, както хранителни, така и оперативни, които влияят върху добива на биомаса/спори и активността на микробния метаболит. Характеристиките на крайните продукти на стратегиите за оптимизиране на процеса на ферментация определят по-нататъшните стъпки на развитие на микробните инокуланти. Представени са процеси на потопена течна и твърда ферментация, партидни операции с захранване, имобилизирани клетъчни системи и производство на арбускуларна микориза, но са обсъдени и техните предимства и недостатъци. Разглеждат се и препоръки за по-нататъшно развитие на ферментационните стратегии за производство на биоторове.

Abstract

The application of plant beneficial microorganisms has been widely accepted as an efficient alternative to chemical fertilizers and pesticides. Isolation and selection of efficient microorganisms, their characterization and testing in soil-plant systems are well studied. However, the production stage and formulation of the final products are not in the focus of the research, which affects the achievement of stable and consistent results in the field. Recent analysis of the field of plant beneficial microorganisms suggests a more integrated view on soil inoculants with a special emphasis on the inoculant production process, including fermentation, formulation, processes, and additives. This mini-review describes the different groups of fermentation processes and their characteristics, bearing in mind different factors, both nutritional and operational, which affect the biomass/spores yield and microbial metabolite activity. The characteristics of the final products of fermentation process optimization strategies determine further steps of development of the microbial inoculants. Submerged liquid and solid-state fermentation processes, fed-batch operations, immobilized cell systems, and production of arbuscular mycorrhiza are presented and their advantages and disadvantages are discussed. Recommendations for further development of the fermentation strategies for biofertilizer production are also considered.

8. Shilev, S., Kartalska, Y., Dimitrova, K. 2021. Chapter 4 – Bacterial alleviation of drought stress in plants: Potential mechanisms and challenges, pp. 55-71, (Kumar, A. & Droby, S.), In: Microbial Management of Plant Stresses: Current Trends, Application and Challenges, ISBN: 9780323851930, DOI: 10.1016/b978-0-323-85193-0.00008-5.

Резюме

Засушаването е сериозен нарастващ проблем в последните години и десетилетия. Той е резултат от промените в климата и засяга различни сектори на икономиката. Един от най-засегнатите е земеделието. Недостигът на вода може да доведе до понижено качество и количество на селскостопанските продукти, което може да бъде преодоляно чрез подходящо управление на водите. Нови и модерни стратегии използват алтернативно водоснабдяване, като например напояване с регенерирани води, съхранение на вода и технологии за пестене на вода. Вредните ефекти от засушаването върху растенията са представени на всички нива (морфологично, физиологично, молекулярно и др.) и фенологични фази на развитие (поникване, цъфтеж, размножаване, наливане на зърното и т.н.). В настоящата статия е описана ролята на полезните бактерии, свързани с растенията, за преодоляване на неблагоприятните ефекти от сушата върху растенията, включително механизми, повишаващи толерантността на растенията към стрес от суша.

Abstract

Drought is a serious growing problem in recent years and decades. It is a result of climate change and affects different sectors of the economy. One of the most affected is agriculture. On the contrary, water scarcity may result in decreased quality and quantity of agricultural products, which can be overcome by an appropriate water management. New and modern strategies use an alternative water supply, such as reclaimed waters, water storage, and water-saving technologies. The harmful effects of drought on plants are presented at all levels (morphological, physiological, molecular, etc.) and phenological stages of development (germination, flowering, reproduction, grain filling, and so on). In present paper, the role of plant-associated beneficial bacteria to overcome the adverse effects of drought on plants is described including mechanisms enhancing drought stress tolerance in plants.

9. Shilev, S., Dirimanova, V., Danailova, A. 2022. The water reuse – a tool to overcome the scarcity. Journal of Environmental Protection and Ecology. 23(1), pp. 142-151.

Резюме

Недостигът на вода се превърна в критичен проблем в Европа. Въпреки, че засяга всички икономически сектори, недостигът на вода има огромно

въздействие върху селското стопанство като един от основните потребители на вода, достигайки 70–80% от водочерпенето в средиземноморските региони. Увеличаващият се натиск върху конвенционалните водни ресурси накара селскостопанския сектор да проучи използването на алтернативни източници, като пречистени отпадъчни води, наричани още регенерирани води. Въпреки недостига, от който страдат някои райони в Европа и в частност в България, повторното използване на вода за напояване в момента не е сериозно застъпено. В настоящото проучване разработихме силните, слабите страни, възможностите и заплахите /политически, икономически, социални и технологични (SWOT/PEST) анализи, описващи вътрешни и външни фактори, които влияят върху повторното използване на водите в България. Изследвайки насърчаването на повторното използване на отпадъчните води в селското стопанство, в резултат на това проучване открихме повече от 50 вътрешни и външни фактора, които влияят върху повторното използване на водите. Основните изводи бяха свързани с лошото приемане от обществото и лицата, вземащи решения, лошата напоителна инфраструктура, липсата на стимули и специфично законодателство, риск във връзка с безопасността на храните, но също и наличието на добри връзки между институциите, наличието на сътрудничество между заинтересованите страни, съществуващият достъп до знания и информация.

Abstract

Water scarcity has become a critical problem in Europe. Although it affects all the economic sectors, water scarcity has a huge impact on agriculture as one of the main water consumers reaching 70–80% of water abstractions in Mediterranean regions. The increasing pressure on conventional water resources has led the agricultural sector to explore the use of alternative sources, such as treated wastewater, also called reclaimed water. Despite of the scarcity that suffers some areas in Europe and in Bulgaria in particular, the water reuse for irrigation is not currently a primary option. In present study we elaborated strengths, weaknesses, opportunities and threats/political, economic, social and technological (SWOT/PEST) analyses, describing internal and external factors that influence water reuse in Bulgaria. Reflecting on the idea of promoting wastewater reuse in agriculture, as a result of this study, we found more than 50 internal and external factors that influence the water reuse. The main conclusions were related to poor acceptance by society and decision makers, poor irrigation infrastructure, lack of incentives and specific legislation, risk in relation to food safety, but also the existence of good links between

institutions, the presence of stakeholder cooperation, the existing access to knowledge and information.

10. Shilev, S., Mitova, I., Kuncheva, V., Dinev, and Kabaivanova, L. 2022. Distribution of Soil Microorganisms in Field under Potatoes due to Fertilizer and Organics. Indian Journal of Agricultural Research. 56(4), pp. 401-407. DOI: 10.18805/IJARE.A-669.

