РЕЗЮМЕТА НА РЕЦЕНЗИРАНИТЕ НАУЧНИ ПУБЛИКАЦИИ

на гл. ас. д-р Детелина Христова Петрова

представени за участие в конкурс за заемане на академична длъжност „доцент” по професионално **направление 4.3.Биологически науки (Физиология на растенията-Биологичен потенциал на растителни вторични метаболити**), обявен в ДВ брой 5 от 17.01.2025 г.

ПУБЛИКАЦИИ В РЕФЕРИРАНИ СПИСАНИЯ И ИНДЕКСИРАНИ В СВЕТОВНОИЗВЕСТНИ БАЗИ ДАННИ С НАУЧНА ИНФОРМАЦИЯ (WEB OF SCIENCE AND SCOPUS)

1. Petrova, D., Georgieva, T., Chaneva, G., Zhiponova, M. **(2024)**. Solvent-dependent antibacterial activity of *Nepeta nuda* leaf extracts. *Ecologia Balkanica,* 16 (1), 167-173. **ISSN:** 1314-0213, 1313-9940. http://eb.bio.uni-plovdiv.bg. **SJR$_{2023}$=0.167 (Q4)**

Резюме

Лечебното растение *Nepeta nuda* L. (известно като „гола котешка мента “) се характеризира с различни биологични активности поради високото съдържание на терпени, иридоиди и фенолни съединения. В настоящото изследване анализирахме антимикробната активност на екстракти от листа на *N. nuda* срещу 16 човешки патогенни микроорганизми. Антимикробната ефективност на екстрактите от *N. nuda* е изследвана в зависимост от тяхното приготвяне, чрез прилагане на първични екстракционни разтворители (хлороформ/Chl и метанол/Met) и съответните вторични разтворители за разтваряне на сухите първични екстракти (Chl, Met), също така H_2O и диметилсулфоксид/DMSO. Приложеният метод на дискова дифузия позволява изпаряване на разтворителя преди контакт с бактериите, така че може да бъде оценена ефективността на екстрахираните полярни и неполярни вторични метаболити от *N. nuda*. Сухите Met и Chl екстракти показват добра разтворимост в съответните вторични разтворители Met, Chl и DMSO, докато H_2O изглежда неподходящ разтворител. Екстрактите от листа показват активност към 6 от тестваните 15 бактерии и не е открита противогъбична активност. Установен е висок инхибиторен ефект при използване на Met и Chl разтворители, докато H_2O екстрактите са неактивни. Бактериите *Staphylococcus aureus* и *Acinetobacter calcoaceticus* показват най-силна чувствителност към Chl екстракти. Най-податливи на експозиция на Met екстракти се оказват *Bacillus subtilis* и *A. calcoacetisus*. Ние заключихме, че използването на разтворители с различна полярност успя да извлече антимикробните вещества от *N. nuda*. Следователно получените екстракти могат да бъдат допълнително изследвани за приложение като биоконтролиращи агенти, естествени консерванти и за медицински цели.

Abstract

The medicinal plant *Nepeta nuda* L. (known as ‘naked catmint’) is characterized by various biological activities due to the high content of terpenes, iridoids and phenolic compounds. In the present study, we analysed the antimicrobial activity of *N. nuda* leaf extracts against 16 human pathogenic microorganisms. The antimicrobial efficiency of *N. nuda* extracts was investigated depending on their preparation by applying primary extraction solvents (chloroform/Chl and methanol/Met), and the respective secondary solvents for dissolving the dry primary extracts (Chl, Met), as well as H_2O and dimethyl sulfoxide/DMSO. The applied disk-diffusion method allowed evaporation of the solvent prior contact to the bacteria, and the effect of extracted *N. nuda* polar and non-polar secondary metabolites could be evaluated. The

dry Met and Chl extracts showed good solubility in the respective secondary solvents Met, Chl and DMSO, while H_2O appeared as inappropriate solvent. The leaf extracts showed activity to 6 of the tested 15 bacteria and no antifungal activity was detected. High inhibitory effect was established when using Met and Chl solvents, while the H_2O extracts were inactive. The bacteria *Staphylococcus aureus* and *Acinetobacter calcoaceticus* showed the strongest sensitivity to Chl extracts. The most susceptible to exposure of Met extracts turned out to be *Bacillus subtilis* and *A. calcoacetisus*. We concluded that the use of solvents with different polarity succeeded to extract *N. nuda* antimicrobial substances. Therefore, the obtained extracts could be further explored for application as biocontrol agents, natural preservatives and for medicinal purposes.

2. Georgieva, Zh., Karcheva, Z., **Petrova, D.,** Zhiponova, M., Toshkova-Yotova, T., Chaneva, G. **(2024)**. Changes of Growth and Bioactive Potential of the Cyanoprokaryote *Arthronema africanum* under the Influence of Light. *Oxidation Communications*, 47 (1), 76-87. ISSN: 0209-4541. **SJR_{2023}=0.180 (Q4)**

Резюме

Настоящото проучване изследва влиянието на качеството на светлината върху растежа и биоактивните свойства на микроводораслото *Arthronema africanum*. Проследен е ефектът на 5 различни светлинни формули - синя, червена, червено/синя, бяло/червена и бяла светлина (като контрола). Най-интензивен растеж се наблюдава при синята светлина, докато скоростта на растеж е най-потиснат при червения и бяло/червения вариант. Не е установена строга връзка между акумулацията на сухото тегло и съдържанието на протеини и пигменти. Най-голямо количество белтъци в биомасата се достига при червено/синята и бяло/червена светлина – 23% и 30% над контролата. Освен това, най-силно увеличение в пигментното съдържание (хлорофил *a* и каротеноиди) е регистрирано в сините и червено/сините варианти. За разлика от тях, биосинтезата на пигменти се повлиява най-негативно от червената светлина. Фикобилипротеини – алофикоцианин и фикоцианин, бяха силно увеличени при синята светлина – тяхното количеството е повече от 3 пъти по-високо от контролното. Междувременно, R/B светлината също доведе до повишено натрупване на фикобилипротеин, особено на алофикоцианин. Антиоксидантната активност на *A. africanum* се повлиява значително от светлината. Най-високи нива на феноли, флавоноиди и обща антиоксидантна активност е установено в алкохолния екстракт, получен от биомаса. Водният екстракт остава по-малко активен, но все пак показва по-високи антиоксидантни свойства, в сравнение с културалната среда. Тези резултати могат да бъдат основателна причина за по-нататъшно изследване на ефекта на качеството на светлината върху растежа и биоактивното действие на *Arthronema africanum,* особено когато целта е да се постигне повишено натрупване на фикобилипротеини.

