

**Резюмета на английски и български език от Научните публикации
на гл.ас. д-р Неделина Стоянова Костадинова**

За участие в конкурс за „Доцент” в професионално направление 4.3.
Биологически науки (Микробиология),
Обява ДВ бр. 13/15.02.2022г.

**ПУБЛИКАЦИИ ПОКРИВАЩИ МИНИМАЛНИТЕ ИЗИСКВАНИЯ ЗА
АКАДЕМИЧНА ДЛЪЖНОСТ „ДОЦЕНТ“**

1. R. Abrashev, E. Krumova, P. Petrova, R. Eneva, N. Kostadinova, J. Miteva-Staleva, S. Engibarov, G. Stoyancheva, Y. Gocheva, V. Kolyovska, V. Dishliyska, B. Spassova, M. Angelova (2021) Distribution of a novel enzyme of sialidase family among native filamentous fungi, *Fungal Biology*, ,ISSN 1878-6146

Sialidases (neuraminidases, EC 3.2.1.18) are widely distributed in biological systems but there are only scarce data on its production by filamentous fungi. The aim of this study was to obtain information about sialidase distribution in filamentous fungi from non-clinical isolates, to determine availability of sialidase gene, and to select a perspective producer. A total of 113 fungal strains belonging to Ascomycota and Zygomycota compassing 21 genera and 51 species were screened. Among them, 77 strains (11 orders, 14 families and 16 genera) were able to synthesize sialidase. Present data showed a habitat-dependent variation of sialidase activity between species and within species, depending on location. Sialidase gene was identified in sialidase-positive and sialidase-negative strains. Among three perspective strains, the best producer was chosen based on their sialidase production depending on type of cultivation, medium composition, and growth temperature. The selected *P. griseofulvum* P29 was cultivated in 3L bioreactor at 20 °C on medium supplemented with 0.5% milk whey. The results demonstrated better growth and 2.3-fold higher maximum enzyme activity compared to the shaken flask cultures. Moreover, the early occurring maximum (48 h) is an important prerequisite for future up scaling of the process.

Keywords: Fungal Sialidase/Neuraminidase; Prevalence; Production; Sialidase gene identification.

Сиалидазите (неураминидази, EC 3.2.1.18) са широко разпространени в биологичните системи, но има само оскъдни данни за производството им от филаментозни гъби. Целта на това проучване е да се получи информация за разпределението на сиалидаза във филаментозни гъби от неклинични изолати, да се определи наличието на сиалидазния ген и да се избере перспективен продуцент. Бяха изследвани общо 113 щама гъби, принадлежащи към *Ascomycota* и *Zygomycota*, обхващащи 21 рода и 51 вида. Сред тях 77 щама (11 разреда, 14 семейства и 16 рода) бяха в състояние да синтезират сиалидаза. Настоящите данни показват зависима от местообитанието вариация на активността на сиалидазата между видовете и в рамките на видовете, в зависимост от местоположението. Генът на сиалидаза бе идентифициран

в сиалидаза-позитивни и сиалидаза-отрицателни шамове. Измежду три перспективни щама, най-добрият производител беше избран въз основа на производството на сиалидаза в зависимост от вида на култивиране, състава на средата и температурата на растеж. Избраният *P. griseofulvum* P29 бе култивиран в 3L биореактори при 20 °C върху среда, обогатена с 0,5% млечна суроватка. Резултатите показват по-добър растеж и 2,3 пъти по-висока максимална ензимна активност в сравнение с културите, при които има разбъркване на колбите. Освен това ранният максимум в активността (48 часа) е важна предпоставка за бъдещо увеличаване на мащаба на процеса.

Ключови думи: Гъбична сиалидаза/неураминидаза; Разпространение; Производство; Идентификация на гена на сиалидазата

2. Hristina Angelova; Daniela Pechlivanova; Ekaterina Krumova; Jeny Miteva-Staleva; Nedelina Kostadinova; Elena Dzhambazova; Boycho Landzhov. (2019) Moderate protective effect of Kyotorphin against the late consequences of intracerebroventricular streptozotocin model of Alzheimer's disease. Behavioural Pharmacology, Amino Acids, 51(10–12), pp 1501–1513, DOI: 10.1007/s00726-019-02784-5 (IF 3.063 - Scopus- Q1)

The established decrease in the level of endogenous kyotorphin (KTP) into the cerebrospinal fluid of patients with an advanced stage of Alzheimer's disease (AD) and the found neuroprotective activity of KTP suggested its participation in the pathophysiology of the disease. We aimed to study the effects of subchronic intracerebroventricular (ICV) treatment (14 days) with KTP on the behavioral, biochemical and histological changes in rats with streptozotocin (STZ-ICV)-induced model of sporadic AD (sAD). Three months after the administration of STZ-ICV, rats developed increased locomotor activity, decreased level of anxiety, impaired spatial and working memory. Histological data from the STZ-ICV group demonstrated decreased number of neurons in the CA1 and CA3 subfields of the hippocampus. The STZ-ICV group was characterized with a decrease of total protein content in the hippocampus and the prefrontal cortex as well as increased levels of the carbonylated proteins in the hippocampus. KTP treatment of STZ-ICV rats normalized anxiety level and regained object recognition memory. KTP abolished the protein loss in prefrontal cortex and decrease the neuronal loss in the CA3 subfield of the hippocampus. STZ-ICV rats, treated with KTP, did not show significant changes in the levels of the carbonylated proteins in specific brain structures or in motor activity and spatial memory compared to the saline-treated STZ-ICV group. Our data show a moderate and selective protective effect of a subchronic ICV administration of the dipeptide KTP on the pathological changes induced by an experimental model of sAD in rats.

Keywords: Kyotorphin, Alzheimer's disease, Anxiety, Memory, Hippocampus

Установеното понижениe на нивото на ендогенния киоторфин (KTP) в цереброспиналната течност на пациенти с напреднал стадий на болестта на Алцхаймер (AD) и установената невропротективна активност на KTP предполагат участието му в патофизиологията на заболяването. Целта ни беше да проучим ефектите от субхроничното интрацеребровентрикуларно (ICV) лечение (14 дни) с KTP върху поведенческите, биохимичните и хистологичните промени при плъхове със стрептозотоксин (STZ-ICV)-индуциран модел на спорадична AD (sAD). Три

месеца след приложението на STZ-ICV, плъховете развиха повишена двигателна активност, понижено ниво на тревожност, нарушена пространствена и работна памет. Хистологичните данни от STZ-ICV групата показват намален брой неврони в подполета CA1 и CA3 на хипокампуса. STZ-ICV групата се характеризира с намаляване на общото съдържание на протеин в хипокампуса и префронталния кортекс, както и с повишени нива на карбонилирани протеини в хипокампуса. Лечението с КТР на STZ-ICV плъхове нормализира нивото на тревожност и възвръща паметта за разпознаване на обекти. КТР елиминира загубата на протеин в префронталния кортекс и намали загубата на неврони в подполето CA3 на хипокампуса. STZ-ICV плъхове, лекувани с КТР, не показаха значителни промени в нивата на карбонилираните протеини в специфични мозъчни структури или в двигателната активност и пространствената памет в сравнение с групата, третирана с физиологичен разтвор STZ-ICV. Нашите данни показват умерен и селективен защитен ефект на субхроничното ICV приложение на дипептида КТР върху патологичните промени, предизвикани от експериментален модел на sAD при плъхове.

Ключови думи: Киоторфин, Болест на Алцхаймер, Тревожност, Памет, Хипокампус

3. Stoyancheva, G., Dishliyska, V., Miteva-Staleva, J., Kostadinova N., Abrashev R., Angelova M., Krumova E. (2022) Sequencing and gene expression analysis of catalase genes in Antarctic fungal strain *Penicillium griseofulvum* P29. *Polar Biol* <https://doi.org/10.1007/s00300-021-03001-4> (IF 2.310 - Q1 –Scopus)

Catalases are key antioxidant enzymes in aerobic organisms, including fungi that mitigate oxidative stress by detoxification of cellular hydrogen peroxide. Filamentous fungi possess an increasing number of catalases that have been object of growing interest. Despite the many studies on catalase enzymes, data on cold-active catalases are extremely scarce. The Antarctic strain *Penicillium griseofulvum* is a producer of a cold-active catalase. The growth at temperature below optimum lead to enhanced enzyme synthesis as a response to low-temperature induced oxidative stress. The aim of the present study was to detect and sequence the catalase genes present in the *P. griseofulvum* P29 and to determine whether these genes are associated with cell survival at low temperatures. In addition, the expression level of each of them under cold stress was investigated. Using PCR and sequencing the presence of five catalase genes was evaluated. The expression levels of these fungal catalases were quantified with reverse-transcription Quantitative Real-Time PCR (RT-PCR). The results demonstrated that four of the genes were induced by low temperature as a response to oxidative stress. The most pronounced increase in the expression of the gene *cat1*, encoding catalase-peroxidase enzyme was measured. The present evidence suggested that these four genes and mainly *cat1* are involved in the mechanism enables the growth of *P. griseofulvum* P29 under conditions of oxidative stress induced by low-temperature.

Keywords: Antarctic, *Penicillium griseofulvum*, Cold-active catalase, Gene expression, Cold environment, Soil fungi

Каталазите са ключови антиоксидантни ензими в аеробните организми, включително гъбичките, които намаляват оксидативния стрес чрез детоксикация на клетъчния водороден пероксид. Филаментозните гъби притежават все по-голям

брой каталази, които са обект на нарастващ интерес. Въпреки многото изследвания върху каталазните ензими, данните за нискотемпературно активните каталази са изключително оскъдни. Антарктическият щам *Penicillium griseofulvum* е продуцент на нискотемпературно-активна каталаза. Растежът при температура под оптималната води до засилен синтез на ензими в отговор на предизвикан от ниска температура оксидативен стрес. Целта на настоящото изследване бе да се открият и секвенират каталазните гени, налични в *P. griseofulvum* P29 и да се определи дали тези гени са свързани с оцеляването на клетките при ниски температури. Освен това беше изследвано нивото на експресия на всеки от тях при нискотемпературен стрес. С помощта на PCR и секвениране беше определено присъствието на пет каталазни гена. Нивата на експресия на тези гъбични каталази се определят количествено с количествена PCR в реално време с обратна транскрипция (RT-PCR). Резултатите показват, че четири от гените са индуцирани от ниска температура като отговор на оксидативния стрес. Измерено е най-изразеното увеличение на експресията на гена *cat1*, кодиращ ензима каталаза-пероксидаза. Настоящите доказателства предполагат, че тези четири гена и главно *cat1* са включени в механизма, позволяващ растежа на *P. griseofulvum* P29 при условия на оксидативен стрес, предизвикан от ниска температура.