Резюме

Използването на органичен тор, получен от животински или растителен материал, често се свързва с балансирано производство при различни култури. В настоящата публикация е изследвано влиянието на органичните вещества и изкуствените торове за устойчивото управление на почвата при отглеждане на картофи в полето. Това проучване обхваща 10 годишен период (2011-2021) с контролен вариант (без торене), минерални и органични (компост) варианти и тяхната комбинация (50:50%). Бяха оценени промените в количеството и разпределението на групите микроорганизми в експерименталните варианти и свързаните нетретирани контроли. Определи се общият брой бактерии, спорообразуващите и азот-използващите бактерии, актиномицетите и плесените. Приложените компост и изкуствени торове имаха статистически доказан положителен ефект върху растежните параметри на картофите. Органичното торене, както и минералното торене с листово подхранване, регистрира по-високи растения с увеличен брой разклонения, брой и маса на листата и стъблената и кореновата маса, в сравнение с картофите третирани с органично и органо-минерално торене. Прилагането на компост доведе до значително увеличаване на популациите на всички физиологични групи микроорганизми, с изключение на спорообразуващите бактерии и бактериите, използващи минерален азот, което е добър показател за повишена почвена микробиална активност при съответните обработки. Минералното торене имаше положителен ефект върху общия брой бактерии и върху усвояването на минералния азот.

Abstract

Background: Using organic manure derived from animal or vegetable matter is often associated with balanced crop production. The influence of organics and fertilizers on soil sustainability during cultivation of potatoes in field was studied. Methods: Vegetable experiment comprising 10 years (2011-2021), having a control variant (no

fertilization), independent mineral, organics (compost) and their combination (50:50%). Changes in the amount and distribution of microbial groups in experimental variants and associated untreated controls were evaluated. Total bacterial number, spore-forming bacteria, fungi, nitrogen-utilizing bacteria and actinomycetes were assessed.

Result: Applied organics and fertilizers had statistically proven a positive effect on growth parameters of potatoes. Organics and fertilizers supplied with mineral and foliar feeding registered taller plants with increased number of branches, number and mass of leaves and stem and root masses, compared to potatoes with organic and organic-mineral combination. Application of compost led to a significant increase in populations of all physiological groups of microorganisms excluding spore-forming bacteria and bacteria utilizing mineral nitrogen, which is a good indicator of increased soil microbial activity in respective treatments. Mineral fertilization had a positive effect on total number of bacteria and on absorption of mineral nitrogen.

11. Shilev, S. V. Vancheva. 2006. Characterization of yeast tolerant to As and Cd. Journal of Environmental Protection and Ecology 7, № 1, 47-51.

Резюме

Замърсяването с тежки метали е един от важните екологични проблеми, които засягат ежедневието ни. Възстановяването на околната среда от металите чрез общи физикохимични техники е скъпо и неподходящо поради прилагането на *ex situ* техники. Биотехнологичните подходи, които са предназначени да покриват такива ниши, получиха голямо внимание през последните години. Скорошни проучвания показват, че някои щамове дрожди, изолирани от замърсени среди, притежават отлични способности за извличане на метали. Тези популации имат висока толерантност към различни тежки метали и могат да бъдат потенциални кандидати за едновременното им извличане от замърсени почви. Настоящото проучване се фокусира върху толерантността на растящи клетки на дрожди към арсен и кадмий за изследване на биоремедиацията на задните тежки метали, както и върху транспорта на арсенат в тези клетки.

Abstract

The heavy metal pollution is one of the most important environmental problems, which affect our everyday life. Metal remediation through common physicochemical techniques is expensive and unsuitable because of application of *ex situ* techniques.

Biotechnological approaches that are designed to cover such niches have, therefore, received great deal of attention in the recent years. Recent studies showed that some yeast strains isolated from contaminated sites possess excellent abilities for metal scavenging. These cells have high tolerance to various metals and may be potential candidates for their simultaneous removal from wastes and contaminated soils. This study was focused on the tolerance of growing yeast cells to arsenic and cadmium for posterior heavy metal bioremediation studying and also the transport of arsenate in these cells.

12. Shilev, S. 2013. Soil rhizobacteria regulating the uptake of nutrients and undesirable elements by plants. pp.: 147-167. In: N. K. Arora (ed.) Plant microbe symbiosis – fundamentals and advances. DOI 10.1007/978-81-322-1287-4_5, Springer India.

Резюме

Известно е, че множество ризосферни бактерии са полезни за растежа на растенията. Такива бактериални щамове обикновено се считат за ризобактерии, стимулиращи растежа на растенията. В тази глава се обсъждат различни механизми, чрез които, в зависимост от специфичните условия, растенията се възползват от растежа и развитието на ризобактериалните съобщества. Такива механизми пряко или косвено влияят върху растежа и развитието на растенията. Директните механизми са свързани с разтваряне на фосфор, фиксиране на азот, хелатиране на желязо, секреция на фитохормони и разграждане на образувания етилен, докато непреките са свързани с потискане на растителни фитопатогени и индуцирана систематична резистентност в растенията. Комбинацията от различни механизми е възможно да съществува в дадено местообитание, където микробна общност, съставена и от ризобактерии, насърчаващи растежа на растенията, намира подходящи ниши за развитие. Тази глава също прави преглед на различни комбинации от механизми, представени в почвите.

Abstract

Numerous rhizosphere bacteria are known to be beneficial for plant growth. Such bacterial species are generally recognized as plant growth-promoting rhizobacteria. In this chapter, different mechanisms are discussed by which, depending on the specific conditions, plants benefit from growth and development of rhizobacterial population. Such mechanisms directly or indirectly influence plant growth and development. Direct mechanisms are related to phosphorus solubilization, nitrogen fixation, iron

chelation, production of phytohormones, and degradation of ethylene production, while the indirect are fitted to suppression of plant phytopathogens and induced systematic resistance in plants. The combination of mechanisms is possible to exist in a habitat where a microbial community composed of plant-growth-promoting rhizobacteria finds suitable niches for development. This chapter also reviews different combinations of mechanisms presented in soils.

13. Georgiev, D., Dobrev, G., Shilev, S. 2018. Purification and properties of a phytase from *Candida melibiosica* 2491. Emirates Journal of Food and Agriculture 30(11): 927-934. doi: 10.9755/ejfa.2018.v30.i11.1857.