Abstract

The present study investigated influence of light quality on growth and bioactive properties of microalga *Arthronema africanum*. The effect of 5 different light formulas – Blue, Red, Red/Blue, White/Red and White light (as control), was investigated. The most intensive growth was observed under Blue light, while growth rate was most suppressed in the Red and White/Red variants. No strict correlation between dry weight accumulation and protein and pigment content was found. The highest amount of protein in the biomass was reached under Red/Blue and White/Red light – 23% and 30% above the control. Further, a strongest increase in pigment content (chlorophyll *a* and carotenoids) was registered in the Blue and Red/Blue variants. In contrast, pigment biosynthesis was affected most negatively by the red light.

Phycobiliproteins – allophycocyanin and phycocyanin, were highly increased under Blue light – their amount was more than 3 times higher than the control. Meanwhile, R/B light also led to enhanced phycobiliprotein accumulation, especially of the allophycocyanin.
Antioxidant activity of *A. africanum* was significantly affected by light. The highest amount of phenols, flavonoids and total antioxidant activity was found in the alcoholic extract obtained from the biomass. The aqueous extract remained less active, but still showed higher antioxidant properties compared to the culture medium. These results could be an essential reason for further study of the effect of light quality on growth and bioactive performance of *Arthronema africanum*, especially when the aim is to achieve increased phycobiliprotein accumulation.

3. Zhiponova, M., Yordanova, Zh., Zaharieva, A., Ivanova, L., Gašić, U., Mišić, D., Aničić, N., Skorić, M., Petrović, L., Rusanov, K., Rusanova, M., Mantovska, D., Tsacheva, I., Petrova, D., Yocheva, L., Hinkov, A., Mihaylova, N., Hristozkova, M., Georgieva, Zh., Karcheva, Z., Krumov, N., Todorov, D., Shishkova, K., Vassileva, V., Chaneva, G., Kapchina-Toteva, V. (2024). Cytokinins Enhance the Metabolic Activity of *in vitro*-grown Catmint (*Nepeta nuda* L.). *Plant Physiology and Biochemistry*, 214, 108884. ISSN: 0981-9428, 1873-2690. https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2024.108884. **IF$_{2023}$=6.1, SJR$_{2023}$=1.252 (Q1)**

Резюме

Фитохормоните цитокинини са основни медиатори на развитието и екологичната сигнализация, главно по време на клетъчното делене и ендофитните взаимодействия, наред с други процеси. Като се има предвид ограничените познания за регулаторните механизми, които влияят върху растежа и биоактивността на лечебното растение *Nepeta nuda* (Lamiaceae), нашето изследване имаше за цел да проучи как цитокинините влияят върху метаболитния статус на растението. Екзогенното прилагане на активни цитокининови форми върху *in vitro N. nuda* междувъзлията, стимулира интензивно образуване на калус и de novo регенерация на издънки, което води до значително увеличаване на биомасата. Този процес включва натрупване на оксиданти, които бяха отстранени от пероксидази, използвайки феноли като субстрати. Калусната тъкан, образувана при добавянето на цитокининът 6-бензиламинопурин (BAP), действа като отток за захари и феноли по време на разпределението на хранителните вещества между хранителната среда и регенерираните растения. В съответствие с това, цитокининът значително повишава съдържанието на полярни метаболити и техните съответни *in vitro* биологични активности, в сравнение с *in vitro* нетретираните и диворастящите растения. Медиираното от BAP натрупване на основни фенолни метаболити, розмаринова киселина (RA) и кафеена киселина (CA), съответства на вариациите в нивата на експресия на гените, участващи в тяхната биосинтеза. Противоположно, не беше засегнато значително натрупването на иридоиди и експресията на съответните биосинтетични гени. В заключение, нашето проучване изясни механизма на цитокининовото действие в *N. nuda in vitro* култура и демонстрира своя потенциал за стимулиране на производството на биоактивни съединения. Тези знания биха могли да служат като основа за по-нататъшни изследвания за въздействието на околната среда върху продуктивността на растенията.

Abstract

The phytohormones cytokinin are essential mediators of developmental and environmental signalling, primarily during cell division and endophytic interactions, among other processes. Considering the limited understanding of the regulatory mechanisms that affect the growth and bioactivity of the medicinal plant *Nepeta nuda* (Lamiaceae), our study aimed to explore how cytokinins influence the plant’s metabolic status. Exogenous administration of active cytokinin

forms on in vitro *N. nuda* internodes stimulated intensive callus formation and de novo shoot regeneration, leading to a marked increase in biomass. This process involved an accumulation of oxidants, which were scavenged by peroxidases using phenolics as substrates. The callus tissue formed upon the addition of the cytokinin 6-benzylaminopurine (BAP) acted as a sink for sugars and phenolics during the allocation of nutrients between the culture medium and regenerated plants. In accordance, the cytokinin significantly enhanced the content of polar metabolites and their respective in vitro biological activities compared to untreated in vitro and wild-grown plants. The BAP-mediated accumulation of major phenolic metabolites, rosmarinic acid (RA) and caffeic acid (CA), corresponded with variations in the expression levels of genes involved in their biosynthesis. In contrast, the accumulation of iridoids and the expression of corresponding biosynthetic genes were not significantly affected. In conclusion, our study elucidated the mechanism of cytokinin action in *N. nuda* in vitro culture and demonstrated its potential in stimulating the production of bioactive compounds. This knowledge could serve as a basis for further investigations of the environmental impact on plant productivity.