Ключови думи: Антарктика, *Penicillium griseofulvum*, нискотемпературно-активна каталаза, Генна експресия, Студено местообитание, Почвени гъби

4. R. Abrashev, G. Feller, N. Kostadinova, E. Krumova, Z. Alexieva, M. Gerginova, B. Spasova, J. Miteva-Staleva, S. Vassilev, M. Angelova. (2016) PRODUCTION, PURIFICATION AND CHARACTERIZATION OF A NOVEL COLD-ACTIVE SUPEROXIDE DISMUTASE FROM THE ANTARCTIC STRAIN ASPERGILLUS GLAUCUS 363. *Fungal biology*, Volume 120, Issue 5, 679–689 (IF 2.468 – Web of Science – Q1)

The Antarctic fungal strain *Aspergillus glaucus* 363 produces cold-active (CA) Cu/Zn-superoxide dismutase (SOD). The strain contains at least one gene encoding Cu/Zn-SOD that exhibited high homology with the corresponding gene of other *Aspergillus* species. To our knowledge, this is the first nucleotide sequence of a CA Cu/Zn-SOD gene in fungi. An effective laboratory technology for *A. glaucus* SOD production in 3 L bioreactors was developed on the basis of transient cold-shock treatment. The temperature downshift to 10 °C caused 1.4-fold increase of specific SOD activity compared to unstressed culture. Maximum enzyme productivity was $64 \times 10(3) \text{ U kg}(-1) \text{ h}(-1)$. Two SOD isoenzymes (Cu/Zn-SODI and Cu/Zn-SODII) were purified to electrophoretic homogeneity. The specific activity of the major isoenzyme, Cu/Zn-SODII, after Q-Sepharose chromatography was $4000 \text{ U mg}(-1)$. The molecular mass of SODI (38 159 Da) and of SODII (15 835 Da) was determined by electrospray quadropole time-of-flight (ESI-Q-TOF) mass spectrometry and dynamic light scattering (DLS). The presence of Cu and Zn were confirmed by inductively coupled plasma mass spectrometry (ICP-MS). The N-terminal amino acid sequence of Cu/Zn-SODII revealed a high degree of structural homology with Cu/Zn-SOD from other fungi, including *Aspergillus* species.

Антарктическият шам гъби *Aspergillus glaucus* 363 продуцира нискотемпературно-активна (CA) Cu/Zn-супероксид дисмутаза (SOD). Щамът съдържа поне един ген, кодиращ Cu/Zn-SOD, който показва висока хомология със съответния ген на други видове *Aspergillus*. Доколкото ни е известно, това е първата нуклеотидна последователност на CA Cu/Zn-SOD ген при гъби. Разработена е ефективна лабораторна технология за производство на *A. glaucus* SOD в 3 L биореактори на базата на временно третиране с нискотемпературен шок. Понижаването на температурата до 10 °C причинява 1,4-кратно увеличение на специфичната SOD активност в сравнение с култура не подложена на стрес. Максималната ензимна производителност е $64 \times 10(3)$ U kg(-1) h(-1). Два SOD изоензима (Cu/Zn-SODI и Cu/Zn-SODII) бяха пречистени до електрофоретична хомогенност. Специфичната активност на основния изоензим, Cu/Zn-SODII, след Q-сефарозна хроматография е 4000 U mg(-1). Молекулната маса на SODI (38 159 Da) и на SODII (15 835 Da) бе определена чрез мас-спектрометрични методи - electrospray quadropole time-of-flight (ESI-Q-TOF) и dynamic light scattering (DLS). Наличието на Cu и Zn беше потвърдено чрез индуктивно свързана плазмена мас спектрометрия (ICP-MS). N-терминалната аминокиселинна последователност на Cu/Zn-SODII разкрива висока степен на структурна хомология с Cu/Zn-SOD от други гъби, включително видове *Aspergillus*.

Ключови думи: антарктически гъби; Биосинтеза; нискотемпературно-активна СОД; Cu/Zn-SOD гена последователност; Ензимна характеристика

5. Krumova, E, Abrashev, R, Dishliyska, V, Stoyancheva, G, Kostadinova, N, Miteva-Staleva, J, et al. (2021) Cold-active catalase from the psychrotolerant fungus *Penicillium griseofulvum*. *J Basic Microbiol.* 61: 782–794. <https://doi.org/10.1002/jobm.202100209> (IF 2.281 - Q2 – Scopus)

Cold-active catalase (CAT) elicits great interest because of its vast prospective at the medical, commercial, and biotechnological levels. The study paper reports the production of cold-active CAT by the strain *Penicillium griseofulvum* P29 isolated from Antarctic soil. Improved enzyme production was achieved by optimization of medium and culture conditions. Maximum CAT was demonstrated under low glucose content (2%), 10% inoculum size, temperature 20°C, and dissolved oxygen concentration (DO) 40%. An effective laboratory technology based on changing the oxidative stress level through an increase of DO in the bioreactor was developed. The used strategy resulted in a 1.7- and 1.4-fold enhanced total enzyme activity and maximum enzyme productivity. The enzyme was purified and characterized. *P. griseofulvum* P29 CAT was most active at approximately 20°C and pH 6.0. Its thermostability was in the range between 5°C and 40°C.

Keywords: Antarctic fungi; cold-active catalase; cold-adapted properties; improved enzyme production; laboratory technology.

Нискотемпературно-активната каталаза (CAT) предизвиква голям интерес поради огромната си перспектива в медицинско, търговско и биотехнологично отношение. Настоящото изследване съобщава за производството на нискотемпературно-активен ензим CAT от щама *Penicillium griseofulvum* P29, изолиран от антарктическа почва. Чрез оптимизиране на условията на средата и културата беше

постигнато подобро производство на ензима. Максимална стойност на САТ беше демонстрирана при ниско съдържание на глюкоза (2%), 10% инокулум, температура 20°C и концентрация на разтворен кислород (DO) 40%. Разработена е ефективна лабораторна технология, базирана на промяна на нивото на оксидативния стрес чрез повишаване на DO в биореактора. Използваната стратегия доведе до 1,7- и 1,4-кратно повишена обща ензимна активност и максимална ензимна производителност. Ензимът беше пречистен и охарактеризиран. Каталазата получена от *P. griseofulvum* P29 е най-активна при приблизително 20°C и рН 6,0. Термостабилността му е в диапазона между 5°C и 40°C.

Ключови думи: антарктически гъби; нискотемпературно-активна каталаза; адаптация към студени условия; подобро производство на ензими; лабораторна технология.

6. Ekaterina Krumova, Milena Nikolova, Jency Miteva-Staleva, Nedelina Kostadinova, Radoslav Abrashev, Vladyslava Dishliyska, Strahil Berkov, Blaga Mutafova, Maria Angelova (2021) BIO-EFFICACY OF THE ESSENTIAL OIL ISOLATED FROM *ORIGANUM VULGARE* SUBSP. *HIRTUM* AGAINST FUNGAL PATHOGENS OF POTATO, *Comptes rendus de l'Academie bulgare des Sciences*, Tome 74, No 10 (IF 0.378 - Q2,-Scopus)

Application of fungicides of natural origin against phytopathogens became an important strategy in modern agriculture. There is an increased interest to essential oils from plants. To our knowledge, there are only a few data on activity of essential oil from *Origanum vulgare* subsp. *hirtum* against pathogenic fungal species. The aim of the present study was to give new evidence about fungicidal effect of oregano oil on major potato pathogens, namely *Fusarium solani*, *Fusarium oxysporum*, *Neocosmospora* sp., *Alternaria solani*, *Alternaria alternata*, and *Botrytis cinerea*. The results revealed species-dependent fungicidal effect against all of the tested strains evaluated by agar well diffusion method. The minimum inhibitory concentrations against potato pathogens assessed by resazurin-based broth micro-dilution method after treatment for 48 h ranged between 0.2 and 0.8 $\mu\text{L}/\text{mL}$. The most sensitive to oregano oil was *A. alternata* (0.2 $\mu\text{L}/\text{mL}$), followed by *F. oxysporum*, *F. solani*, *A. solani*, and *B. cinerea* (0.4 $\mu\text{L}/\text{mL}$) and *N. keratoplastica* (0.8 $\mu\text{L}/\text{mL}$). The strong inhibitory effect on the fungal growth should be attributed to the high carvacrol content (77.44%) in the essential oil used in this study.

Key words: antifungal activity, essential oil, *Origanum vulgare* subsp. *hirtum*, potato pathogens

Прилагането на фунгициди от естествен произход срещу фитопатогени се превърна във важна стратегия в съвременното земеделие. Има повишен интерес към етеричните масла от растения. Доколкото ни е известно, има само малко данни за активността на етеричното масло от *Origanum vulgare* subsp. *hirtum* срещу патогенни гъбични видове. Целта на настоящото изследване бе да даде нови доказателства за фунгицидния ефект на маслото от риган върху основните патогени по картофите, а именно *Fusarium solani*, *Fusarium oxysporum*, *Neocosmospora* sp., *Alternaria solani*, *Alternaria alternata* и *Botrytis cinerea*. Резултатите разкриват зависимост от вида фунгициден ефект срещу всички тествани щамове, оценени чрез метода на дифузия в

агарова среда. Минималните инхибиторни концентрации срещу патогените по картофите, оценени чрез метод за микроразреждане на хранителна среда на базата на резазурин след третиране в продължение на 48 часа, варират между 0,2 и 0,8 $\mu\text{L}/\text{mL}$. Най-чувствителна към маслото от риган е *A. alternata* (0,2 $\mu\text{L}/\text{mL}$), следвана от *F. oxysporum*, *F. solani*, *A. solani* и *B. cinerea* (0,4 $\mu\text{L}/\text{mL}$) и *N. keratoplastica* (0,8 $\mu\text{L}/\text{mL}$). Силният инхибиторен ефект върху растежа на гъбичките би трябвало да се дължи на високото съдържание на карвакрол (77,44%) в етеричното масло, използвано в това проучване.

Ключови думи: противогъбична активност, етерично масло, *Origanum vulgare* subsp. *hirtum*, патогени по картофите

7. Ekaterina Krumova, Nikolai Andreyinski, Radoslav Abrashev, Galina Stoyancheva, Nedelina Kostadinova, Jeny Miteva-Staleva, Vladislava Dishlijska, Borjana Spasova & Maria Angelova (2021) Comparison of the Oxidative Stress Response of Two *Aspergillus fumigatus* Strains Isolated from Polluted Soils against Combined Heavy Metal Toxicity, *Geomicrobiology Journal*, 38:6, 515-523, DOI: 10.1080/01490451.2021.1897712 (IF 1.73 – Q –Scopus)

Heavy metal polluted soils are major sources of fungi exhibiting high tolerance toward metal toxicity. These fungi use various defense mechanisms to survive under extreme conditions. But, a little is known about the role of antioxidant response in the fungal tolerance to varied concentrations of mixture of metal ions. The aim of present study was to compare the cell response of two *Aspergillus fumigatus* strains, isolated from heavily polluted soils, against multi-metal (Cd, Cu, Ni, and Zn ions) treatment. Both strains demonstrated high tolerance to increasing concentrations of multi-metal systems. The data confirmed a relationship between oxidative stress and heavy metal toxicity. The treatment with multi-metal mixture declined fungal growth, glucose uptake and extracellular protein synthesis in a dose-dependent manner. Combination of heavy metal ions in diverse concentrations induced an increase in the levels of carbonylated-damaged proteins and changes in glycogen and trehalose content. Our results showed a distinct profile of antioxidant enzymes. While the SOD activity was stimulated by metal containing solutions, CAT activity tended to decrease. Comparison between both strains revealed that *A. fumigatus* G showed higher tolerance than *A. fumigatus* 3-2 with increasing concentrations of multi-metal systems due to more active antioxidant defence.