Резюме

Целта на настоящите изследвания е да се характеризира ензимът фитаза, получен от фитаза-активната *Candida melibiosica* 2491 за последваща употреба във фуражната промишленост. *C. melibiosica* 2491 е избран сред 118 щам като най-продуктивен щам на фитаза. В настоящото изследване ензимът първо се пречиства в четири стъпки: утаяване с органичен разтворител, ултрафилтрация, гел хроматография и денатурираща гел електрофореза (SDS-PAGE).

Установиха се по-високи нива на пречистване при използване на етанол. Гел хроматографията показва максималум на елуиране при 11-12 фракции, които я характеризират като фитаза с високо молекулно тегло. Установено е, че степента на пречистване е 19,5 пъти по-висока при специфична ензимна активност от 2,75 U/mg протеин и добив от 19,64 %. Освен това, молекулното тегло на пречистената фитаза се определи на 35,9 kDa, с оптимално рН от 4,5 и оптимална температура при 55 °C. Максималната активност на фитазата при цели клетки се установи при 50 °C, което е по-ниско от използването на пречистения ензим. Той се активираше чрез 5 mM Ba²⁺, 10 mM Mn²⁺ и K⁺ йони. Пълният инхибиращ ефект се постигна от Fe³⁺, Hg²⁺ и Zn²⁺. Медните йони (Cu²⁺) в концентрации от 5 mM доведоха до частичен инхибиращ ефект, но при 10 mM активността на фитазата е равна на нула. Нисък инхибиращ ефект се откри в случай на прилагане на кобалтови йони (Co²⁺) при концентрации от 10 mM. Фитазата показва широка субстратна специфичност и Km за фитат в рамките на 0,21 mM при експерименталните условия, докато Vmax беше 19,9 µm/ml.

В заключение, въпреки че фитазата, получена от *C. melibiosica* 2491, е обещаващ ензим, който да се използва успешно в производството на фуражи е необходимо

да се проведат допълнителни изследвания, за да се гарантират нейните предимства.

Abstract

The aim of current research was to characterize the enzyme phytase produced by phytase-active *Candida melibiosica* 2491 for subsequent use in feed industry. *C. melibiosica* 2491 had been selected among 118 strains as the most productive strain of phytase. In present study, the enzyme was first purified through electrophoresis grade in four steps: precipitation with organic solvent, ultrafiltration, gel chromatography and Denaturing gel electrophoresis (SDS–PAGE).

Higher levels of purification were obtained using ethanol. The gel chromatography showed an elution maximum at 11-12 fractions that characterize the corresponding one as high-molecular weight phytase. The purification level was found to be 19.5 folds with specific enzyme activity of 2.75 U/mg protein and yield – 19.64 %. Furthermore, the molecular weight of purified phytase was estimated to 35.9 kDa, with optimum of pH – at 4.5 and optimum of temperature at 55 °C. Maximum phytase activity in case of whole cells was found at 50 °C, which was less than using the purified enzyme. It was activated through 5 mM of Ba²⁺, 10 mM of Mn²⁺ and K⁺ ions. Total inhibition effect was achieved from Fe³⁺, Hg²⁺ and Zn²⁺. Copper ions (Cu²⁺) in concentrations at 5 mM conducted to partial inhibition effect, but at 10 mM the phytase activity was equal to zero. Low inhibition effect was determined in case of cobalt ions (Co²⁺) at concentrations of 10 mM. The phytase displayed broad substrate specificity and the Km for phytate was estimated to be 0.21 mM under the experimental conditions, while Vmax – 19.9 μm/ml.

In conclusion, although the phytase produced by *C. melibiosica* 2491 is a promising enzyme to be used successfully in feed production, more investigations are needed to ensure its advantages.

14. Shilev S. 2020. Arsenate tolerance in *Saccharomyces cerevisiae* is associated with the efflux capability. *Acta microbiologica bulgarica*, 36(2): 63-67.

Резюме

Арсенът е често срещан замърсител в почвите, засягащ почвения микробиом и всички почвени организми. Настоящото проучване изследва толерантността към арсенат на два щама *Saccharomyces cerevisiae*, изолирани от замърсена почва. Тяхната толерантност към натриев арсенат (AsV) беше изследвана в течна среда

в продължение на 24 ч., докато способността на популациите да намалят вътреклетъчното си съдържание на арсен впоследствие беше проучена чрез кинетични опити на транспорт на арсенат при 33,3, 133,2 и 266,4 μM от AsV. Зависимостта на толерантността от ефлуксната система беше демонстрирана чрез използването на амилорид хидрохлорид, който е известен като супресор на йонния транспорт през клетъчната мембрана. Установено е, че максималната концентрация, поносима от *S. cerevisiae* AS09, е около 72,8% по-ниска от тази на толерантния *S. cerevisiae* AS07. Притокът и изтичането на арсенат през клетъчните мембрани на двата щама зависят от концентрацията на металоид в средата и от нетния анионен баланс. И двата щама бързо повишават вътрешната си концентрация на As до максимална точка, въпреки че само толерантният щам успява да я намали впоследствие във всички използвани концентрации. Когато беше приложена най-високата концентрация, клетките на нетолерантния щам се оказаха мъртви. Когато се използва амилорид хидрохлорид, беше установено, че толерантните клетки се държат като чувствителни клетки и при 266,4 μM клетките от двата щам се оказаха мъртви, тъй като екструзията на токсичния анион беше прекъсната. Кинетичните разлики в транспорта на арсенат през клетъчната мембрана обясняват различните степени на толерантност на изследваните щамове.

Abstract

Arsenic is a common contaminant in soils, affecting soil microbiome and all soil organisms. The present study examined arsenate tolerance of two *Saccharomyces cerevisiae* strains isolated from contaminated soil. Their tolerance to sodium arsenate (AsV) was studied in a liquid medium for 24 hours, while the ability of the populations to reduce their intracellular arsenic content was subsequently investigated through kinetic studies of arsenate transport at 33.3, 133.2, and 266.4 μM of AsV. The dependence of tolerance on the efflux system was demonstrated by the use of amiloride hydrochloride, which is known as a suppressor of ion transport through the cell membrane. The maximum concentration tolerated by *S. cerevisiae* AS09 was found to be about 72.8% lower than that by the tolerant *S. cerevisiae* AS07. The influx and efflux of arsenate across the cell membranes of both strains were dependent on the concentration of metalloid in the medium and on the anion net balance. Both strains rapidly increased their internal As concentration to a maximum point, although only the tolerant strain was able to decrease it subsequently in all concentrations used. When the highest concentration was applied, the cells of the non-tolerant strain were found to be dead. When amiloride hydrochloride was used it was found that the tolerant cells behaved like sensitive cells, and at 266.4 μM the

cells of both strains were found to be dead, because the extrusion of the toxic anion was interrupted. Kinetic differences in arsenate transport through the cell membrane explain the different degrees of tolerance of the studied strains.