4. Mantovska, D., Zhiponova, M., **Petrova, D**., Alipieva, K., Bonchev, G., Boycheva, I., Evstatieva, Y., Nikolova, D., Tsacheva, I., Simova, S., Yordanova, Zh. **(2024).** Exploring the Phytochemical Composition and Biological Potential of Balkan Endemic species *Stachys scardica* Griseb. *Plants-Basel*, 13(1), 30. ISSN: 2223-7747. https://doi.org/10.3390/plants13010030. **IF$_{2023}$=4.0, SJR$_{2023}$=0.795 (Q1)**

Резюме

Stachys scardica Griseb. е балкански ендемичен вид, включен в Червената книга на България с природозащитен статус „застрашен “. Постигнато е успешно микроразмножаване върху MS среда, с добавен 1,5 mg/L бензиладенин (BA), последвано от *ex vitro* адаптация в експериментално поле, което доведе до 92% регенерирани растения. С помощта на ядрено-магнитен резонанс (ЯМР) са идентифицирани фенилетаноидни гликозиди (вербаскозид, левкосептозид А), фенолни киселини (хлорогенова киселина), иридоиди (алобетоникозид и 8-OAc-харпагид) и алкалоиди (тригонелин), характерни за растенията от род Stachys. Наблюдава се висока антиоксидантна и радикал-улавяща активност, както в *in situ*, така и в *ex vitro* аклиматизирани растения *S. scardica*, което корелира с докладваните високи концентрации на общи феноли и флавоноиди в тези варианти. *Ex vitro* адаптираните растения, също показват добре дефиниран противовъзпалителен потенциал, демонстрирайки висока инхибиторна активност срещу системата на комплемента. Прилагайки метода на дисковата дифузия е постигнат 100% инхибиторен ефект, в сравнение с положителните антибиотични контроли срещу *Staphylococcus epidermidis* и *Propionibacterium acnes*, и умерена активност срещу *Bacillus cereus*. Индуцираните *in vitro* и *ex vitro* моделни системи могат да позволят опазването на *S. scardica* в природата и да предложат бъдещи възможности за целенасочена биосинтеза на ценни вторични метаболити, с потенциални приложения във фармацевтичната и козметичната промишленост.

Abstract

Stachys scardica Griseb. is a Balkan endemic species listed in The Red Data Book of Bulgaria with the conservation status “endangered”. Successful micropropagation was achieved on MS medium supplemented with 1.5 mg/L benzyladenine (BA), followed by a subsequent ex vitro adaptation in an experimental field resulting in 92% regenerated plants. Using nuclear magnetic resonance (NMR), phenylethanoid glycosides (verbascoside, leucosceptoside A), phenolic

acids (chlorogenic acid), iridoids (allobetonicoside and 8-OAc-harpagide), and alkaloids (trigonelline) were identified, characteristic of plants belonging to the genus Stachys. High antioxidant and radical scavenging activities were observed in both in situ and ex vitro acclimated *S. scardica* plants, correlating with the reported high concentrations of total phenols and flavonoids in these variants. Ex vitro adapted plants also exhibited a well-defined anti-inflammatory potential, demonstrating high inhibitory activity against the complement system. Employing a disk diffusion method, a 100% inhibition effect was achieved compared to positive antibiotic controls against *Staphylococcus epidermidis* and *Propionibacterium acnes*, with moderate activity against *Bacillus cereus*. The induced in vitro and ex vitro model systems can enable the conservation of *S. scardica* in nature and offer future opportunities for the targeted biosynthesis of valuable secondary metabolites, with potential applications in the pharmaceutical and cosmetic industries.

5. Zaharieva, A., Rusanov, K., Rusanova, M., Paunov, M., Yordanova, Zh., Mantovska, D., Tsacheva, I., **Petrova, D.,** Mishev, K., Dobrev, P., Lacek, J., Filepová, R., Zehirov, G., Vassileva, V., Mišić, D., Motyka, V., Chaneva, G., Zhiponova, M. **(2023)**. Uncovering the Interrelation between Metabolite Profiles and Bioactivity of In Vitro- and Wild-Grown Catmint (*Nepeta nuda* L.). *Metabolites*, 13(10), 1099. ISSN: 2218-1989. https://doi.org/10.3390/metabo13101099. **IF$_{2023}$=3.4**, **SJR$_{2023}$=0.903 (Q2).**

Резюме

Nepeta nuda L. е лечебно растение, богато на вторични метаболити, служещи за привличане на опрашители и възпиране на тревопасните животни. Фенолите и иридоидите на *N. nuda* са обстойно изследвани, поради тяхното благоприятно въздействие върху човешкото здраве. Това проучване изследва химичните профили на *in vitro* и диворастящи растения *N. nuda* (цветя и листа) чрез метаболомен анализ, използвайки газова хроматография и масспектрометрия (GC-MS). Първоначално проучихме разликите в състава на летливите вещества в *in vitro* култивирани растения, сравнявайки ги с цветя и листа от растения, растящи в естествена среда. Характерният иридоид 4a-,7-,7a- -непеталактон е силно представен в *in vitro* растения и в цветове на растения от природните популации, докато повечето от монотерпените преобладават в листата на диворастящи растения. Известните *in vitro* биологични активности, включващи антиоксидантен, антивирусен, антибактериален потенциал, заедно с новооценените противовъзпалителни ефекти, показват последователни връзки с общото съдържание на феноли, редуциращи захари и идентифицираните метаболитни профили в полярни (органични киселини, аминокиселини, алкохоли, захари, феноли) и неполярни (мастни киселини, алкани, стероли) фракции. Нивата на фитохормоните са определени и количествено, за да се направи извод за регулаторните пътища, управляващи фитохимичното производство. Всички получени данни изтъкват потенциала на съединенията, които допринасят за биоактивността на *N. nuda*.

Abstract

Nepeta nuda L. is a medicinal plant enriched with secondary metabolites serving to attract pollinators and deter herbivores. Phenolics and iridoids of *N. nuda* have been extensively investigated because of their beneficial impacts on human health. This study explores the chemical profiles of *in vitro* shoots and wild-grown *N. nuda* plants (flowers and leaves) through metabolomic analysis utilizing gas chromatography and mass spectrometry (GC–MS). Initially, we examined the differences in the volatiles’ composition in *in vitro*-cultivated shoots comparing them with flowers and leaves from plants growing in natural environment. The characteristic iridoid 4a-_,7-_,7a-_-nepetalactone was highly represented in shoots of in vitro

plants and in flowers of plants from nature populations, whereas most of the monoterpenes were abundant in leaves of wild-grown plants. The known *in vitro* biological activities encompassing antioxidant, antiviral, antibacterial potentials alongside the newly assessed anti-inflammatory effects exhibited consistent associations with the total content of phenolics, reducing sugars, and the identified metabolic profiles in polar (organic acids, amino acids, alcohols, sugars, phenolics) and non-polar (fatty acids, alkanes, sterols) fractions. Phytohormonal levels were also quantified to infer the regulatory pathways governing phytochemical production. The overall dataset highlighted compounds with the potential to contribute to *N. nuda* bioactivity.