Keywords: Antioxidant enzymes, *Aspergillus fumigatus*, biomarkers of oxidative stress, multi-heavy metal toxicity, polluted soils

Замърсените с тежки метали почви са основни източници на гъби, проявяващи висока толерантност към метална токсичност. Тези гъби използват различни защитни механизми, за да оцелеят при екстремни условия. Но малко се знае за ролята на антиоксидантния отговор в толерантността на гъбите към различни концентрации на смеси от метални йони. Целта на настоящото изследване бе да се сравни клетъчният отговор на два щама *Aspergillus fumigatus*, изолирани от силно замърсени почви, срещу третиране с множество метали (Cd, Cu, Ni и Zn йони). И двата щама демонстрират висока толерантност към нарастващи концентрации на мултиметални смеси. Данните

потвърждават връзката между оксидативния стрес и токсичността на тежките метали. Третирането с мултиметална смес намалява растежа на гъбите, усвояването на глюкоза и извънклетъчния протеинов синтез по зависим от дозата начин. Комбинацията от йони на тежки метали в различни концентрации предизвиква повишаване нивата на оксидативно-увредените протеини и промени в съдържанието на гликоген и трехалоза. Нашите резултати показаха различен профил на антиоксидантните ензими. Докато активността на SOD се стимулира от разтвори, съдържащи метал, активността на CAT има тенденцията да намалява. Сравнението между двата щамове разкри, че *A. fumigatus* G показва по-висока толерантност от *A. fumigatus* 3-2 при нарастващи концентрации на мултиметални смеси поради по-активната антиоксидантна защита.

Ключови думи: Антиоксидантни ензими, *Aspergillus fumigatus*, биомаркери на оксидативен стрес, токсичност от много тежки метали, замърсени почви

8. Ekaterina Krumova, Nedelina Kostadinova, Jeni Miteva-Staleva, Galina Stoyancheva, Radoslav Abrashev, Vladislava Dishlijska, Boryana Spasova, Maria Angelova (2020) SELECTION OF CATALASE PRODUCERS AMONG ANTARCTIC FUNGI, C. R. Acad. Bulg. Sci., 73, No 2, pp. 220-226, 2020 (IF 0.380- Q2- Scopus)

During a survey of cold-adapted fungi in the permanent Bulgarian Antarctic base on Livingston Island, 19 fungal strains isolated at temperature 4 °C demonstrated significant extra- and intracellular catalase activity. Thus, Antarctic fungi could be a suitable source for producing cold-active catalase enzymes. Among these strains, *Penicillium chrisogenum* and *Aspergillus fumigatus* were selected as perspective producers. Maximum enzyme production was achieved at a temperature 25 °C after 96 h submerged cultivation. Both strains exhibited intracellular catalase level comparable to the published data. *P. chrisogenum* presented three times higher extracellular activity than *A. fumigatus*.

Key words: Antarctica, filamentous fungi, enzymes, catalase

При изследване на адаптирани към студени условия гъби в постоянната Българска Антарктическа база на остров Ливингстън, 19 щамове гъби, изолирани при температура 4 °C, демонстрират значителна извънклетъчна и вътреклетъчна каталазна активност. Следователно, антарктическите гъби могат да бъдат подходящ източник за производство на нискотемпературно-активни каталазни ензими. Сред тези щамове, *Penicillium chrisogenum* и *Aspergillus fumigatus* бяха избрани като перспективни продуценти. Максимално производство на ензими бе постигнато при температура 25 °C след 96 ч. дълбочинно култивиране. И двата щамове показаха ниво на вътреклетъчната каталаза, сравнимо с публикуваните данни. *P. chrisogenum* демонстрира три пъти по-висока извънклетъчна активност от *A. fumigatus*.

Ключови думи: Антарктида, филаментозни гъби, ензими, каталаза

9. Pechlivanova D, Krumova E, Kostadinova N, Mitreva-Staleva J, Grozdanov P, Stoynev A. (2020) Protective effects of losartan on some type 2 diabetes mellitus-induced complications in Wistar and spontaneously hypertensive rats.; Metab Brain Dis. Jan 29. doi: 10.1007/s11011-020-00534-1 (IF 3.088 - Q2- Scopus)

Diabetes mellitus type 2 (T2DM) is characterized by resistance of insulin receptors and/or inadequate insulin secretion resulting in metabolic and structural complications including vascular diseases, arterial hypertension and different behavioral alterations. We aimed to study the effects of the antihypertensive angiotensin AT1 receptor antagonist losartan on the T2DM-induced changes of exploratory behavior, anxiety, nociception and short term memory in normotensive Wistar and spontaneously hypertensive rats (SHRs). The experimental model of T2DM induced by a combination of high fat diet and streptozotocin, decreased exploratory activity and increased the level of carbonylated proteins in selected brain structures in both strains; as well it increased corticosterone level, pain threshold, anxiety-like behavior, and decline short term memory only in SHRs. Losartan treatment alleviated some of the T2DM- induced metabolic complications, abolished the T2DM-induced hypo activity, and normalized the corticosterone level, carbonylated proteins in brain, nociception and memory. Losartan did not exert effect on the anxiety behavior in both strains. We showed that T2DM exerted more pronounced negative effects on the rats with comorbid hypertension as compared to normotensive rats. Overall effects on the studied behavioral parameters are related to decreased exploration of the new environment, increased anxiety-like behavior, and decline in short-term memory. The systemic sub-chronic treatment with an angiotensin AT1 receptor antagonist losartan ameliorated most of these complications.

Keywords: Anxiety; Diabetes mellitus type 2; Losartan; Memory; Renin Angiotensin Aldosterone System.

Захарен диабет тип 2 (T2DM) се характеризира с резистентност на инсулиновите рецептори и/или неадекватна инсулинова секреция, водеща до метаболитни и структурни усложнения, включително съдови заболявания, артериална хипертония и различни поведенчески промени. Целта ни беше да проучим ефектите на антихипертензивния ангиотензин AT1 рецепторен антагонист лосартан върху индуцирани от T2DM промени в изследователското поведение, тревожност, ноцицепция и краткосрочна памет при нормотензивни Wistar и спонтанно хипертонични плъхове (SHRs). Експерименталният модел на T2DM, индуциран от комбинация от диета с високо съдържание на мазнини и стрептозотоцин, намалява проучвателната активност и повишава нивото на карбонилирани протеини в избрани мозъчни структури и в двата щам; освен това повишава нивото на кортикостерон, прага на болката, поведението, подобно на тревожност, и намалява краткосрочната памет само при SHR. Лечението с лосартан облекчи някои от метаболитните усложнения, предизвикани от T2DM, премахва хипоактивността, предизвикана от T2DM, и нормализира нивото на кортикостерон, карбонилираните протеини в мозъка, ноцицепцията и паметта. Лосартан не оказва влияние върху тревожността и при двата щам. Ние показахме, че T2DM оказва по-изразени негативни ефекти върху плъхове с коморбидна хипертония в сравнение с нормотензивни плъхове. Цялостните ефекти върху изследваните поведенчески параметри са свързани с намалено изследване на новата среда, повишено поведение подобно на тревожност, и влошаване на краткосрочната памет. Системното субхронично лечение с ангиотензин AT1 рецепторен антагонист лосартан облекчава повечето от тези усложнения.

Ключови думи: тревожност; Захарен диабет тип 2; Лосартан; Памет; Ренин ангиотензин алдостеронова система.

10. Ekaterina Krumova, Nedelina Kostadinova, Jeny Miteva-Staleva, Vitalii Gryshko, Maria Angelova. (2016) Cellular Response to Cu- and Zn-Induced Oxidative Stress in *Aspergillus fumigatus* Isolated From Polluted Soils in Bulgaria. CLEAN Soil, Air, Water, Volume 44(6):657–666 (IF: 1.473 – Q2- Scopus)

The fungal strain *Aspergillus fumigatus* 32 isolated from the tailings pond at the copper mine “Vlaykov vrh,” Bulgaria, showed high tolerance to Cu^{2+} and Zn^{2+} . This study was designed to explore the relationship between Cu^{2+} and Zn^{2+} tolerance and cellular response to oxidative stress. The model strain was identified to species level by morphological and molecular methods. Fungal cultures were exposed to enhanced concentrations of metal ions. The effect of Cu^{2+} and Zn^{2+} was evaluated by the changes in fungal growth and morphology, the level of oxidative stress biomarkers, and the antioxidant activities of enzymes such as superoxide dismutase (SOD) and catalase (CAT). Two different cellular responses occurred: The concentrations of up to 500 $\mu\text{g}/\text{mL}$ caused enhanced levels of oxidative stress biomarkers (glycogen and trehalose accumulation and oxidatively damaged protein content), as well as an increase in SOD and CAT activities. The treatment with concentrations from 500 to 2000 $\mu\text{g}/\text{mL}$ led to enhanced glycogen consumption, accelerated proteolysis, and a decrease in SOD and CAT activities. The present results provide additional information about the participation of oxidative stress and antioxidant defense in enhanced tolerance of fungi isolated from metal-polluted soils. Probably, survival at extremely high concentrations also requires the participation of other defense mechanisms. Furthermore, the enhanced understanding of these processes will provide essential tools for efficient remediation practices.

Keywords: Antioxidant enzymes; Biomarkers; Filamentous fungi; Heavy metals; Soil

Щам гъби *Aspergillus fumigatus* 32, изолиран от хвостохранилището на меден рудник „Влайков връх”, България, показва висока толерантност към Cu^{2+} и Zn^{2+} . Това проучване е предназначено да изследва връзката между Cu^{2+} и Zn^{2+} толерантността и клетъчния отговор към оксидативния стрес. Моделният щам беше идентифициран на видово ниво чрез морфологични и молекулярни методи. Гъбичните култури бяха подложени на повишени концентрации метални йони. Ефектът на Cu^{2+} и Zn^{2+} бе оценен чрез промените в растежа и морфологията на гъбите, нивото на биомаркерите за оксидативен стрес и антиоксидантната активност на ензими като супероксид дисмутаза (SOD) и каталаза (CAT). Проявиха се два различни типа клетъчен отговор. Концентрации до 500 $\mu\text{g}/\text{mL}$ доведоха до повишени нива на биомаркерите на оксидативен стрес (натрупване на гликоген и трехалоза и окислително увредени протеини), както и повишаване на активността на SOD и CAT. Третирането с концентрации от 500 до 2000 $\mu\text{g}/\text{mL}$ доведе до повишена консумация на гликоген, ускорена протеолиза и намаляване активността на SOD и CAT. Настоящите резултати предоставят допълнителна информация за участието на оксидативния стрес и антиоксидантната защита в повишената толерантност на гъбите, изолирани от замърсени с метали почви. Вероятно оцеляването при изключително високи концентрации изисква и участието на други защитни механизми. Освен това, по-доброто разбиране на тези процеси ще осигури основни инструменти за ефективни практики за елиминиране на металите.