15. Shilev, S., Babrikova, I., Babrikov, T. 2020. Consortium of plant growth-promoting bacteria improves spinach (*Spinacea oleracea* L.) growth under heavy metal stress conditions. Journal of chemical technology and biotechnology, Volume 95 (4): Special Issue: In Focus: 7th European Bioremediation Conference (EBCVII) <https://doi.org/10.1002/jctb.6077>. IF=3,4.

Резюме

Замърсяването с тежки метали води до оксидативен стрес и до намален растеж и развитие на растенията. Засегнатите растения не могат да бъдат използвани ефективно в проучвания за фиторемедиация и потенциалът им може да бъде значително намален. В много случаи, биоаугментацията с бактерии, стимулиращи растежа на растенията, се използва като стратегия за намаляване на това състояние на стрес. В нашето проучване беше установено, че изолатите притежават 1-аминоциклопропан-1-карбоксилат (ACC) деаминаза, произвеждат сидерофори на индол-3-оцетна киселина (IAA) и разтварят фосфати, а идентифицирането разкри, че изолатите принадлежат към родовете *Pseudomonas* и *Bacillus*. Установи се, че от 17-те изолата десет притежават ACC деаминазна активност, произвеждайки $1-3,2 \mu\text{mol.mg}^{-1}.\text{h}^{-1}$ α -кетобутират и сидерофори от катехол и хидроксаматен тип. По-високо количество IAA се наблюдава в случая на изолат SGPI 41 ($65 \mu\text{g.mL}^{-1}$). В допълнение, инокулирането на консорциуми от изолати доведе до намалено натрупване на Cd, Pb и Zn в цялото растение, но в същото време увеличи растителната биомаса с до 100% в сравнение с неинокулираната контрола. По този начин можем да заключим, че използването на полезни бактерии, притежаващи свойства, стимулиращи растежа на растенията, е много полезен подход за облекчаване на стреса от тежки метали за растенията и може да бъде успешно приложен в стратегии за фиторемедиация.

Abstract

Heavy metal contamination results in oxidative stress to plants and leads to decreased plant growth and development. Affected plants cannot be efficiently used in phytoremediation studies and their potential maybe significantly reduced. In many cases, bioaugmentation with plant growth-promoting bacteria is used as a strategy to

alleviate this stress condition. In our study, the isolates were found to possess 1-aminocyclopropane-1-carboxylate (ACC) deaminase, to produce indole-3-acetic acid (IAA) siderophores and to solubilize phosphates, while identification revealed that the isolates belonged to the genera *Pseudomonas* and *Bacillus*. Out of the 17 isolates, ten were found to possess ACC deaminase activity, producing 1-3.2 $\mu\text{mol}\cdot\text{mg}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$ of α -ketobutyrate and siderophores of catechol and hydroxamate type. A higher quantity of IAA was observed in the case of isolate SGPI 41 (65 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$). In addition, the inoculation of consortia of isolates led to decreased accumulation of Cd, Pb and Zn in the whole plant but at the same time increased the plant biomass by up to 100% compared with the un-inoculated control. Thus, we may conclude, that the use of beneficial bacteria possessing plant growth-promoting traits is a very useful approach to alleviating heavy metal stress to plants and can be successfully applied in phytoremediation strategies.

16. Shilev, S. 2020. Plant growth-promoting bacteria mitigating soil salinity stress in plants. Applied Sciences 10(20), 7326. <https://doi.org/10.3390/app10207326>.

Резюме

Влошаването качеството на почвата доведе до проблеми с храненето в световен мащаб. Като един от най-сериозните стресови фактори, засоляването на почвата оказва негативно въздействие върху количеството и качеството на земеделската продукция, което насочва вниманието към необходимостта от екологични технологии за преодоляване на тези неблагоприятните ефекти. Използването на бактерии, стимулиращи растежа на растенията (PGPB), може да бъде ключов фактор за намаляване на стреса от засоляване при растенията, тъй като те вече са въведени в практиката. Растенията, които притежават халотолерантен микробиом показват подобрение в различни морфологични, физиологични и биохимични аспекти поради многобройните им способности за стимулиране растежа на растенията. Тези способности са свързани с отделянето на бактериални фитохормони и модулирането на тяхната експресия, подобряването на наличността на хранителни вещества в почвата и освобождаването на органични съединения, които модифицират ризосферата на растенията и функционират като сигнални молекули, като по този начин допринасят за толерантността на растението към соленаост. Този преглед има за цел да изясни механизмите, чрез които PGPB могат да повишат толерантността на растенията към почвено засоляване.

Abstract

Soil deterioration has led to problems with the nutrition of the world's population. As one of the most serious stressors, soil salinization has a negative effect on the quantity and quality of agricultural production, drawing attention to the need for environmentally friendly technologies to overcome the adverse effects. The use of plant-growth-promoting bacteria (PGPB) can be a key factor in reducing salinity stress in plants as they are already introduced in practice. Plants having halotolerant PGPB in their root surroundings improve in diverse morphological, physiological, and biochemical aspects due to their multiple plant-growth-promoting traits. These beneficial effects are related to the excretion of bacterial phytohormones and modulation of their expression, improvement of the availability of soil nutrients, and the release of organic compounds that modify plant rhizosphere and function as signaling molecules, thus contributing to the plant's salinity tolerance. This review aims to elucidate mechanisms by which PGPB are able to increase plant tolerance under soil salinity.

17. Angelova, D., Shilev S. 2021. Composting and vermicomposting of biosolids for utilization in agriculture. Journal of environmental protection and ecology. 22(3), 1030-1039.