6. Petrova, D., Gašić, U., Yocheva, L., Hinkov, A., Yordanova, Z., Chaneva, G., Mantovska, D., Paunov, M., Ivanova, L., Rogova, M., Shishkova, K., Todorov, D., Tosheva, A., Kapchina-Toteva, V., Vassileva, V., Atanassov, A., Mišić, D., Bonchev, G., Zhiponova, M. **(2022)**. Catmint (*Nepeta nuda* L.) Phylogenetics and Metabolic Responses in Variable Growth Conditions. *Frontiers in Plant Science*, 13, 866777. ISSN: 1664-462X**.** https://doi:10.3389/fpls.2022.866777. **IF$_{2022}$=5.6, SJR$_{2022}$=1.231 (Q1).**

Резюме

Nepeta nuda (котешка мента; Lamiaceae) е многогодишно лечебно растение с широко географско разпространение в Европа и Азия. Това изследване първо характеризира таксономичната позиция на *N. nuda*, използвайки техниката на ДНК баркодиране. Тъй като лечебните растения са богати на вторични метаболити, допринасящи за техния адаптивен имунен отговор, ние изследвахме метаболитното приспособяване на *N. nuda*, при променливи условия. Чрез сравнителен анализ на диворастящи и *in vitro* култивирани растения, ние оценихме промяната във фенолните и иридоидни съединения и свързаните с тях имунни ефекти. Диворастящите растения от различни места в България съдържат различни количества фенолни съединения, проявяващи се с общо увеличение в цветовете, в сравнение с листата, докато силно намаление се наблюдава в *in vitro* растенията. Подобна тенденция се наблюдава и при антиоксиданта и антихерпесна активност на екстрактите. Антимикробният потенциал обаче е много сходен, независимо от условията на растеж. Анализът на екстрактите от *N. nuda* доведе до идентифицирането на 63 съединения, включително фенолни киселини и производни, флавоноиди и иридоиди. Количественото определяне на съдържанието на 21 целеви съединения показа тяхното общо намаление в екстрактите от *in vitro* растения и само е увеличена специфично феруловата киселина (FA). Култивирането на *in vitro* растения при различно качество и интензитет на светлина показа, че тези вариращи светлинни условия променят съдържанието на биоактивни съединения, като ескулин, FA, розмаринова киселина, цирсимаритин, нарингенин, рутин, изокверцетин, епидеоксилоганова киселина, хлорогенна киселина. По този начин, това проучване генерира нова информация за регулирането на продуктивността на *N. nuda,* с помощта на светлина и други условия на култивиране, които могат да бъдат използвани за биотехнологични цели.

Abstract

Nepeta nuda (catmint; Lamiaceae) is a perennial medicinal plant with a wide geographic distribution in Europe and Asia. This study first characterized the taxonomic position of *N. nuda* using DNA barcoding technology. Since medicinal plants are rich in secondary metabolites contributing to their adaptive immune response, we explored the *N. nuda* metabolic adjustment operating under variable environments. Through comparative analysis of wild-grown and *in vitro* cultivated plants, we assessed the change in phenolic and iridoid

compounds, and the associated immune activities. The wild-grown plants from different Bulgarian locations contained variable amounts of phenolic compounds manifested by a general increase in flowers, as compared to leaves, while a strong reduction was observed in the *in vitro* plants. A similar trend was noted for the antioxidant and anti-herpesvirus activity of the extracts. The antimicrobial potential, however, was very similar, regardless the growth conditions. Analysis of the *N. nuda* extracts led to identification of 63 compounds including phenolic acids and derivatives, flavonoids, and iridoids. Quantification of the content of 21 target compounds indicated their general reduction in the extracts from in vitro plants, and only the ferulic acid (FA) was specifically increased. Cultivation of in vitro plants under different light quality and intensity indicated that these variable light conditions altered the content of bioactive compounds, such as aesculin, FA, rosmarinic acid, cirsimaritin, naringenin, rutin, isoquercetin, epideoxyloganic acid, chlorogenic acid. Thus, this study generated novel information on the regulation of *N. nuda* productivity using light and other cultivation conditions, which could be exploited for biotechnological purposes.

7. Mantovska, D., **Petrova, D.,** Yocheva, L., Yordanova, Zh. **(2022)**. Comparative Determination of Antimicrobial Activity of the Balkan Endemic Species *Stachys thracica* Davidov During the Process of *ex situ* Conservation. *Bio Risk*, 17, 357–365. ISSN: 1313-2644, 1313-2652. https://doi.org/10.3897/biorisk.17.77484. **SJR$_{2022}$=0.297 (Q2)**

Резюме

Stachys thracica Davidov – Тракийска ранилист е балканско ендемично растение, включено в Червената книга на България с природозащитен статус „рядък“. Растенията от род *Stachys* имат дълга история на употреба за лечение на различни заболявания, възпалителни състояния, кашлица, язви, генитални тумори и инфектирани рани. Поради ограниченото му разпространение, информацията за биологичната активност и химичния състав на *S. thracica* е доста оскъдна. Целта на настоящото изследване е сравнително определяне на антимикробната активност на метанолови екстракти, получени от *in situ* диви, *in vitro* култивирани и *ex vitro* адаптирани растения *S. thracica. In vitro* култури от тракийския ранилист се поддържат в MS среда без хормони и при контролирани условия на околната среда. Метаноловите екстракти от *in situ, in vitro* култивирани и *ex vitro* адаптирани растения *S. thracica* са активни главно срещу Грам-отрицателни бактерии. И трите екстракта показаха еднаква активност срещу *Acinetobacter calcoaceticus*. Създаването на *in vitro* култура и последващото й адаптиране в *ex vitro* условия се оказа подходящ алтернативен подход за *ex situ* опазването на *S. thracica*, както и за изследване на неговата биологична активност.

Abstract

Stachys thracica Davidov – Thracian woundwort is a Balkan endemic plant included in The Red Data Book of Bulgaria with conservational status “rare”. The plants from genus *Stachys* have a long history of use to treat various diseases, inflammatory conditions, coughs, ulcers, genital tumors, and infected wounds. Due to its limited distribution the information on the biological activity and chemical composition of *S. thracica* is rather scarce. The aim of the present research is the comparative determination of the antimicrobial activity of methanolic extracts obtained from *in situ* wild*, in vitro* cultivated and *ex vitro* adapted *S. thracica* plants. The *in vitro* shoot culture of the Thracian woundwort was maintained in hormone-free MS medium under controlled environmental conditions. The methanolic extracts from *in situ, in vitro* cultivated and ex vitro adapted *S. thracica* plants were active mainly against Gram-negative bacteria. All three extracts showed equal activity against *Acinetobacter calcoaceticus.* The establishment of *in vitro* shoot culture and its subsequent adaptation in *ex vitro* conditions

was an appropriate alternative approach for the *ex situ* conservation of *S. thracica* as well as for the study of its biological activity.