Ключови думи: Антиоксидантни ензими; Биомаркери; Филаментозни гъби; Тежки метали; Почва

11. Lyudmila Dimitrova, Maya M. Zaharieva, Milena Popova, Nedelina Kostadinova, Iva Tsvetkova, Vassya Bankova, Hristo Najdenski (2017) Antimicrobial and antioxidant potential of different solvent extracts of the medicinal plant *Geum urbanum* L. *Chem Cent J*. 2017; 11: 113, doi: 10.1186/s13065-017-0343-8 (IF 2.284 - Scopus - Q2)

Many *Geum* species are known to be rich in biologically active compounds and therefore could be a source of new natural products with pharmacological potential. The medicinal plant *Geum urbanum* L. is widespread in Bulgaria and has been used in folk medicine. In the present study, the methanol extracts of the roots and aerial parts of *G. urbanum* and their fractions (petroleum ether, ethyl acetate and n-butanol) were investigated for antibacterial and radical scavenging activity. The ethyl acetate and n-butanol fractions inhibited the growth of Gram-positive pathogenic and opportunistic bacteria from the genus *Staphylococcus* (MIC EtOAc: 0.078 mg/ml aerial and 0.156 mg/ml roots; MIC n-BuOH: 0.156 mg/ml aerial and 1.25 mg/ml roots) and the species *Bacillus cereus* stronger than the other extracts and fractions tested (MIC EtOAc: 0.078 mg/ml aerial and 0.156 mg/ml roots; MIC n-BuOH: 0.156 mg/ml aerial and 0.078 mg/ml roots), and showed corresponding radical scavenging activity (EtOAc: EC50 1.5 µg/ml aerial, 0.8 µg/ml roots; n-BuOH: 4.5 µg/ml aerial; 3.7 µg/ml roots). Additionally, their total phenolic content was quantified (% of dry EtOAc fractions of roots 61%, of aerial parts 32%; of dry n-BuOH fractions of roots 16%, of aerial parts 13%). Seven compounds were isolated and identified spectroscopically from the ethyl acetate extract. Two acetylated ellagic acid rhamnosides were found for the first time in the genus *Geum* and three others, tormentic acid, niga-ichigoside F1, and 3,3'-di-O-methylellagic acid-4-O-β-D-glucopyranoside, were newly detected for the species *G. urbanum*. Our results reveal that *G. urbanum* L. is a perspective medicinal plant and deserves further, more detailed studies.

Keywords: Antibacterial activity; *Geum urbanum* L.; Minimal inhibitory concentration; Phenolics; Plant extracts; Radical scavenging activity.

Известно е, че много видове *Geum* са богати на биологично активни съединения и следователно могат да бъдат източник на нови природни продукти с фармакологичен потенциал. Лечебното растение *Geum urbanum* L. е широко разпространено в България и се използва в народната медицина. В настоящото изследване метаноловите екстракти от корените и надземните части на *G. urbanum* и техните фракции (петролев етер, етилацетат и n-бутанол) са изследвани за антибактериална и радикал-улавяща активност. Фракциите на етилацетат и n-бутанол инхибират растежа на грам-положителни патогенни и опортюнистични бактерии от рода *Staphylococcus* (MIC EtOAc: 0,078 mg/ml въздушен и 0,156 mg/ml корени; MIC n-BuOH: 0,156 mg aerial 1,25 mg/ml корени) и вида *Bacillus cereus*, по-силен от другите тествани екстракти и фракции (MIC EtOAc: 0,078 mg/ml надземна част и 0,156 mg/ml корени; MIC n-BuOH: 0,156 mg/ml надземна част и 0,078 mg/ml корени) и показва съответна активност на поглъщане на радикали (EtOAc: EC50 1,5 µg/ml надземна част, 0,8 µg/ml корени; n-BuOH: 4,5 µg/ml надземна част; 3,7 µg/ml корени). Допълнително се определя количествено общото им фенолно съдържание (% сухи EtOAc фракции на корени 61%, земни части 32%; сухи n-BuOH фракции от корени 16%, земни части 13%). Седем

съединения бяха изолирани и идентифицирани спектроскопски от етилацетатния екстракт. Два ацетилирани рамнозида на елагова киселина бяха открити за първи път в рода *Geum* и три други, торментова киселина, нига-ихигозид F1 и 3,3'-ди-О-метилелагова киселина-4-О-β-D-глюкопиранозид, са новооткрити за вида *G. urbanum*. Нашите резултати показват, че *G. urbanum* L. е перспективно лечебно растение и заслужава по-нататъшни, по-подробни изследвания.

Ключови думи: Антибактериална активност; *Geum urbanum* L.; Минимална инхибираща концентрация; феноли; Растителни екстракти; Радикал-улавяща активност.

12. Galina Stoyancheva, Ekaterina Krumova, Nedelina Kostadinova, Jeny Miteva-Staleva, Petar Grozdanov, Mohamed F. Ghaly, Akmal A. Sakr, Maria Angelova. (2018) BIODIVERSITY OF CONTAMINANT FUNGI AT DIFFERENT COLORED MATERIALS IN ANCIENT EGYPT TOMBS AND MOSQUES, Comptes rendus de l'Acad'emie bulgare des Sciences, Tom 71, 7, 907-915 (IF 0.321 - Q2- Scopus)

Microbial diversity in historical monuments and their role in the destructive processes is a problem of great interest. Different groups of microorganisms could be a part of this negative effect. Lower Egypt abounds in important cultural remains (tombs and mosques) and special attention is required for their protection. Fungi are involved significantly in deterioration of Egyptian tombs and mosques to the East and West of the Nile Delta. The present study is focused on biodiversity of contaminant fungi from different materials in these historical monuments. A total of 30 isolates were obtained from the analyses of 13 samples taken from different tombs in Egypt. Isolated strains were identified using ITS region and the SSU ribosomal RNA gene sequencing. The dominant genera among isolates were *Penicillium* and *Aspergillus*. This study is a first report on the taxonomy of fungi inhabiting the mentioned part of world cultural heritage. The chemical composition of pigments and limestone was also investigated. Current results are a summarized study of fungal strains from seven monuments and can be included in conservation methods development.

Key words: Egypt tombs, filamentous fungi, taxonomy

Микробното разнообразие в историческите паметници и тяхната роля в разрушителните процеси представлява проблем от голям интерес. Различни групи микроорганизми могат да бъдат част от този негативен ефект. Долен Египет изобилства от важни културни останки (гробници и джамии) и за тяхното опазване се изисква специално внимание. Гъбите участват в значителна степен в разрушаването на египетските гробници и джамии на изток и запад от делтата на Нил. Настоящото изследване е фокусирано върху биоразнообразието на контаминиращи гъби от различни материали в тези исторически паметници. Общо 30 изолата бяха получени от анализите на 13 проби, взети от различни гробници в Египет. Изолираните щамове бяха идентифицирани с помощта на ITS регион и SSU рибозомна РНК гена секвенция. Доминиращите родове сред изолатите са *Penicillium* и *Aspergillus*. Това изследване е първият доклад за таксономията на гъбите, обитаващи споменатата част от световното културно наследство. Изследван е и химичният състав на пигментите и варовика. Текущите резултати са обобщено изследване на щамове гъби от седем паметника и могат да бъдат включени в разработването на консервационни методи.

Ключови думи: Египетски гробници, филаментозни гъби, таксономия

13. Nedelina Kostadinova, Ekaterina Krumova, Romyana Boeva, Radoslav Abrashev, Jeni Miteva-Staleva, Boryana Spassova, Maria Angelova. (2018) EFFECT OF COPPER IONS ON THE LIGNINOLYTIC ENZYME COMPLEX AND THE ANTIOXIDANT ENZYME ACTIVITY IN THE WHITE-ROT FUNGUS TRAMETES TROGII. Plant Biosystems, (IF 1.685 - Q2- Scopus)

White-rot fungi of the Phylum *Basidiomycota* are quite promising in ligninolytic enzyme production and the optimization of their synthesis is of particular significance. The aim of this study was to investigate the effect of enhanced concentration of copper (Cu) ions (25–1000 µg/ml) on the activity of the ligninolytic enzyme complex (laccase, Lac; lignin peroxidase, LiP; Mn-peroxidase, MnP) in *Trametes trogii* 46, as well as the changes in the antioxidant cell response. All concentrations tested reduced significantly in growth and glucose consumption. Cu ions affected the ligninolytic enzyme activity in a dose dependent manner. Concentrations in the range of 25–100 µg/ml strongly stimulated Lac production (a 5–6-fold increase compared to the control). LiP activity was also induced by Cu, with the peak value being recorded following exposure to 50 µg/ml metal ions. In contrast, the addition of Cu ions had a positive effect on MnP activity at a concentration higher than 100 µg/ml. The maximum enzyme level was achieved at 1000 µg/ml. The results obtained on superoxide dismutase and catalase activities indicated that exposure of *T. trogii* 46 mycelia to Cu ions promoted oxidative stress. Both enzyme activities were co-ordinately produced with Lac and LiP but not co-ordinately with MnP.

Keywords: White-rot fungi, ligninolytic enzymes, CuSOD, CAT

Гъбите от тип *Basidiomycota* причиняващи бяло гниене са доста обещаващи в производството на лигнинолитични ензими и оптимизирането на техния синтез е от особено значение. Целта на това изследване бе да се изследва ефектът на повишената концентрация на медни (Cu) йони (25–1000 µg/ml) върху активността на лигнинолитичния ензимен комплекс (лаказа, Lac; лигнин пероксидаза, LiP; Mn-пероксидаза, MnP) в *Trametes trogii* 46, както и промените в антиоксидантния клетъчен отговор. Всички тествани концентрации намаляват значително растежа и консумацията на глюкоза. Cu йони повлияват активността на лигнинолитичния ензим по начин, зависещ от дозата. Концентрации в диапазона от 25–100 µg/ml силно стимулират производството на лаказа (5–6-кратно увеличение в сравнение с контролата). LiP активността също се индуцира от Cu, като пикова стойност се отчита след излагане на въздействие с 50 µg/ml метални йони. Обратно, добавянето на Cu йони има положителен ефект върху активността на MnP при концентрация по-висока от 100 µg/ml. Максималното ниво на ензима е постигнато при 1000 µg/ml. Резултатите, получени върху активността на супероксид дисмутаза и каталаза, показват, че излагането на мицела на *T. trogii* 46 на въздействието на Cu йони промотира оксидативния стрес. И двата антиоксидантни ензима се произвеждат координирано с Lac и LiP, но не координирано с MnP.