Резюме

Един от основните екологични проблеми през последните години е свързан със утайките, получени в резултат на процеса на пречистване на отпадъчни води. Тяхното рециклиране се счита за подходящ подход, който връща хранителните вещества в почвата. В настоящото проучване ние имахме за цел да проучим приложимостта на компостирането и вермикомпостирането на утайки от ПСОВ и други биоразградими материали, за получаване на качествен продукт. Установихме, че вермикомпостирането е важна и задължителна част от обработката на утайките. След вермикомпостиране беше установено, че крайният продукт покрива следните изисквания на законодателството: отстраняване на *Salmonella* ssp.; намаляване титрите на *Escherichia coli* и *Clostridium perfringens*; редуциране към нула съотношението $\text{NH}_4^{4+}/\text{NO}_3^{3-}$. Тестът за токсичност на *Lepidium sativum* L. показва 60% по-високи стъбла и 38,5% по-големи корени, когато към семената се добави воден екстракт от вермикомпост в сравнение с растежа само с вода. В допълнение, растежът на домати *Lycopersicon esculentum* L. В продължение на 90 дни показва по-добри резултати

в смес 1:1 (почва:вермикомпост), отколкото само в почва или в смес с компост. В заключение, третирането на утайки от ПСОВ чрез компостиране, последвано от вермикомпостиране, е екологичен подход за решаване на проблема с натрупването на тези биоразградими отпадъци, докато полученият вермикомпост е подходящ за приложение в селското стопанство.

Abstract

One of the mayor environmental issues in the last years is the fate of biosolids resulted from wastewater treatment process. Their recycling is considered as suitable approach that returns the nutrients to soil. In present study we aimed to investigate the applicability of composting and vermicomposting of biosolids and other biodegradable materials in order to obtain quality product. We found that the vermicomposting is important and obligatory part of the treatment of biosolids. After vermicomposting, the final product was found to cover the requirements of legislation: *Salmonella* ssp. removal; *Escherichia coli* and *Clostridium perfringens* titers were decreasing; $\text{NH}^{4+}/\text{NO}^{3-}$ ratio was close to zero. The *Lepidium sativum* L. toxicity test showed 60% higher stems and 38.5% bigger roots when the seeds were grown with water extract of vermicompost compared to the growth with water only. In addition, *Lycopersicum esculentum* L. plants growth for 90 days showed better results in 1:1 (soil:vermicompost) mixture that growth only in soil or in mixture with compost. In conclusion, treating biosolids through composting followed by vermicomposting is environmental friendly approach to solve the problem with accumulation of that biodegradable waste, while the obtained vermicompost is suitable for agricultural application.

18. Chopkova, V., Petkova, M., Shilev, S. 2023. Uncovering Bacterial Diversity during Mesophilic and Thermophilic Phases of Biowaste Composting through NextGeneration Sequencing. Applied Sciences 13, 3111. <https://doi.org/10.3390/app13053111>.

Резюме

Натрупването на биоотпадъци е един от основните проблеми на съвременното общество. Едно от най-екологичните решения за превръщане на биоотпадъците в продукт е компостирането. Биоотпадъците могат да съдържат неизвестни субстанции, устойчиви в крайния компост, като по този начин допринасят за замърсяване и засоляване на почвата. Ефективността на процеса на компостиране зависи в голяма степен от участващия микробиом, което е и обект

на много изследвания. Настоящата работа проучва бактериалното разнообразие от мезофилните и термофилната фази на компостиране на две различни площадки. Проучването е проведено чрез секвениране от следващо поколение с Illumina HiSeq, разкриващо динамиката и промените в специфични мезофилни и термофилни местообитания на купчини за компостиране. Резултатите показват по-голям брой бактериални видове в мезофилните фаза, отколкото в термофилните, доказано с индексите на Shannon и Chao. В допълнение, разнообразието от бактериални видове, изразено от оперативните таксономични единици, е много по-високо на площадката на Харманли, отколкото на тази от Ясно поле. Установено е по-голямо изобилие на родовете *Sphingobacterium*, *Sphingomonas*, *Paracoccus*, *Pseudomonas* и *Halomonas* и при двете площадки. В компоста на Харманли родовете *Streptomyces*, *Truepera* и *Flavobacterium* са в значително по-голямо количество в сравнение с компоста на Ясно поле. В заключение, двете площадки показаха относително значителни разлики в разнообразието от бактерии по време на компостиране на биоотпадъци. Съществени разлики също се наблюдаваха и между мезофилната и термофилната фаза, като първата показва значително по-висока степен на видово богатство.

Abstract

The accumulation of biowastes is one of the main concerns of modern society. One of the most environmentally friendly solutions to convert biowaste into a product is composting. Biowastes may contain unknown substances that are persistent in the final compost, thus contributing to soil contamination and salinization. The effectiveness of the composting process depends on the microbial communities involved, which is the number of investigations' targets. The present work studied the bacterial diversity of mesophilic and thermophilic phases of composting developed in two different sites. The study was conducted through next-generation Illumina HiSeq sequencing and phylogenetic communities, revealing the dynamics and changes in specific mesophilic and thermophilic habitats of composting piles. The results showed a higher number of bacterial species in the mesophilic phase than in the thermophilic one, proved by the Shannon and Chao indices. In addition, the diversity of bacterial species expressed by the operational taxonomic units was much higher at the site of Harmanli than at the Yasno pole. Higher abundance was found of the genera *Sphingobacterium*, *Sphingomonas*, *Paracoccus*, *Pseudomonas*, and *Halomonas* in both studied sites. In the compost of Harmanli genera *Streptomyces*, *Truepera*, and *Flavobacterium* were found to be much more abundant compared to the compost of the Yasno pole. Finally, we conclude that the two plots show relatively significant

differences in the diversity of bacteria during biowaste composting. Substantial differences were also observed between the mesophilic and thermophilic phases, with the first showing a significantly higher degree of species richness.

19. Petkova, M., Shilev, S. 2023. Revealing Fungal Diversity in Mesophilic and Thermophilic Habitats of Sewage Sludge Composting by Next-Generation Sequencing, Appl. Sci. 2023, 13(9), 5546; <https://doi.org/10.3390/app13095546>.