8. Karcheva, Z., Georgieva, Zh., Tomov, A., **Petrova, D.,** Zhiponova, M., Vasileva, I., Chaneva, G. (**2022**). Heavy Metal Stress Response of Microalgal Strains *Arthronema africanum* and *Coelastrella* sp. BGV. *BioRisk,* 17, 83-94. ISSN: 1313-2644, 1313-2652. https://doi: 10.3897/biorisk.17.77483. **SJR$_{2022}$=0.297 (Q2)**

Резюме

Настоящото проучване сравнява реакцията на стрес на два щама микроводорасли – *Arthronema africanum* (Cyanoprokaryota) и *Coelastrella* sp. BGV (Chlorophyta), след третиране с тежки метали. Анализирани са промените в растежа на водораслите, пигментиното и белтъчно съдържание след добавяне на Cu, Cd и Pb (50 μM и 100 μM) към хранителната среда. Установено е, че Cd и Pb значително инхибират растежа и белтъчната биосинтеза на микроводораслите, но ефектът на Cu остава по-слабо изразен. И при двата щама се наблюдава намаляване на хлорофилното съдържание, докато съдържанието на каротеноиди значително се повишава, особено в биомасата на *Coelastrella* sp. BGV. Добавянето на 100 μM Cd и 100 μM Pb към средата предизвиква силно покачване на малондиалдехид в двата микроводораслови щама, което съответства на значително нарастване в активността на супероксиддисмутазата и каталазата. Антиоксидантните ензими се променат различно след излагането на тежки метали. Активността на SOD в клетките на *Arthronema africanum* е най-силно повлияна от Cd, за разлика от *Coelastrella* sp. BGV, където е силно увеличена от 100 μM Pb. Прилагането на 100 μM Cd и 100 μM Pb повишава по подобен начин активността на каталазата и в двете микроводорасли. Изследваните щамове показват висок капацитет за абсорбция на метални йони, особено на Pb, който се абсорбира в по-голяма степен от Cd и Cu. Поради тази причина предположихме, че двата водораслови щама и по-специално *Coelastrella* sp. BGV може успешно да се използват за третиране на замърсени водни източници.

Abstract

The present study compared the stress response of two microalgal strains – *Arthronema africanum* (Cyanoprokaryota) and *Coelastrella* sp. BGV (Chlorophyta), after heavy metals' treatment. Changes of algal growth, pigment and protein content were analyzed after adding Cu, Cd and Pb (50 μM and 100 μM) to the nutrition medium. It was found that Cd and Pb significantly inhibited growth and protein biosynthesis of microalgae, but the effect of Cu remained less pronounced. In both strains, a decrease of chlorophyll content was observed, while carotenoid content markedly increased, especially in *Coelastrella* sp. BGV biomass. The addition of 100 μM Cd and 100 μM Pb to the medium caused a strong enhancement of malondialdehyde in both microalgal strains, which corresponded to the significant increase of superoxide dismutase and catalase activity. The antioxidant enzymes appeared to be differently altered by heavy metals' exposure. The activity of SOD in the *Arthronema africanum* cells was most strongly affected by Cd, in contrast to *Coelastrella* sp. BGV that was highly increased by 100 μM Pb. The application of 100 μM Cd and 100 μM Pb increased in a similar manner catalase activity in both microalgae. The strains that were studied showed a high absorption capacity for metal ions, especially for Pb, which was absorbed largely than Cd and Cu. For that reason, we assumed that both microalga and, in particular, *Coelastrella* sp. BGV, could be successfully used for treatment of contaminated water bodies.

9. Vasileva, I., Toshkova-Yotova, T., Georgieva, Zh., Karcheva, Z., **Petrova, D.,** Chaneva, G., Yocheva, L. **(2021)**. Effect of Temperature and Light on the Biochemical Profile and Antimicrobial Activity of *Chroococcus* sp. R-10 (Cyanoprocaryota). *Oxidation Communications* 44(4), 723-736. ISSN: 0209-4541. **SJR_{2021}=0.216 (Q3)**

Резюме

Изследван е новоизолирания български цианопрокариот *Chroococcus* sp. R-1 за определяне на подходящите условия за култивиране и влиянието на светлината и температурата върху състава на биомасата. Щамът се отглежда успешно в температурен диапазон 26º–35ºC доказвайки, че е толерантен към по-висок интензитет на светлината. Максималният добив, получен от *Chroococcus* sp. R-10 след 336 часово култивиране, при отимални условия (26°C и едностранно осветяване с 132 μmol фотони m^{-2} s^{-1}) е 10,3 g L^{-1}. Биомасата съдържа 37% DW протеин и по-високо количество въглехидрати – 42% DW. Ниската температура и по-ниският интензитет на светлината благоприятстват биосинтезата на фикобилипротеини – 10,8% DW, докато високият интензитет на светлината стимулира натрупването на липиди в клетките – 16,4% DW.

При изследване на антимикробната активност на някои водораслови екстракти е установено, че екзополизахаридната фракция и културалната среда заявиха значително антимикробно действие срещу някои Грам (-) и Грам (+) бактерии, както и *Candida albicans*. И двете микроводораслови проби са особено активни срещу *Bacillus subtilis*, но показаха различна ефективност към другите тест микроорганизми. Етаноловият екстракт има само фунгистатично действие срещу *Candida albicans*. Като цяло *Chroococcus* sp. R-10 може да се счита за един от най-добрите продуценти на биомаса, сред цианопрокариотите. Щамът расте бързо, акумулира големи количества протеини и екзополизахариди, и продуцира антимикробни вещества, което му дава предимство в потенциални бъдещи изследвания и биотехнологични приложения.

Abstract

A newly isolated Bulgarian cyanoprokaryote *Chroococcus* sp. R-10 was studied to determine the appropriate cultivation conditions and the effect of light and temperature on the biomass composition. The strain was successfully grown in the temperature range 26–35ºC, proving to be tolerant to higher light intensity. Under optimal conditions (26°C and unilateral illumination of 132 μmol photons m^{-2} s^{-1}), the maximum yield obtained from *Chroococcus* sp. R-10 was 10.3 g L^{-1}, after 336 hours of cultivation. The biomass contained 37% DW protein and higher amount of carbohydrates – 42% DW. The low temperature and lower light intensity favoured the biosynthesis of phycobiliproteins – 10.8% DW, while high light intensity stimulated the lipid accumulation in the cells – 16.4% DW. When studying the antimicrobial activity of some algal extracts, it was found that exopolysaccharide fraction and culture medium expressed significant antimicrobial activity against several Gr (–) and Gr (+) bacteria, as well as *Candida albicans*. Both microalgal samples were particularly effective towards *Bacillus subtilis*, but they had varying efficiency towards the other test-microorganisms. The ethanol extract showed only fungistatic action against *Candida albicans*. In general, *Chroococcus* sp. R-10 may be considered as one of the best biomass producers among the cyanoprokaryotes. The strain grows rapidly, accumulates large amounts of protein and exopolysaccharide, and produces antimicrobial substances, which gives it an advantage in potential future research and biotechnological application.