Ключови думи: гъби на бялото гниене, лигнинолитични ензими, Cu, SOD, CAT

14. Ekaterina Krumova, Nedelina Kostadinova, Jeni Miteva-Staleva, Galina Stoyancheva, Boryana Spassova, Radoslav Abrashev, Maria Angelova. (2018) Potential of ligninolytic enzymatic complex produced by white-rot fungi from genus *Trametes* isolated from Bulgarian forest soil. Eng. Life Sci.2018., Eng. Life Sci. 18, 692–701 (IF 2.678 - Q2 – Scopus)

Because of the crucial role of ligninolytic enzymes in a variety of industrial processes, the demand for a new effective producer has been constantly increasing. Furthermore, information on enzyme synthesis by autochthonous fungal strains is very seldom found. Two fungal strains producing ligninolytic enzymes were isolated from Bulgarian forest soil. They were identified as being *Trametes trogii* and *T. hirsuta*. These two strains were assessed for their enzyme activities, laccase (Lac), lignin peroxidase (LiP) and Mn-dependent peroxidase (MnP) in culture filtrate depending on the temperature and the type of nutrient medium. *T. trogii* was selected as the better producer of ligninolytic enzymes. The production process was further improved by optimizing a number of parameters such as incubation time, type of cultivation, volume ratio of medium/air, inoculum size and the addition of inducers. The maximum activities of enzymes synthesized by *T. trogii* was detected as 11100 U/L for Lac, 2.5 U/L for LiP and 4.5 U/L for MnP after 14 days of incubation at 25°C under static conditions, volume ratio of medium/air 1:6, and 3 plugs as inoculum. Among the supplements tested, 5% glycerol increased Lac activity to a significant extent. The addition of 1% veratryl alcohol had a positive effect on MnP.

Keywords: white-rot fungi, *Trametes*, ligninolytic enzyme production, culture conditions, inducers

Поради решаващата роля на лигнолитичните ензими в различни индустриални процеси, търсенето на нов ефективен продуцент непрекъснато нараства. Освен това много рядко се намира информация за ензимния синтез от автохтонни щамове гъби. От българска горска почва бяха изолирани два гъбни щама, продуциращи лигнолитични ензими. Те бяха идентифицирани като *Trametes trogii* и *T. hirsuta*. Тези два щама бяха изследвани за тяхната ензимна активност - лаказа (Lac), лигнин пероксидаза (LiP) и Mn-зависима пероксидаза (MnP), измерени в културалната течност в зависимост от температурата и вида на хранителната среда. *T. trogii* е избран като по-добър продуцент на лигнолитични ензими. Производственият процес беше допълнително подобрен чрез оптимизиране на редица параметри като време на инкубация, вид на култивиране, обемно съотношение среда/въздух, размер на инокулума и добавяне на индуктори. Максималната активност на ензимите, синтезирани от *T. trogii*, бе 11100 U/L за Lac, 2,5 U/L за LiP и 4,5 U/L за MnP след 14 дни инкубация при 25°C при статични условия, обемно съотношение на средата /въздух 1:6 и 3 агарови дискчета като инокулум. Сред тестваните индуктори 5% глицерол повишава активността на Lac в значителна степен. Добавянето на 1% вератрилов алкохол има положителен ефект върху MnP.

Ключови думи: гъби на бялото гниене, *Trametes*, производство на лигнолитични ензими, условия на култивиране, индуктори

15. Mileva, M., Krumova, E., Miteva-Staleva, J., Kostadinova, N., Dobreva, A., Galabov, A.S. (2014) Chemical compounds, In vitro antioxidant and antifungal activities of some plant essential oils belonging to Rosaceae family (Article) Comptes Rendus de L'Academie Bulgare des Sciences, Volume 67, Issue 10, Pages 1363-1368 (IF: 0.284 – Q3-Scopus)

Essential oils from *Rosaceae* family are a challenge for scientists because of their wide range of pharmacological activities. The purpose of the present work was to determine chemical composition and to compare antiradical and antifungal activities of 6 essential oils from *Rosa* genus growing in Bulgaria, Moldova and China, and some of their ingredients against *Aspergillus flavus* and *Aspergillus niger*. All of the tested oils are citronellol-rich, except the one distilled from rose water, since it has been found that it contains the most n-nonadecane. The most active superoxide scavenger was the essential oil from hybrid of *Rosa damascena* IX-4 from Bulgaria, followed by *Rosa rugosa* Thunb. from China, and Bulgarian *Rosa alba* L. The results obtained showed bigger resistance of *Aspergillus niger* against rose oils in comparison to *Aspergillus flavus*.

Етеричните масла от семейство *Rosaceae* са предизвикателство за учените поради широката им фармакологична активност. Целта на настоящата работа бе да се определи химичния състав и да се сравни антирадикалната и противогъбичната активност на 6 етерични масла от род *Rosa*, растящи в България, Молдова и Китай, и някои от техните съставки срещу *Aspergillus flavus* и *Aspergillus niger*. Всички тествани масла са богати на цитронелол, с изключение на дестилираното от розова вода, тъй като е установено, че съдържа най-много n-нонадекан. Най-активно се унищожават супероксидни радикали от етеричното масло от хибрид на *Rosa damascena* IX-4 от България, следвано от *Rosa rugosa* Thunb. от Китай и българската *Rosa alba* L. Получените резултати показват по-голяма устойчивост на *Aspergillus niger* срещу розови масла в сравнение с *Aspergillus flavus*.

16. Radoslav Abrashev, Ekaterina Krumova, Nedelina Kostadinova, Jeny Miteva-Staleva, Borianna Spasova, Maria Angelova. (2015) Improvement of superoxide dismutase production by heat shock treatment of *Aspergillus niger* 26, Comptes rendus de l'Acad'emie bulgare des Sciences, Tome 68, No 11, pp.1379-1386 (IF 0.233 – Q3- Scopus)

The fungal strain *Aspergillus niger* 26 is an effective producer of the superoxide dismutase (SOD), mainly Cu/Zn-SOD. An improved laboratory technology in 3 L bioreactors was developed. An effective fermentative strategy for SOD synthesis was offered on the basis of the relationship between heat shock treatment and antioxidant enzyme defense. Transient temperature shock applied for 6 h in the exponential growth phase and subsequent recovery of the optimum temperature resulted in above 2-fold increase in specific SOD activity. Comparison of the kinetic relations (substrate consumption and product formation parameters) for both cultivation methods proved the higher efficiency of this with temperature treatment. The novel fermentative strategy led to a significant optimization of the process and simultaneous enhancement of the total SOD activity, yield coefficient and SOD productivity (1.6-, 1.7- and 1.3-fold, respectively) in comparison to the control. The produced Cu/Zn-SOD retained its temperature optimum enabling its medical and pharmaceutical application.

Щамът гъби *Aspergillus niger* 26 е ефективен продуцент на супероксид дисмутаза (SOD), главно Cu/Zn-SOD. Разработена бе подобрена лабораторна технология в 3 L биореактори. Предложена беше ефективна ферментативна стратегия за синтеза на SOD въз основа на връзката между третирането с топлинен шок и антиоксидантната ензимна защита. Временният температурен шок, приложен за 6 часа през експоненциалната фаза на растеж и последващото възстановяване на оптималната температура, доведе до над 2-кратно увеличение на специфичната SOD активност. Сравнението на кинетичните връзки (разход на субстрат и параметри за образуване на продукта) и за двата метода на култивиране доказва по-високата ефективност на това при температурна обработка. Новата ферментативна стратегия доведе до значително оптимизиране на процеса и едновременно повишаване на общата активност на SOD, коефициента на добив и производителността на SOD (съответно 1,6-, 1,7- и 1,3 пъти) в сравнение с контролата. Произведеният ензим Cu/Zn-SOD запазва температурния си оптимум, което позволява неговото медицинско и фармацевтично приложение.

17. Nedelina KOSTADINOVA, Solveig TOSI, Boryana SPASSOVA and Maria ANGELOVA. (2017) Comparison of the oxidative stress response of two Antarctic fungi to different growth temperatures, Polish Polar Research, 38 (3): 393–408, 2017, <https://doi.org/10.1515/popore-2017-0015> (IF 1.231 - Scopus – Q3)

Two fungal strains, isolated from Livingston Island, Antarctica (*Penicillium commune* 161, psychrotolerant and *Aspergillus glaucus* 363, mesophilic) were investigated for a relationship between growth temperature and oxidative stress response. Cultivation at temperatures below – (10 and 15°C and 10 and 20°C for *P. commune* and *A. glaucus*, respectively) and above (25°C and 30°C for *P. commune* and *A. glaucus*, respectively) the optimum caused significant difference in growth and glucose uptake in comparison with the control cultures. Enhanced level of reserve carbohydrates (glycogen and trehalose) was determined under cultivation at different temperatures from the optimal one. While the highest content of trehalose was found in the exponential phase, glycogen accumulation was observed in the stationary phase when growth conditions deteriorate. The growth at temperature below– and above–optimum caused strain–dependent changes in two antioxidant enzymes superoxide dismutase (SOD) and catalase (CAT). While SOD activity in the psychrotolerant strain increases with decreasing of growth temperature, the mesophilic *A. glaucus* demonstrated marked reduction of it at below– and above–optimal temperature. Decreasing trend of CAT activity was observed in both strains below the optimal temperature indicating a lack of antioxidant protection from this enzyme under the cold stress conditions.

Два щамове гъби, изолирани от остров Ливингстън, Антарктида (*Penicillium commune* 161, психротолерантен и *Aspergillus glaucus* 363, мезофилен) бяха изследвани за връзка между температурата на растеж и реакцията на оксидативен стрес. Култивиране при температури под – (10 и 15°C и 10 и 20°C за *P. commune* и *A. glaucus*, съответно) и над (25°C и 30°C за *P. commune* и *A. glaucus*, съответно) оптимума предизвика значителна разлика в растежа и усвояването на глюкоза в сравнение с контролните култури. Бе установено повишено ниво на резервни въглехидрати (гликоген и трехалоза) при култивиране при различни температури от оптималната. Докато най-високото съдържание на трехалоза бе открито в експоненциалната фаза,

натрупването на гликоген бе наблюдавано в стационарната фаза, когато условията на растеж се влошават. Растежът при температура под и над оптималната доведе до щам-зависими промени в двата антиоксидантни ензима супероксид дисмутаза (SOD) и каталаза (CAT). Докато активността на SOD в психротолерантния щам се увеличаваше с понижаване на температурата на растеж, мезофилният *A. glaucus* демонстрира значително намаляване на това при условия под и над оптималната температура. Наблюдаваше се тенденция на намаляване на CAT активността и при двата щамове под оптималната температура, което показва липса на антиоксидантна защита от този ензим при условия на нискотемпературен стрес.