Резюме

Натрупването на утайки от отпадъчни води е сериозен проблем в много страни. Използването му чрез компостиране има потенциал да се превърне в широко прилагана технология. От тази гледна точка, нашето проучване изследва разнообразието от плесени в мезофилни и термофилни местообитания при компостиране на утайки, кравешки тор и пшенична слама. Проведено е с помощта на метагеномен подход и следващо поколение Illumina HiSeq2000 секвениране, за да се разкрие тяхното разнообразие. Установихме значително повишена микробна активност в термофилната фаза. Обратно, активността на ензима глюкозидаза е с 29% по-висока в мезофилната зона. Обхватът на стойностите на разнообразието са по-изразени в мезофилните местообитания, отколкото в топлолюбивите въз основа на индексите на разнообразие. На ниво клас мезофилните гъби са представени от *Sordariomycetes*-58,7%, *Pezizomycetes*-15,1% и *Agaricomycetes*-12,3%, докато най-разпространените термофилни гъби са *Sordariomycetes*-39,5% и *Pezizomycetes*-9,8%. При по-нататъшното изясняване на разнообразието на родовете е интересно, тъй като при 37,2 °C *Psathyrella* е най-разпространена с 35,91%, следвана от *Chaetomidium* с 20,11%. Сред термофилите най-разпространени са *Thielavia* и *Mortierella*. Необходими са по-нататъшни изследвания на промените в микробното разнообразие с течение на времето, за да се управляват метаболитните процеси за получаване на качествено почвена добавка.

Abstract

The accumulation of sewage sludge is a severe problem in many countries. Its utilization through composting has the potential to become a widely applied technology. From this perspective, our study investigated the diversity of fungi in mesophilic and thermophilic habitats when composting biosolids, cow manure and wheat straw. It was conducted using a metagenomic approach and next-generation Illumina HiSeq2000 sequencing to reveal the fungal diversity. We found significantly

enhanced microbial activity in the thermophilic phase. In contrast, the activity of enzyme glucosidase was 29% higher in the mesophilic zone. The range of -diversity values was more pronounced in the mesophilic habitats than in the thermophilic habitats based on diversity indices. At the class level, the mesophilic fungi were represented by *Sordariomycetes*-58.7%, *Pezizomycetes*-15.1% and *Agaricomycetes*-12.3%, while the most abundant thermophilic fungi found were *Sordariomycetes*—39.5% and *Pezizomycetes*—9.8%. In the further clarification of genera diversity, it is striking that at 37.2 °C, *Psathyrella* was the most abundant with 35.91%, followed by *Chaetomidium* with 20.11%. Among the thermophiles, *Thielavia* and *Mortierella* were the most common. Further research on microbial diversity changes over time is needed to manage the metabolic processes in obtaining quality soil amendment.

20. Popova, V., Petkova, M., Shilev, S. 2023. Metagenomic approach unravelling bacterial diversity in combined composting and vermicomposting technology of agricultural wastes. Ecologia balkanica (accepted).

Резюме

Селскостопанските отпадъци и тяхното оползотворяване са в основата на политиките на ЕС, свързани с кръговата биоикономика. Превръщането на тези отпадъци в продукти може да се извърши чрез компостиране, последвано от вермикомпостиране. Тъй като ефективността зависи най-вече от участващите микроорганизми, ние имахме за цел да идентифицираме прокариотния микробиом, свързан с четири фази на компостиране и една фаза на вермикомпостиране на пшенична слама и кравешки тор. Използвахме оценка на 16S rDNA PCR ампликон с метагеномната техника на Illumina, генерирайки общо 653 057 таксона от пробите. Температурата имаше основна роля в промените на бактериома при компостиране, влияейки положително на изобилието на видовете, индексите на Shannon и Simpson и отрицателно на Ace и Chao1. Наблюдаваше се намаляване на съотношението C:N от 25,94 до 14,24 и на рН и ЕС съответно от 8,63 до 7,8 и от 2,26 mS.cm⁻¹ до 1,7 mS.cm⁻¹. Клас *Firmicutes* (62%) и *Actinobacteria* (14%) преобладават в изходния материал (SM), докато *Proteobacteria* (51%) и *Bacteroidota* (8%) доминират в първата мезофилна фаза (MP). Подобно на SM, термофилните прокариоти (TP) са представени от *Firmicutes* (54%) и *Actinobacteria* (9%), но също и от *Proteobacteria* (6%). Анализът на основните координати (PCoA) показва значително тегло на общата вариация на

бактериалните таксони (PC1-68,16% и PC2-23,46%. Така PCoA групира заедно SM и TP, на едно място, и двете мезофилни фази и вермикомпоста (COMP) .

Abstract

Agricultural wastes and their valorization are at the heart of the EU policies related to the circular bioeconomy. Conversion of those wastes to products could be made through composting followed by vermicomposting. As the effectiveness mostly depends on the microorganisms involved, we aimed to identify the prokaryotic microbiome associated with four composting phases and one vermicomposting phase of wheat straw and cow manure composting. We used 16S rDNA PCR amplicon evaluation with the Illumina metagenomic technique generating a total of 653,057 taxa from the samples. Temperature had major role in the composting bacteriome changes influencing positively species abundance, Shannon and Simpson indices, and negatively Ace and Chao1. A reduction of C:N ratio from 25.94 to 14.24 and of pH and EC from 8.63 to 7.8 and from 2.26 mS.cm⁻¹ to 1.7 mS.cm⁻¹, respectively, were observed. Phylum *Firmicutes* (62%) and *Actinobacteria* (14%) prevailed in the source material (SM), while *Proteobacteria* (51%) and *Bacteroidota* (8%) dominated in the first mesophilic phase (MP). Similarly to the SM, the thermophilic prokaryotes (TP) were represented by *Firmicutes* (54%) and *Actinobacteria* (9%), but also by *Proteobacteria* (6%). Principal coordinates analysis (PCoA) showed a significant weight of the total variation of bacterial taxa (PC1-68.16% and PC2-23.46%. Thus PCoA grouped together SM and TP, by one site, and both mesophilic phases and the vermicompost (COMP).

21. Benlloch, M., M. Tena, J. Jorin, R. Albuena, R. Requejo, A. Pujadas, A. Lora, F.A. Sanchez, R. Barra, M. Diaz de la Guardia, E. Alcantara, J. M. Fournier, J. Romera, M. A. Ojeda, M. Ginhas, M. J. Benitez, E. D. Sancho, J. Ramos, M. Puig, S. Shilev. 2000. Descontaminacion metálica de suelos del area de Aznalcollar mediante acciones de fitorremediacion que impliquen la utilizacion conjunta de plantas cultivadas y flora autoctona. pp. 117-120. In: Programa de investigacion del corredor verde del Guadiamar: Picover. Junta de Andalucía (Ed.) Consejería de Medio Ambiente. Spain. ISBN: 84-89650-88-8.