10. Tomov, A., **Petrova, D**., Yocheva, L., Georgieva, Z., Karcheva, Z., Chaneva G. **(2021)**. Antioxidant Status of Hydroponically and Aquaponically Grown Plant Species. *Oxidation Communications*, 44(2), 397-408. Print ISSN: 0209-4541. **SJR: 0.216 (Q3)**

Резюме
Проучването сравнява растежа, съдържанието на пигменти и антиоксидативния отговор при стрес на *Pisum sativum* L., *Zea mays* L. и *Lactuca sativa* L., култивирани в хидропонни и аквапонни системи. Наблюдавано е, че аквапонното отглеждане на царевица и маруля заедно със златна рибка (*Carassius auratus* L.) е много ефективно. При тези условия са измерени повишен растеж и най-високо съдържание на пигменти и редуциращи захари в листата на царевицата. В същото време, по-висока растежна скорост и съдържание на метаболити се наблюдават при марулята, но не и при граховите растения.
За да се изследва наличието на оксидативен стрес в системите за култивиране, са определени активностите на супероксиддисмутаза (SOD), каталаза (CAT) и гваякол пероксидаза (GPER). При царевицата не са регистрирани големи вариации в активностите на SOD и CAT в трите експериментални системи, докато активността на GPEP е леко повишена при аквапониката. Активността на SOD в маруля е най-висока в хидропонната система (ES 1, чешмяна вода), аналогично на нивото на общите пероксиди. Обаче, активностите на CAT и GPER са значително повишени при хидропоника (ES 2, разтвор на Knop) и аквапоника (ES 3). Обратно, *P. sativum* не се представя добре при аквапонични условия, където са измерени най-високи нива на MDA и общи пероксиди, както и повишени ензимни активности. Граховите растения достигнаха най-добър растеж в хидропонната система (ES 2). В обобщение, аквапонната система се оказва най-благоприятна за растежа на царевицата, докато марулята се развива еднакво добре, както в хидропонната (ES 2), така и в аквапонната система.

Abstract
The study compared growth, pigment content and antioxidative stress response of *Pisum sativum* L., *Zea mays* L. and *Lactuca sativa* L., cultivated in hydroponic and aquaponic systems. It was observed that aquaponic farming of maize and lettuce together with goldfish (*Carassius auratus* L.) was highly efficient. Under these conditions, the increased growth and the highest pigment and reducing sugars' content were measured in the leaves of maize. At the same time, higher growth rate and metabolite content were also observed in lettuce, but not in pea plants. In order to study the presence of oxidative stress conditions in the cultivation systems, the activities of superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT) and guaiacol peroxidase (GPER) were determined. In maize, no large variations in SOD and CAT activities were recorded among the three experimental systems, while GPEP activity was slightly enhanced under aquaponics. The activity of SOD in lettuce was the highest in the hydroponic system (ES 1, tap water), analogous to the level of total peroxides. However, CAT and GPER activities were significantly increased under hydroponics (ES 2, Knop's solution) and aquaponics (ES 3). In contrast, *P. sativum* did not performed well under aquaponic conditions, where the highest MDA and total peroxides were measured, as well as the increased enzyme activities. Pea plants reached their best growth in the hydroponic system (ES 2). In summary, the aquaponic system proved to be the most favourable for maize growth, while lettuce developed equally well in both, the hydroponic (ES 2) and the aquaponic system.

11. Toshkova-Yotova, T., Alexandrov, S., Pilarski, P., Yocheva, L., **Petrova, D**., Chaneva, G. **(2020)**. Screening of Antimicrobial and Antioxidant Properties of Green Microalga *Coelastrella* sp. BGV. *Oxidation Communications*, 43(2), 265-279. ISSN: 0209-4541. **SJR_{2020}=0.215 (Q3)**

Резюме
Скринингът на четири щама зелени микроводорасли от род *Coelastrella – Coelastrella* sp. BGV, *Coelastrella multistriata* var. *corcontica* (CCALA 308), *Coelastrella multistriata* var.

multistriata (CCALA 309) и *Coelastrella vacuolata* (CCALA 356) показва, че *Coelastrella* sp. BGV – новоизолиран български щам, има най-висок потенциал за растеж в лабораторни условия. Благоприятният състав на биомасата (протеини – 35,32%, въглехидрати – 38,66% и липиди – 13,9%) ни даде основание да считаме този щам за биотехнологично обещаващ и да изследваме неговите антимикробни и антиоксидантни свойства. Етаноловият екстракт, получен от биомасата на *Coelastrella* sp. BGV показа най-висока антимикробна активност – той е ефективен срещу шест от деветте тест-микроорганизми (2 Грам-положителни и 7 Грам-отрицателни бактерии). Мастно-киселинната смес инхибира развитието на четири бактериални щама, последвани от полизахаридната фракция и извънклетъчната културална среда. Най-чувствителни се оказаха бактериите *Pseudomonas aeruginosa, Proteus mirabilis* и *Escherichia coli* UPEC. Всички водораслови продукти са активни срещу *Candida albicans*, като най-силен противогъбичен ефект демонстрират етаноловия екстракт и мастните киселини. Изследвайки антиоксидантните свойства открихме, че етаноловият екстракт съдържа завишено фенолно (279 mg g–1 DW) и флавоноидно съдържание (84,3 mg g–1 DW). Повишената обща антиоксидантна активност (238,5 mM g–1 DW) също показва, че етаноловият екстракт има висок биоактивен потенциал и следователно е необходимо по-задълбочено изследване за характеризиране на биохимичния му състав.

Abstract

The screening of four green microalgal strains of genus *Coelastrella* – *Coelastrella* sp. BGV, *Coelastrella multistriata* var. *corcontica* (CCALA 308), *Coelastrella multistriata* var. *multistriata* (CCALA 309) and *Coelastrella vacuolata* (CCALA 356) showed that *Coelastrella* sp. BGV – a newly isolated Bulgarian strain, had the highest growth potential under laboratory conditions. The favourable biomass composition (proteins – 35.32%, carbohydrates – 38.66% and lipids – 13.9%) gave us a reason to consider that strain as biotechnologically promising and to investigate its antimicrobial and antioxidant properties.