18. N. S. Kostadinova, Y. Voynikov, A. Dolashki, E. Krumova, R. Abrashev, L. Velkova, P. Dolashka (2018) Antioxidative screening of fractions from the mucus of garden snail *Cornu aspersum*. (2018) BULGARIAN CHEMICAL COMMUNICATIONS, Volume 50, Special Issue C (pp. 176 – 183) (IF 0.349 (5-годишен)- Q4 – Scopus)

Antioxidative peptides have been utilized by various species to combat pathogenic microorganisms and stress. In the present study, the antioxidant potential of peptide fractions obtained from the mucus of the garden snail *Cornu aspersum* was evaluated. Bioactive compounds from the mucus of the garden snail were separated into four fractions with different molecular weight (MW): Fraction 1 (compounds with MW<5kDa), Fraction 2 (compounds with MW<10kDa), Fraction 3 (compounds with MW<20kDa) and Fraction 4 - in the region 10-30kDa. Three complementary test methods were employed for preliminary antioxidative screening, including measurement of the radical scavenging activity on the 1,1-Diphenyl-2-picrylhydrazyl free radical (DPPH), total antioxidant activity (ABTS method) and the inhibition of nitro blue tetrazolium (NBT) reduction by photochemically generated superoxide radicals ($\cdot\text{O}_2^-$). The results demonstrated that the lower MW fraction of <5kDa exhibited better antioxidant potential compared to the others.

Key words: *Cornu aspersum*, Peptides, Mucus, Antioxidant activity, Mass spectrometry

Антиоксидативните пептиди са били използвани от различни видове за борба с патогенните микроорганизми и стреса. В настоящото изследване е оценен антиоксидантният потенциал на пептидните фракции, получени от слузта на градинския охлюв *Cornu aspersum*. Биоактивните съединения от слузта на градинския охлюв бяха разделени на четири фракции с различно молекулно тегло (MW): Фракция 1 (съединения с MW<5kDa), Фракция 2 (съединения с MW<10kDa), Фракция 3 (съединения с MW<20kDa) и фракция 4 - в диапазона 10-30kDa. За предварителен антиоксидантен скрининг бяха използвани три допълнителни метода за изпитване, включително измерване на активността на поглъщане на радикали върху свободния радикал на 1,1-дифенил-2-пикрилхидразил (DPPH), обща антиоксидантна активност (ABTS метод) и инхибиране на нитроблу тетразолиум (NBT)-редукцията от фотохимично генерирани супероксидни радикали ($\cdot\text{O}_2^-$). Резултатите показаха, че понискомолекулната фракция от <5kDa показва по-добър антиоксидантен потенциал в сравнение с останалите.

Ключови думи: *Cornu aspersum*, Пептиди, слуз, Антиоксидантна активност, Мас-спектрометрия

ПУБЛИКАЦИИ В НЕРЕФЕРИРАНИ СПИСАНИЯ С НАУЧНО РЕЦЕНЗИРАНЕ ИЛИ В РЕДАКТИРАНИ КОЛЕКТИВНИ ТОМОВЕ

19. Крумова, Е., Сотирова, А., Ангелова, М., Дишлийска, В., Костадинова, Н., Митева-Сталева, Ж., Мутафова, Б. Антимикробна активност на етерично масло от бял риган. **In:** Биоцидни свойства на етерично масло от *Origanum vulgare* subsp. *hirtum* (Link) Ietsw. (гръцки, бял риган). П. Юрукова-Грънчарова, С. Славов Eds., 2021, 10, 30-40, Издателство Интел Ентранс, ISBN:978-619-7554-79-3

Увеличаващият се брой микроорганизми, резистентни към конвенционалните антибиотици, е сериозен здравен проблем. Появата на патогенни щамове, толерантни към антибиотици от последно поколение, изостря необходимостта от търсене на нови вещества с широк спеткър на активност. Растенията са богат източник на вторични метаболити с различни химични структури, които използват като защита срещу патогенна инвазия. В съвременната фармацевтична индустрия, натуралните продукти продължават да бъдат основен ресурс за генериране на водещи субстанции. Биопестициди, основани на етерични масла, са нов клас защитни продукти с приложение в органичното земеделие. Етерично масло от риган е с доказани антигъбни свойства, но в тези проучвания се работи с масло от риган (*Origanum vulgare*) в широк смисъл (Kocic-Tanackov et al., 2012; Bedoya-Serna et al., 2018), докато изследванията извършени с масло от подвидовия таксон *Origanum vulgare* subsp. *hirtum* бял, гръцки риган са ограничени (Wogiatzi et al., 2009).

Антимикробната активност на етеричното масло от бял риган е изследвана в две направления – антифунгален и антибактериален потенциал.

20. Krumova E., Kostadinova N., Abrashev R., Miteva-Staleva J., Spasova B., Angelova M. (2017). Antarctic fungal strategies for overcoming cold stress. **In:** Microbiology for a better health and industry, H. Najdenski, M. Angelova, N. Kostadinova, J. Miteva-Staleva, Eds., 104-114, ISBN 978 954 92882-2-3

Although Antarctica is the coldest, windiest, and driest place on Earth, the mycoflora is quite diversified within the different regions of the continent. Some species are cosmopolitan with a wide distribution, while others due to their ecological plasticity may adapt to harsh environments precluded to most of life forms. There are several reasons for the continuing interest in low temperature tolerance in fungi including their biogeographical and ecological significance and valuable biotechnological potential. Understanding the cold-adaptation strategies of fungi under extreme environments is critical for elucidating polar-region ecosystems. However, the mechanisms that permit low temperature growth are still not fully understood. It is interesting to note that Antarctic fungi showed different morphological, physiological and biochemical adaptive strategies. They have to face several stresses simultaneously and they adopt different strategies at the same time to address these stresses. The majority of studies of cold adaptation mechanisms have focused on the cold stress response of mesophilic model organisms. Whether the psychrophilic fungi possess the same cold adaptation mechanisms are reviewed here. Our previous achievements are also included. Key words: Antarctica, fungi, cold stress, adaptive strategies

Въпреки че Антарктика е най-студеното, най-ветровитото и най-сухото място на Земята, микофлората е разпространена във всички региони на континента. Някои от видовете тук са космополитни и са представени в сравнително голямо разнообразие, а

други са се адаптирали към екстремната околна среда благодарение на своята екологична пластичност. Нарастващият интерес към гъбите, които показват толерантност към ниските температури е предизвикан от тяхното биогеографско и екологично значение и ценния им биотехнологичен потенциал. Изясняването на молекулните механизми за адаптация е от съществено значение за оценка на екосистемите от полярните региони. Трябва да се отбележи, че антарктическите гъби притежават различни морфологични, физиологични и биохимични механизми на адаптация, които те използват в повечето случаи в комбинация. Това им позволява да се справят с няколко фактори, предизвикващи стрес едновременно. Стратегиите за адаптация към ниските температури, обаче, не са достатъчно проучени. Повечето от публикуваните изследвания касаят клетъчния отговор на мезофилни моделни организми. Настоящото ревю разглежда въпроса дали психрофилните и психротолерантните гъби притежават същите стратегии. В статията са включени и постижения на колектива в тази област.

21. Kostadinova N., Krumova E., Pashova S., Miteva-Staleva J., Abrashev R., Tosi S., Stoitsova S., Manasiev J., Angelova M. (2012). Cold-stress adaptation in Antarctic fungi. **In:** NEW TRENDS IN MICROBIOLOGY, 159-175, ISBN 978-954-92882-1-6

Cold-adapted microorganisms have evolved special mechanisms to overcome the life-endangering influence of low temperature and to survive cold-induced oxidative stress. We compared the effect of extreme low temperatures on the morphological, physiological and biochemical traits of Antarctic fungi belonging to the three types of thermal classes (psychrophilic, psychrotolerant and mesophilic) and mesophilic temperate strains. The main focus of investigations was on the changes in the growth, surface ultrastructure of hyphae, oxidative stress biomarkers, antioxidant enzyme defence and activities of key enzymes of basic metabolite pathways. Our results revealed that the fungal cell response against cold shock is more species-dependent than dependent on degree of cold-stress. Antarctic psychrophilic and psychrotolerant strains, that are adapted to life in extremely cold conditions, demonstrated enhanced tolerance to temperature downshift in comparison with both the mesophilic strains (Antarctic and temperate).

Key Words: Antarctic fungi, cold-stress, oxidative stress, metabolic adaptation

В своята еволюция, адаптираните към екстремно ниски температури микроорганизми са развили специални механизми, чрез които могат да оцеляват в условията на индуцирания от тези температури оксидативен стрес. Проведено е сравнително проучване на влиянието на ниските температури върху морфологичните, физиологичните и биохимичните характеристики на антарктически гъби, принадлежащи към три температурни типа (психрофили, психротолеранти и мезофили) и тези на мезофилни щамове, изолирани от умерени ширини. Основната цел на работата бе да се установят промените в растежа, ултраструктурата на хифите, биомаркерите на оксидативния стрес, антиоксидантната ензимна защита и активността на ензимите от основните метаболитни пътища. Нашите резултати доказват хипотезата, че отговорът на гъбните клетки към ниско-температурен стрес зависи в по-голяма степен от температурната характеристика на щамата, отколкото от нивото на стреса. Антарктическите психрофилни и психротолерантни щамове, които са адаптирани към живот при екстремно студени условия, демонстрират повишена

толерантност към понижаване на температурата в сравнение с двата мезофилни щама (антарктически и този от умерените ширини).

Ключови думи: антарктически гъби, ниско-температурен стрес, оксидативен стрес, метаболитна адаптация

22. Krumova E., Abrashev R., Kostadinova N., Dishliiska V., Miteva-Staleva J., Pashova S., Vassilev S., Spasova B., Stephanova L., Angelova M. (2012) Novel cold-active antioxidant enzymes from Antarctic fungi. **In: NEW TRENDS IN MICROBIOLOGY**, H. Najdenski, M. Angelova, S. Stoitsiva Eds., 291-305, ISBN 978-954-92882-1-6

Cold-adapted microorganisms are successful in surviving extreme living conditions by the organizing of various basic cell processes like enzyme function, nutrient transport and cell membrane function. The most important of these adaptations, which has immense potential to be explored, is the production of cold-active enzymes. The useful applications of these enzymes are wide spread to a large number of industries – textile industry, food and dairy production, brewing, laundry, etc. Cold-active antioxidant enzymes, superoxide dismutase (SOD) and catalase (CAT) can be used in cosmetics, medicine, cryopreservation, cryosurgery and *in vitro* fertilization. Antarctic filamentous fungi are suitable for production of thermolabile SOD and CAT, because of their potential advantages, adaptation to low temperatures, repeated freezing and thawing cycles, low water availability, osmotic stress, desiccation, low nutrients availability and high UV radiation.

Key words: Antarctic fungi, cold-active enzymes, superoxide dismutase, catalase, bioreactor cultures.