Резюме

В настоящата разработка се изследва ефектът от многокомпонентното замърсяване от района на Азнолкояр върху растежа и натрупването на тежки метали в автохтонни и културни видове растения. Проектът се основава на

способностите на някои растения да натрупват тежки метали, когато се развиват в силно замърсена среда. Този тип изследване се планира поради това, че фиторемедиацията е най-ефикасната и сигурна алтернатива на елиминирането от околната среда на метални замърсители. Основната цел на проекта е да се селектират хиперакумулатори с голяма биомаса с лесно култивиране и прибиране с наличните земеделски машини и които представляват нисък риск от разпространение на замърсяването вътре в трофичната верига. Вътре в интегрираната система на фиторемедиацията се намират и селектирани бактерии толерантни на тежки метали, както и използването на хелати, които могат да подпомогнат абсорбцията на метали от растенията. По този начин се стремим да засилим способността за натрупване на метали от растенията и да се разработят специфични методи на индуцирана фиторемедиация за този конкретен вид замърсяване.

Abstract

In the present study, the effect of multicomponent pollution from the Aznolkoyar region on the growth and accumulation of heavy metals in native and cultivated plant species is investigated. The project is based on the ability of some plants to accumulate heavy metals when they grow in highly polluted environments. This type of research is planned because phytoremediation is the most effective and safe alternative to the environmental elimination of metal pollutants. The project's main goal is to select high biomass hyperaccumulators that are easy to cultivate and harvest with available agricultural machinery and pose a low risk of contamination spreading within the trophic chain. Inside the integrated system of phytoremediation are also selected bacteria tolerant to heavy metals, as well as the use of chelates, which can help the absorption of metals by plants. Thus, we aim to enhance the ability of plants to accumulate metals and to develop specific methods of induced phytoremediation for this particular type of pollution.

22. Танева, Г., П. Костадинова, В. Ванчева, Ст. Шилев. 2004. Замърсяване с нефт и нефтепродукти и влиянието им върху морската екосистема в района на град Бургас. Сборник с доклади на петата научно-техническа конференция с международно участие. Екология и здраве 2004 г., стр. 495-500. Пловдив, 20 Май, 2004.

Резюме

Проблемите с нарушения екологичен баланс в Черно море са изключително важни и разнообразни. Основен проблем, особено в района на Бургас се явява петролът и нефтопродуктите. Целта на настоящето изследване беше оценка на състоянието на водите в Бургаския залив по отношение на комплексното им замърсяване, основно с нефтопродукти и влиянието им върху морската екосистема. Установи се тенденция към подобрене на фоновите условия и намаляване на нивата на еутрофикация. Биомасата на планктона остана под ПДК. Значително по-ниски количествени стойности се установиха при зоопланктона.

Abstract

The problems with disturbed ecological balance in the Black Sea are significant and diverse. Oil and oil products are a major problem, especially in the Burgas region. The present study aimed to assess the state of the waters in Burgas Bay in terms of their complex pollution, mainly with oil products, and their impact on the marine ecosystem. A trend towards improving background conditions and reducing eutrophication levels was established. Plankton biomass remained below the MPC. Significantly lower quantitative values were found in zooplankton.

23. Shilev, S., T. Babrikov. 2005. Heavy metal accumulation in Solanaceae-plants grown at contaminated area. pp. 452-460. In: Proceedings of the Balkan Scientific Conference of Biology, Plovdiv, Bulgaria, 19-21 May 2005, (Eds.) B. Gruev, M. Nikolova and A. Donev.

Резюме

Култури, членове на семейство *Solanaceae*, домати (*Lycopersicon esculentum* L.), патладжан (*Solanum melongena* L.) и пипер (*Capsicum annum* L.), се отглеждаха в промишлено замърсен регион. Опитните участъци бяха разположени на две различни разстояния (0,5 и 15 км) от източника на замърсяване – Комбината за цветни метали (КЦМ) в близост до Пловдив. Изследвахме нивото на замърсяване на почвата и концентрацията в надземните части на растението с тежки метали, като взехме почвени и растителни проби. Съдържанието на тежки метали в растенията (корени, стъбла, листа, семена, цветове) се определя по метода на влажната минерализация. Количествените измервания бяха извършени с атомно-абсорбционна спектроскопия (AAS). Установихме, че нивото на замърсяване на почвата зависи от разстоянието от източника (NFMS) и е много високо, достигайки концентрации от 630 mg Pb kg⁻¹, 13,2 mg Cd kg⁻¹, 60,1

mg Cu kg⁻¹, 974 mg Zn kg⁻¹. Наблюдаваше се силно изразена тенденция към намаляване на съдържанието на тежки метали в тези култури с увеличаване на разстоянието от NFMS. Културите от семейство *Solanaceae* са култури, които не са подходящи за отглеждане в промишлено замърсени райони. Те извличат значителни количества тежки метали от почвата с корените, листата и плодовете си и са потенциална отрова за крайния потребител на хранителна верига. Микробиологичната активност беше силно повлияна от замърсяването. С намаляване на замърсяването се повишаваше активността на микроорганизмите (на 0,5 km от NFMS), докато в близост до фабриката физиологичните групи и микробното дишане бяха с намалени стойности.

Abstract

Crops members of the family *Solanaceae*, tomato (*Lycopersicon esculentum* L.), eggplant (*Solanum melongena* L.) and pepper (*Capsicum annum* L.), were grown in industrially polluted region. The experimental plots were situated at two different distances (0.5 and 15 km) from the source of pollution—the Non-Ferrous-Metal Smelter (NFMS) near to Plovdiv. We investigated the level of soil contamination and the concentration in aerial parts of the plant with heavy metals, by taking soil and plant samples. The plant heavy metals content (roots, stems, leaves, seeds, flowers) were determined after the method of the wet mineralization. The quantitative measurements were carried out with atomic absorption spectroscopy (AAS). We found that the level of soil contamination depends of the distance from the source (NFMS) and is very high, reaching levels of 630 mg Pb kg⁻¹, 13.2 mg Cd kg⁻¹, 60.1 mg Cu kg⁻¹, 974 mg Zn kg⁻¹. A strongly exhibited tendency towards decrease of the contents of heavy metals in these crops is observed as the distance from the NFMS increases. The crops from the family of *Solanaceae* are cultures that are not suitable for growing in industrially polluted regions — they remove considerable quantities of heavy metals from the soil with their roots, leaves and fruit-sets, and are potential poison for the end consumer of the nutrient net. The microbiological activity was strongly influenced by the contamination. Decreasing the contamination the microorganisms' activity goes up (at 0.5 km from the NFMS), while near to the factory the physiological groups and microbial respiration had a reduced levels.