The ethanol extract obtained from *Coelastrella* sp. BGV biomass exhibited the highest antimicrobial activity – it was effective against six of the nine test-microorganisms (2 Gram-positive and 7 Gram-negative bacteria). The fatty acid mixture inhibited the development of four bacterial strains, followed by the polysaccharide fraction and culture medium fluid. *Pseudomonas aeruginosa*, *Proteus mirabilis* and *Escherichia coli UPEC* proved to be the most sensitive. All algal products were active against *Candida albicans*, and the strongest antifungal effect was shown with ethanol extracts and fatty acids. Studying the antioxidant properties, we found that the ethanol extract contained enhanced phenol (279 mg g–1 DW) and flavonoid content (84.3 mg g–1 DW). The increased total antioxidant activity (238.5 mM g–1 DW) might also indicate that ethanol extract has a high bioactive potential and therefore, more in-depth study to characterise its biochemical composition is needed.

12. **Petrova, D.,** Yocheva, L., Petrova, M., Karcheva, Z., Georgieva, Zh., Toshkova-Yotova, T., Pilarski, P., Chaneva, G. **(2020)**. Antimicrobial and Antioxidant Activities of Microalgal Extracts. *Oxidation Communications*, 43(1), 103-116. ISSN: 0209-4541. **SJR$_{2020}$=0.215 (Q3)**

Резюме

Изследвани са два недостатъчно проучени цианобактериални щама, *Arthronema africanum* Lukavsky и *Nostoc commune* Vaucher, за да се определи техния биоактивен потенциал. Най-изразена антиоксидантна активност – най-високи количества фенолни съединения, флавоноиди и общата антиоксидантна активност са измерени в етаноловите екстракти. Освен това, значително по-високи антиоксиданти свойства показват водните екстракти приготвени от двата щама, в сравнение с полизахаридните фракции. Тествана

е антимикробната ефективност на цианобактериалните продукти срещу 9 бактериални щама (2 Грам-положителни и 7 Грам-отрицателни щама) и 1 гъбичен щам – *Candida albicans*. Висока ефективност срещу повечето тест-микроорганизми показаха водните екстракти, получени от биомасата на *N. commune.* Всички продукти, изолирани от *N. commune* инхибират растежа на *C. albicans*, като този резултат се счита за много обещаващ. Най-висока антимикробна активност показаха водните екстракти и културалната среда от *A. africanum.* Освен това, най-чувствителни се оказаха *P. mirabilis, P. aeruginosa* и *C. albicans*, като растежът им се инхибира от всички продукти на *A. africanum*. Въз основа на техните изразени антибактериални и антиоксидантни свойства, *Nostoc commune* и *Arthronema africanum* могат да се считат за потенциално ценни щамове за биотехнологията и медицината. Следователно по-нататъшните изследвания ще бъдат насочени към определяне на метаболитния състав на продуктите с най-висока биоактивност за тяхното евентуално практическо приложение.

Abstract

Two insufficiently explored cyanobacterial strains, *Arthronema africanum* Lukavsky and *Nostoc commune* Vaucher, were studied to identify their bioactive potential. Most pronounced antioxidant activity – highest amounts of phenolic compounds, flavonoids and total antioxidant activity were measured in the ethanol extracts. Furthermore, the aqueous extracts prepared from both strains, showed significantly higher antioxidant properties as compared with the polysaccharide fractions. Antimicrobial efficiency of cyanobacterial products was tested against 9 bacterial strains (2 Gram-positive and 7 Gram-negative strains), and 1 fungal strain – *Candida albicans*. Water extracts obtained from *N. commune* biomass were highly effective against most of the test-microorganisms. Each product isolated from *N. commune* inhibited growth of *C. albicans*, which result was considered as a very promising. Water extracts and cultural medium from *A. africanum* showed the highest antimicrobial activity. Besides, *P. mirabilis, P. aeruginosa* and *C. albicans* proved to be the most sensitive and their growth was inhibited by all *A. africanum* products. Based on their pronounced antibacterial and antioxidant properties, *Nostoc commune* and *Arthronema africanum* could be considered as potentially valuable strains for biotechnology and medicine. Hence, the further research would be focused on determining the metabolite composition of the products with the highest bioactivity for their eventual practical application.

13. Chaneva, G., **Petrova, D**. **(2014).** Effect of Method of Applying the Herbicide Paraquat on Pea and Maize. *Oxidation Communications*, 37(4), 1090-1102. ISSN: 0209-4541. **IF$_{2014}$=0.451**, **SJR$_{2014}$=0.230 (Q3)**.

Резюме

Степента на токсичност на паракват (PQ) силно зависи от метода на неговото приложение. Експерименталните растения, грах и царевица са третирани с PQ по два различни начина, чрез пръскане и чрез добавяне на хербицида в хранителната среда. Установено е, че PQ има по-изразен ефект, когато се абсорбира от корените. Пръскането с PQ причини само незначително намаляване на темповете на растеж на граха и царевицата. Леко променени се оказаха нивата на малондиалдехид (MDA) и H_2O_2, но изтичането на йони е значително по-завишено в тъканите на царевицата. Обратно, PQ в хранителната среда провокира много повече окислителни увреждания. Скоростта на растеж на царевицата е силно намалена - 60% намаление на сухото тегло и 42% намаление на дължината на растенията при 5 μM PQ в средата. При същите условия, растежът на граха е слабо засегнат. Регистрирано е силно увеличение на съдържанието на MDA при царевицата (220% от контролата), както и при граха (190% от контролата).

По-слабо забележимо се повлия съдържанието на H_2O_2 от съдържанието на MDA, то се повиши с 102% при царевицата и с 40% при граха. PQ, добавен към средата, предизвиква най-силен ефект върху изтичането на йони от клетките. Той достигна 310% над контролната група при царевица и 204% при грах. Царевицата, С4 растение е по-чувствителна към PQ от граха, който е типично С3 растение, независимо от начина на приложение. Тази тенденция е по-изразена, когато се добавят 5 µM PQ към хранителната среда.