Адаптираните към студени местообитания микроорганизми успешно оцеляват при екстремни условия на живот чрез реструктуриране на основни клетъчни процеси като напр. ензимните функции, транспорт на хранителни вещества и функциите на клетъчната мембрана. Най-важната от тези адаптации, която има огромен потенциал за биотехнологично приложение в различни индустриални производства, медицината и селското стопанство е продукцията на температурно чувствителни (т. нар. cold-active) ензими. От тях особено полезни в козметиката, медицината, криохирургията и *in vitro* оплождането са антиоксидантни ензими, супероксид дисмутаза (СОД) и каталаза (КАТ. Подходящи продуценти на такива ензими са антарктическите филаментозни гъби, които поради своята адаптация към неблагоприятните условия на средата (ниски температури, повтарящи се цикли на замразяване и размразяване, ниската водна наличност, осмотичния стрес, бедната на хранителни вещества среда и високата UV радиация) активизират антиоксидантната си защита.

Ключови думи: Антарктически гъби, температурно-чувствителни ензими, супероксид дисмутаза, каталаза, биореактор.

Публикувана книга на база на защитен дисертационен труд за присъждане на образователна и научна степен „доктор“

23. Костадинова Н. „Клетъчен отговор към нискотемпературен стрес при Антарктически гъби”, Издателство „Марин Дринов“, 2013, София, ISBN 978-954-322-591-0

В последните години преживяемостта в условия на екстремно ниски температури предизвиква нарастващ интерес към биоразнообразието, екологията и биотехнологичния потенциал на антарктическите микроорганизми. Освен това, те са обект на екзобиологията като уникален модел за еволюционни изследвания. Редица учени изтъкват подобие между условията на съществуване на микроорганизмите в някои райони на Антарктика (напр. дълбокия лед, в пукнатини на скали, замръзнала почва и др.) и тези на планетата Марс. Антарктическият студ, сухият климат и отдалечеността от останалата земна повърхност са причина за запазването на редица форми на живот, недокоснати от човешката цивилизация. Ниските температури, късото лято, високата концентрация на соли и УВ лъчи, както и много други фактори оказват съществено влияние върху типа микроорганизми, оцелели на това място.

Въпреки изключително негативния ефект на ниските температури върху биохимичните реакции, антарктическите микроорганизми дишат и растат със скорост, подобна на постигната при родствени на тях видове, които живеят в умерени климатични условия. Вероятно, този факт се дължи на създадените в еволюцията адаптивни механизми като напр. структурни промени на ниво клетъчни мембрани, ензими, конститутивно синтезирани белтъци, антиоксидантна защита и др., които позволяват компенсирание на увреждащото действие на ниската температура. Клетъчният отговор срещу нискотемпературния стрес може да бъде пасивен или активен, когато води до адаптация към арктическите температури.

Изясняването на феномена “адаптация към студов стрес” все още е в своята младенческа възраст и поставя много нерешени въпроси при всички организми, вкл. и при микроорганизмите. Механизмите на защита срещу нискотемпературния стрес са проучени в по-голяма степен на модел мезофилни бактерии. Много оскъдна е информацията за психрофилните и психротолерантните микроорганизми, изолирани от екстремно студени местообитания и особено тази, за представителите на гъбите. Филаментозните гъби са едни от най-широко представените форми на живот в Антарктика поради способността им лесно да се разпространяват и да използват голям набор от субстрати. За да оцелеят при ниски температури те използват различни стратегии, които осигуряват молекулната база на протичащите в клетките процеси. Провеждането на сравнителен анализ относно комбинирането на тези стратегии при представители на различни термални класове може да даде информация за нивото на толерантност към условията на стрес и от тук - за еволюцията на антарктическите екосистеми. В тази връзка, представлява интерес проучването на механизмите на морфологична адаптация на макроскопско, микроскопско и клетъчно ниво, изясняване ролята на физиологичната адаптация чрез проследяване растежа и консумацията на глюкоза, нивото на биоиндикаторите на оксидативния стрес, продукцията на екзополisahариди и активността на антиоксидантната ензимна защита. Промените в активността на ключови ензими от основните метаболитни пътища и на тези, участващи в синтеза на важни резервни въглехидрати като трехалозата и гликогена могат да бъдат сериозно доказателство за значението на биохимичните механизми за адаптацията към екстремно ниски температури. Тук се включва и протеомния анализ на стрес белтъците, като важен, но неизяснен елемент от клетъчния отговор срещу стреса. Проучванията, включени в настоящия дисертационен труд са концентрирани върху посочените нерешени проблеми.

ПУБЛИКАЦИИ В МЕЖДУНАРОДНИ СПИСАНИЯ РЕФЕРИРАНИ И ИНДЕКСИРАНИ В WEB OF SCIENCE И SCOPUS БЕЗ ИМПАКТ ФАКТОР

24 E. Krumova, H. Najdenski, V. Dishlijska, R. Abrashev, G. Stoyancheva, Y. Gocheva, N. Kostadinova, J. Miteva-Staleva, B. Spasova, M. Angelova (2020) Capacity of fungi for biodegradation of cellulose wastes generated at manned space flight, ACTA MICROBIOLOGICA BULGARICA, 36, Issue 1, Pages 19-29

The amount of waste generated on manned long-duration space missions away from Earth orbit creates the daunting challenge of how to manage the waste through reuse, rejection, or recycling. Microbial degradation, for both economic and ecological reasons, has become an increasingly popular alternative for the treatment of cellulose containing organic waste in the space stations. This approach offers several advantages: low energy, mild operation conditions, control on biological hazard of the wastes, etc. Fungi are the main cellulose-degrading microorganisms in the nature and their cellulolytic features are object of intensive studies. This review describes the ability of anaerobic, aerobic, and microaerophilic fungi to degrade organic wastes generated during manned space flight.

Keywords: fungi, cellulose-containing waste, biodegradation, manned space-flight

По време на пилотируемите космически мисии, далеч от земната орбита в станциите се натрупват големи количества органични целулоза съдържащи отпадъци. Тяхното управление чрез повторна употреба, изхвърляне или рециклиране е изключително предизвикателство за науката. Микробното разграждане на място, в космическите станции, се превръща във все по-популярна алтернатива по икономически и екологични причини. Този метод предлага няколко предимства: ниска енергия, меки условия на работа и контрол върху биологичната опасност на отпадъците. Гъбите са основните микроорганизми, които разграждат целулозата в природата и техните целулозолитични свойства са обект на интензивни проучвания. Този обзор разглежда способността на анаеробните, аеробните и микроаерофилните гъби да разграждат органичните отпадъци, натрупвани по време на пилотируемите космически полети.

25 Krumova E., R. Abrashev, N. Kostadinova, J. Miteva-Staleva, B. Spasova, M. Angelova (2017) Growth phase-dependent antioxidant enzyme defense of *Humicola lutea* against copper stress. Acta Microbiol. Bulg. 33 (1), 3-9.

Copper is an essential element for the growth and development of the full range of living organisms, including filamentous fungi. At the same time, it is toxic for organisms when present in excess. The present study was conducted to assess the role of the antioxidant enzymes superoxide dismutase (SOD) and catalase (CAT) on the tolerance strategy of the fungal strain *Humicola lutea* 103 at different growth phases under enhanced Cu ions concentrations. We examined the changes in the growth, intracellular protein content and levels of antioxidant enzyme defense. The results revealed that the presence of Cu ions affected the duration of growth phases in a dose-dependent manner. The effect of Cu treatment (150 µg/ml Cu ions) depends on the age of the treated culture. The spores and cells from the stationary growth phase demonstrated higher resistance compared to the corresponding control due to the enhancement of SOD and CAT activity. The increased total SOD activity was largely due to the Cu/Zn-SOD isoform. The non-growing cells taken from cultures of different growth phases demonstrated also up-regulation of both antioxidant enzymes in response to oxidative stress imposed by the ROS-generating heavy metal. During

the stationary-phase, *H. lutea* cells demonstrated higher resistance to Cu-induced oxidative stress compared with the exponential phase cells.

Key words: heavy metals, filamentous fungi, oxidative stress, superoxide dismutase, catalase, growth phase

Медта е основен елемент за растежа и развитието на цялата гама от живи организми, включително филаментозни гъби. В същото време, високите концентрации на медни йони оказват силно токсично въздействие. Настоящото изследване е насочено към проучване значението на антиоксидантните ензими - супероксид дисмутаза (СОД) и каталаза (КАТ) за толерантността на култури от щам *Humicola lutea* 103 в различни фази на растеж към повишени концентрации на Cu-йони. Проследени са промените в растежа, съдържанието на вътреклетъчен белтък и нивата на антиоксидантната ензимна защита. Резултатите показват, че наличието на Cu йони променя продължителността на фазите на растеж и тези промени корелират с концентрацията на метала. Ефектът от въздействието с 150 мкг/мл медни йони зависи от възрастта на третираната култура. Едновременно с това се наблюдава повишената активност на двата антиоксидантни ензима – СОД и КАТ. Индукцията на изоензима Cu/ZnСОД е отговорна за повишената обща СОД активност. Спорите и клетките от стационарната фаза проявяват най-висока устойчивост към медните йони. В експериментите с нерастващи клетки от различни фази на растеж се отчита същата тенденция.

ПУБЛИКАЦИИ В МЕЖДУНАРОДНИ СПИСАНИЯ РЕФЕРИРАНИ И ИНДЕКСИРАНИ В ДРУГИ БАЗИ ДАННИ

26 И. Симеонов, С. Михайлова, Д. Гълъбова, Н. Костадинова, В. Акиванов. (2019) Анаеробна биодegradация на лигноцелулозни отпадъци в автоматизираната пилотна инсталация. Екологично инженерство и опазване на околната среда, №4, 54-65

The paper deals with anaerobic digestion (AD) of three types of lignocellulosic waste (corn stalks, wheat straw and barley straw) in a pilot bioreactor under batch and continuous operation modes. Corn stalks were thermochemically pretreated with NaOH at 55°C for 24 hours (Experiment 1), wheat and barley untreated straw (Experiments 2 and 3) and barley straw treated with fungi fungal strain *Trametes trogii*, representative of Phylum Basidiomycota (Experiment 4). The organic load used was 10 g/L. Biogas yield and concentrations of methane and carbon dioxide in the biogas were measured on a daily basis, as well as organic dry matter at the beginning and end of the batch experiments. The results show that the pretreatment of lignocelluloses waste results in a significant increase in the specific yield of both biogas and methane. The concentration of the two major gases is practically the same - 56% methane and 43% carbon dioxide. In Experiments 2 and 3, the specific yields of biogas and methane were 0.204 L biogas/g organic dry matter and 0.110 L methane/g organic dry matter for wheat straw and 0.240 L biogas/g organic dry matter and 0.120 L methane/g organic dry matter for barley straw, respectively. The highest specific yield was obtained with corn stalks treated with sodium base (0.625 L biogas/g organic dry matter and 0.340 L methane /g organic dry matter), followed by barley straw treated with fungi (0.480 L biogas/g organic dry matter and 0.252 L methane/g organic dry matter). The AD of untreated wheat straw in a continuous mode of operation (manual and automatic feed of the substrate) at organic loads of 10 and 15 g/l was also investigated. Some improvements of the automated pilot biogas installation of the Stefan Angelov Institute of Microbiologists, BAS are presented.