24. Kirchner, M., Aranda, E., Panayiotopoulos, A., Radojic-Rednovnikov, I., Romantschuk, M., Ryberg, M., Schock, G., Shilev, S., Stanescu, M.D., Stankeviciute, J., Surmacz-Górska, J., Tsipa, A., Vasquez, M., Villano, M., Vorgias, C.A. 2023.

Treatment and valorization of bio-waste in the EU. EFB Bioeconomy Journal, 100051, DOI:10.1016/j.bioeco.2023.100051.

Резюме

Отдалечаване от изкопаемите горива изисква индустриалните сектори да преминат към възобновяеми суровини. Единият вариант е преработката на биомаса. Земеделското, горското и морското производство на биомаса обаче не може да се разширява безкрайно. Следователно линейните вериги на стойността, установени в икономиката, базирана на изкопаеми горива, водещи от първичната суровина до продуктите и след това до отпадъците, не са устойчив вариант. Вместо това са необходими кръгови вериги за стойност, които рециклират отпадъците и ги правят отново достъпни като суровина. Това важи и за биоотпадъците, тъй като възникват при първичното производство на биомаса, както и за остатъчните и отпадъчни материали от тяхната преработка, използване и обезвреждане. Този документ докладва за обемите и текущата обработка на биоотпадъци в ЕС, представя опции за рециклиране, които могат да доведат до по-висока добавена стойност и заетост, както и по-нисък отпечатък върху околната среда, и също така обсъжда необходимите научни изследвания, инфраструктура и рамкови условия.

Abstract

Moving away from fossil feedstock requires industrial sectors to switch to renewable raw materials. One option is the processing of biomass. However, agricultural, forestry and marine production of biomass cannot be expanded indefinitely. The linear value chains established in the fossil-based economy, leading from primary raw material to products and then to waste, are therefore no sustainable option. Instead circular value chains that recycle waste and make it available again as a raw material are needed. This also applies to bio-waste, as it arises in the primary production of biomass, as well as residual and waste materials from their processing, use and disposal. This paper reports on the volumes and current processing of bio- and biogenic wastes in the EU, presents recycling options that can lead to higher value added and employment as well as a lower environmental footprint, and also discusses the research, infrastructure and framework conditions needed.

25. Грозев, К., В. Попова, М. Петкова, Ст. Шилев. Сравнително изследване на почвената микробиална активност при органично и минерално торене на житни култури. Наука, технологии, иновации и бизнес, Сборник с доклади от

Национален младежки форум „Наука, технологии, иновации и бизнес“ 27-28 април, 2023, Пловдив, ISSN: 2367-8569, стр. 289-293.

Резюме

Минералното и органичното торенето играят важна роля за растежа на културите и подобряването на почвата. Настоящото изследване е проведено за определяне влиянието на двете системи на торене върху съвместното отглеждане на овес (*Avena sativa* L.) и фий (*Vicia sativa* L.). Експерименти бяха подредени пълен блоков дизайн с три повторения през вегетационни сезони на 2022 г. Основните етапи на вземане на почвените проби са (1) Предсеитбено, (2) Фаза трети лист, (3) Фаза на зреене, (4) фаза зелено торене. Според получените данни забелязваме най-висок общ брой бактерии на специализирани хранителни среди в периодите предсеитбено и фаза зелено торене, през фаза трети лист е отчетено намаляване на общия брой микроорганизми. Получените данни показват, че най-висок общ брой микроорганизми е отчетен в периодите предсеитбено и фаза зелено торене, през фаза трети лист е отчетен. Дехидрогеназната активност значително е по-ниска в началните две фази на отглеждане на културите, отколкото във фазата на узряване с фазата зелено торене. В този доклад се доказват полезните свойства на интеркропинга между овес и фий, с изследване чрез общо микробно число и дехидрогеназна активност.

Abstract

Mineral and organic fertilization is essential in crop growth and soil improvement. The present study was conducted to determine the effect of the two fertilization systems on the intercropping of oats (*Avena sativa* L.) and vetch (*Vicia sativa* L.). Experiments were arranged in a complete block design with three replications during the growing season 2022. The main stages of soil sampling are (1) Pre-sowing, (2) Third leaf phase, (3) Ripening phase, (4) Green manure phase. According to the obtained data, we noticed the highest number of bacteria on specialized food media in the pre-sowing and green fertilizing phases; during the third leaf phase, a decrease in the total number of microorganisms was recorded. The obtained data show that the highest number of microorganisms was reported during the third leaf phase in the pre-sowing and green fertilization phases. Dehydrogenase activity was significantly lower in the initial two phases of crop growth than in the ripening phase with the green manure phase. This report demonstrates the beneficial properties of intercropping between oats and fenugreek by examining total microbial counts and dehydrogenase activity.

26. Shilev, S., M. Benlloch, E. Dios-Palomares, E. D. Sancho. 2008. Phytoremediation of metal contaminated soils for improving food safety, pp. 225-242, In: Costa R. and K. Kristbergsson (Eds.) "Predictive modeling and risk assessment", Series: Integrating Safety and Environmental Knowledge Into Food Studies towards European Sustainable Development, Vol. 4, ISBN-10: 0387335129, ISBN-13 978-0387335124, Springer.

Резюме

Замърсяването е сериозен проблем, който предизвика голям интерес в нашето общество и научната общност. Поради различни човешки дейности вносът на метали в почвите се е увеличил през последните няколко десетилетия. В наши дни пазарът на фиторемедиация заема съществено място в регенерационния бизнес. Настоящата публикация обсъжда съдбата на токсичните метали в околната среда, оценката на риска и биодостъпността на металите. Направен е преглед на фитотехнологиите. Специален акцент беше отделен на фитоекстракцията на арсен. В този проект са направени математически модели на поемане на катиони от корените, движение на метали в почвата, повърхностни потоци и др.

Abstract

Contamination is a severe problem that provoked great interest in our society and the scientific community. Due to different human activities, the input of metals into the soils has increased during the last few decades. Nowadays, the phytoremediation market occupies an essential place in the restoration business. The present book chapter discusses the fate of toxic metals in the environment, the risk assessment, and the bioavailability of the metals. An overview of the phytotechnologies has been made. Special emphasis was paid to the phytoextraction of the arsenic – a case study. In this project, mathematical models of root uptake of cations, metal movement in soil, surface flows, etc., have been made.