Keywords: anaerobic digestion, lignocellulosic waste, chemical treatment, batch mode, continuous mode

Статията разглежда анаеробното разграждане (AD) на три вида лигноцелулозни отпадъци (царевични стъбла, пшеница) слама и ечемична слама) в пилотен биореактор с периодична и непрекъсната работа. Бяха царевични стъбла термохимично предварително обработена с NaOH при 55 °C за 24 часа (Експеримент 1), необработена пшенична и ечемична слама (Експерименти 2 и 3) и ечемична слама, третирана с гъбичния щам *Trametes trogii*, представител на Phylum Basidiomycota (Експеримент 4). Използваният органичен товар е 10 g/L. Производство на биогаз и концентрации на метан и Въглеродният диоксид в биогаза, както и органичното сухо вещество в началото и края на партидни експерименти. Резултатите показват, че предварителното третиране на лигноцелулозните отпадъци води до значително увеличение на специфичният добив както на биогаз, така и на метан. Концентрацията на двата основни газа е практически еднаква - 56% метан и 43% въглероден диоксид. В експерименти 2 и 3 специфичните добиви на биогаз и метан са 0,204 L биогаз / g органично сухо вещество и 0,110 L метан / g органично сухо вещество за пшенична слама и 0,240 L биогаз / g органично сухо вещество и 0,120 L метан / g органично сухо вещество за ечемична слама, съответно. Най-високият специфичен добив беше получен от третирана с натрий царевични стъбла (0,625 L биогаз / g органично сухо вещество и 0,340 L метан / g органично сухо вещество), последвано от ечемична слама, обработена с гъби (0,480 L биогаз / g органично сухо вещество и 0,252 L метан / g органично сухо вещество). AD на непреработена пшенична слама в непрекъснат режим (ръчно и автоматично подаване на субстрата) при Изследвани са и органични натоварвания от 10 и 15 g/l. Някои подобрения на автоматизираната пилотна инсталация за биогаз са представени от Института по микробиологи Стефан Ангелов, БАН.

Ключови думи: анаеробно разграждане, лигноцелулозни отпадъци, химическа обработка, партиден режим, непрекъснат режим

27 Jeny Miteva-Staleva, Nedelina Kostadinova, Venelin Hubenov. (2019) AGING IN LIGNINOLYTIC FUNGI IN SPACE CONDITIONS, Journal scientific and applied research, vol. 17, p30-35, 6p, International Journal, ISSN 1314-6289

Aging is considered in the context of various abiotic stresses, such as water deficit, high temperature, salinity, cold, heavy metals, mechanical wounding, UV radiation, etc. It is well known that the extreme level of these factors can be reflected in sharply increased production of reactive oxygen species. Reactive oxygen species interact with cellular biomolecules, such as lipids, proteins and DNA and can play an important role in cell injury. At the same time, fungi are an appropriate model system in different research areas, including aging. Testing of ligninolytic fungi in space conditions is forthcoming. However, it is unknown how the conditions of microgravity would affect fungal cell aging and enzyme production. Determination of the long-term physiological responses and adaptation to the space environment is of great importance for fungal enzyme production as well.

Keywords: aging, space, ros, ligninolytic fungi.

Старенето се разглежда в контекста на различни абиотични стресове, като напр. дефицит на вода, висока температура, соленост, студ, тежки метали, механични наранявания, UV радиация и др. Добре известно е, че екстремното ниво на тези фактори може да доведе до рязко повишено производство на реактивни кислородни форми. Реактивните кислородни форми взаимодействат с клетъчните биомолекули,

като липиди, протеини и ДНК и могат да играят важна роля в клетъчното увреждане. В същото време гъбите са подходяща моделна система в различни изследователски области, в т.ч. стареенето. Предстои тестване на лигнинолитични гъби в космически условия. Неизвестно е обаче как условията на микрогравитацията биха повлияли на стареенето на гъбните клетки и производството на ензими. Определяне на дългосрочните физиологични реакции и адаптация към космическата среда е от голямо значение и за продукцията на ензими от гъбите.

Ключови думи: стареене, пространство, COP, лигнинолитични гъби

28 Ekaterina Krumova, Jeny Miteva-Staleva, Nedelina Kostadinova, Olga Korinovska, Radoslav Abrashev, Boryana Spasova, Maria Angelova (2015). Effect of Cadmium Ions on the Fungal Strain *Aspergillus fumigatus* 3₂ Isolated from Metal Polluted Soil. Acta microbiologica, Volume 31, Issue 1, June 2015, 40-47, ISSN 0204-8809

The fungal strain *Aspergillus fumigatus* 3₂ was isolated from metal polluted soil (around the tailing Vlajkov vrah, Bulgaria). Effect of enhanced concentrations of cadmium ions (redox-inactive metal) on the growth and morphology, as well as the participation of oxidative stress in cadmium-induced toxicity, was reported. *A. fumigatus* demonstrated a high tolerance to cadmium, exhibiting remarkable growth in liquid and agar media. High metal concentrations affected fungal morphology and caused oxidative stress events such as changes in the level of reserve carbohydrates and oxidative damaged proteins. A sharp increase in trehalose content and accelerated consumption of glycogen in the presence of cadmium ions at concentration above 5 µg/ml were detected. In addition, a decrease in carbonylated proteins was measured, particularly pronounced at high concentrations (70 and 100 µg/ml). Cadmium ions exposure with 5, 20, and 50 µg/ml resulted in enhanced superoxide dismutase (SOD) level, but the higher concentrations (70 and 100 µg/ml) significantly inhibited this activity. Continuous decrease was also observed for catalase (CAT) activity. Probably, at higher concentrations of cadmium ions antioxidant enzymatic defence does not seem to be a major mechanism of cadmium tolerance in the strain *A. fumigatus*.

Key words: heavy metals, filamentous fungi, oxidative stress, biomarkers, antioxidant enzymes

Щам *Aspergillus fumigatus* 3₂ е изолиран от почви в района на медни мини Влайков връх (България), замърсени с тежки метали. Проучен е ефектът на повишаващи се концентрации кадмиеви йони върху растежа и морфологията на моделния организъм, както и участието на оксидативния стрес в метал-индуцираната токсичност. *A. fumigatus* проявява растеж в течна и агарова среда в присъствие на кадмиеви йони до 200 мкг/мл, което доказва неговата висока толерантност. Едновременно с това се наблюдават изменения в морфологията на колонииите. Третирането на културата с повишаващи се концентрации метални йони предизвиква промени в нивата на резервните въглехидрати и оксидативно увредените белтъци, което е указание за проявата на оксидативен стрес. Установено е рязко увеличение в съдържанието на трехалозата и ускорено усвояване на гликогена в присъствието на кадмиеви йони в концентрация над 5 мкг/мл. Наблюдава се понижаване в количеството на белтъците, съдържащи карбонилни групи, особено силно изразено при високите концентрации (70 и 100 мкг/мл). Докато във вариантите с 5, 20 и 50 мкг/мл се наблюдава повишена активност на ензима супероксид дисмутаза (СОД), то при концентрации 70 и 100 мкг/мл тази активност значително се понижава. Отбелязва се и понижаване активността на ензима каталаза във всички третирани култури. Вероятно,

антиоксидантната ензимна защита не е част от основния механизъм за толерантност на *A. fumigatus* към високи концентрации на кадмиеви йони.

ПУБЛИКАЦИЯ В СБОРНИК ОТ ТРУДОВЕ ОТ НАЦИОНАЛНА КОНФЕРЕНЦИЯ:

29 Костадинова Н. Метаболитна адаптация към нискотемпературен стрес при антарктически гъби. Втори работен семинар „Кои сме ние и какво постигнахме“, по ОП „Развитие на човешките ресурси“, София - Доклад публикуван в сборник от трудове от национална конференция, юни 2011

Антарктика е един от районите с най-суров климат на Земята. Въпреки силно лимитиращите условия за биоразнообразието, в тази област се срещат различни морски бозайници, птици, мъхове, лишей, а микроорганизмите се оказват най-многобройни представители там. В последните години преживяемостта в екстремно ниски температури предизвиква нарастващ интерес към антарктическите микроорганизми, вкл. и филаментозните гъби. Това свое оцеляване те постигат чрез различен набор от механизми на адаптация в морфологията, физиологията и метаболизма. Способността на антарктическите филаментозни гъби да приспособяват метаболитните си процеси към природните условия, преодолявайки редица негативни ефекти от ниските температури, е забележителен факт, който ги превръща в удобен еукариотен модел за изследване на еволюционните процеси и намира широко приложение в екзобиологията. Публикуваните данни за филаментозните гъби, изолирани от о-в Ливингстън, Антарктика, са съвсем оскъдни, а за изолати от българската база „Св. Климент Охридски“ изобщо липсват. Освен това, не се проучени промените в метаболитните компоненти като резултат от нискотемпературния стрес при микроорганизми, адаптирани към екстремно студини местообитания.

Целта на настоящото изследване е да се охарактеризира метаболитния отговор на два антарктически щама гъби (психротолерантен и мезофилен) към краткотраен нискотемпературен стрес чрез проучване активността на ключови ензими от Гликолитичния път (хексокиназа, глюкозо-6Ф-дехидрогеназа и глицералдехид-3Ф дехидрогеназа) и Цикъла на трикарбоновите киселини (изоцитрат дехидрогеназа и малат дехидрогеназа) по време на 6 часово въздействие и в последвалата фаза на възстановяване.

Ключови думи: Антарктика, филаментозни гъби, метаболитна адаптация, гликолитичен път, оксидативен стрес, цикъл на трикарбоновите киселини.

Antarctica is one of the harshest regions on Earth. Despite the severely limiting conditions for biodiversity, various marine mammals, birds, mosses, lichens are found in this area, and microorganisms are the most abundant representatives there. In recent years, survival in extremely low temperatures has caused a growing interest in Antarctic microorganisms, including filamentous fungi. They are capable of survival through a various set of mechanisms of adaptation in morphology, physiology and metabolism. The ability of Antarctic filamentous fungi to adapt their metabolic processes to environmental conditions, overcoming a number of negative effects of low temperatures, is a remarkable fact that makes them a convenient eukaryotic model for studying evolutionary processes and is widely used in exobiology. Published data on filamentous fungi isolated from Livingston Island, Antarctica are very scarce, and there is no data

about isolates from the Bulgarian base "St. Kliment Ohridski". In addition, changes in metabolic components as a result of low-temperature stress in microorganisms adapted to extreme cold habitats have not been studied before. The aim of the present study was to characterize the metabolic response of two Antarctic fungal strains (*Penicillium commune* 161, psychrotolerant and *Aspergillus glaucus* 363, mesophilic) to short-term low temperature stress by studying the activity of key glycolytic pathway enzymes (hexokinase, glucose-6P-dehydrogenase, glyceraldehyde-3P dehydrogenase) and the Tricarboxylic acids cycle (isocitrate dehydrogenase and malate dehydrogenase) during 6 hours of exposure and in the subsequent recovery phase.

Key words: Antarctica, filamentous fungi, metabolic adaptation, glycolytic pathway, oxidative stress, tricarboxylic acid cycle