Abstract

The extent of paraquat (PQ) toxicity strongly depends on the method of its application. The experimental plants, pea and maize, were treated with PQ in two different ways by spraying and by adding the herbicide into the nutrition medium. It was found that PQ had more pronounced effect when absorbed by roots. PQ spraying caused only a minor decrease in growth rates of pea and maize. Malondialdehyde (MDA) and H_2O_2 contents were also slightly changed, but ion leakage was noticeably increased mainly in the maize tissues. In contrast, PQ in the nutrition medium provoked much more oxidative damages. The growth rate of maize was severely reduced 60% decrease of the dry weight and 42% decrease of the length of shoots at 5 µM PQ in the medium. At the same conditions growth of pea was a little affected. A high increase of MDA content was registered in the maize (220% of control) as well as in the pea (190% of control). H_2O_2 content was affected less noticeably than the MDA content it was increased by 102% in maize and by 40% in pea. PQ added to the medium caused the strongest effect on the ion leakage from the cells. It reached 310% above the control group in maize and 204% in pea. Maize, a C-4 plant, was more sensitive to PQ than pea, a typical C-3 plant, regardless of the way of application. This tendency was more pronounced when 5 mu M PQ was added to the nutrition medium.

14. Georgieva, E., **Petrova, D.,** Yordanova, Zh., Kapchina-Toteva, V., Chellarova, E., Chaneva, G. **(2014).** Influence of Cryopreservation on the Antioxidative Activity of *in vitro* Cultivated *Hypericum* species. *Biotechnology and biotechnological equipment*, 28(5), 863-870. ISSN 1310-2818, 1314-3530. https://doi.org/10.1080/13102818.2014.987450. **IF_{2014}=0.300, SJR_{2014}=0.173 (Q4).**

Резюме

Направена е оценка на антиоксидантната активност на два *in vitro* култивирани вида *Hypericum* - *H. rumeliacum* Boiss. и *H. tetrapterum* Fr. след криоконсервация. Двата вида бяха успешно регенерирани след процедура на криоконсервация, извършена по метода на витрификация. *H. tetrapterum* не показа значителен оксидативен стрес, в резултат на нискотемпературното третиране. Обратно, измерено е намаление в съдържанието на зелените пигменти в *H. rumeliacum*, особено изразено при хлорофил *b,* което е придружено с увеличаване на каротеноидите в регенерираните растения. Установено е силно повишаване на нивата на малондиалдехид и H_2O_2 в тъканите на *H. rumeliacum*. Активността на супероксиддисмутазата се повишава със 170%, както и активността на каталазата, която е с 220% над контролата. Същата тенденция се наблюдава при *H. tetrapterum*, макар и по-слабо изразена - 143% увеличение на супероксиддисмутазата и 112% на каталазата. Криоконсервацията не повлиява съдържанието на феноли в изследваните растения, но доведе до повишаване на съдържанието на флавоноиди, особено в *H. tetrapterum* с 237%. Общата антиоксидантна активност в регенерирани *H. tetrapterum* растения варира около контролното ниво, но е повишена в *H. rumeliacum*. Съдържанието на свободен пролин в *H. tetrapterum* остава почти незасегнато след замразяване, за разлика от *H. rumeliacum*, където се наблюдава силно увеличение на

съдържанието на пролин (208% над контролата). Регистрирано е макар и незначително изтичане на електролити от клетките на *H. rumeliacum*, регенерирани след криоконсервация.

Abstract

Antioxidative activity of two *in vitro* cultivated *Hypericum* species - *H. rumeliacum* Boiss. and *H. tetrapterum* Fr. - was estimated after cryopreservation. Both species were successfully regenerated after a cryopreservation procedure performed by the vitrification method. *H. tetrapterum* did not manifest any significant oxidative stress-induced changes caused by low-temperature treatment. Conversely, a decrease in green pigments' content of *H. rumeliacum* was measured, particularly pronounced in chlorophyll b, which was accompanied by an increase of carotenoids in the regenerated plants. A strong increase of malone dialdehyde and H_2O_2 levels in *H. rumeliacum* tissues was detected. Superoxide dismutase activity was enhanced by 170%, as well as the catalase activity, which was 220% above the control. The same trend was observed in *H. tetrapterum*, although less pronounced - 143% increase of superoxide dismutase and 112% of catalase. Cryopreservation did not influence the phenol content in the examined plants, but it led to an increase of flavonoid content, especially in *H. tetrapterum*, by 237%. Total antioxidant activity in regenerated *H. tetrapterum* varied around the control level, but it was increased in *H. rumeliacum*. The free proline content in *H. tetrapterum* remained almost unaffected after freezing, as opposed to *H. rumeliacum,* where a strong increase of proline content (208% above the control) occurred. An electrolyte leakage from the cells of *H. rumeliacum* regenerated after cryopreservation was also registered, albeit not significant.

15. Chipeva, V., **Petrova, D.,** Geneva, M., Dimitrova, M., Moncheva, P., Kapchina-Toteva, V. **(2013).** Antimicrobial Activity of Extracts from *in vivo* and *in vitro* Propagated *Lamiun album* L. plants. *Afr. J. Tradit. Complement. Altern. Med.* 10(6), 559-562. ISSN: 0189-6016, 2505-0044. http://dx.doi.org/ 10.4314/ajtcam. v10i6.30. **IF$_{2013}$=0.560**, **SJR$_{2013}$=0.143 (Q3).**

Резюме

Направена е оценка на антимикробната активност на 18 различни екстракта от *in vivo* и *in vitro* растения *L. album* L. срещу клинични бактерии и дрожди, като се използва методът на дифузия в ямки. Всички екстракти демонстрират антибактериална активност, докато водните екстракти от листа (*in vivo*) притежават само противогъбична активност срещу *Candida albicans* NBIMCC 72 и *Candida glabrata* NBIMCC 8673 (14 и 20 mm диаметър на зоните на инхибиране и MIC 10 mg/ml, съответно). Метаноловите и етаноловите екстрактите получени от *in vitro* размножени растения имат по-широк спектър на антибактериална активност от тези на *in vivo* растенията, докато при хлороформените екстракти се наблюдава обратната тенденция. Всички тествани цветни екстракти притежават антимикробна активност. Хлороформеният екстракт от *in vivo* цвят демонстрира най-висока активност срещу *E. faecalis* NBIMCC 3915, *S. aureus* NBIMCC 3703, *P. hauseri* NBIMCC 1339 и *P. aeruginosa* NBIMCC 3700 (22 mm, 13 mm, 11 mm, 23 mm диаметър на зоната на инхибиране и съответно, MIC 0,313 mg/ml,). Водните екстракти от листа на *in vivo* и *in vitro* растения, притежават по-висока антибактериална активност от екстрактите от цвят. Получените резултати показват, че както *in vivo*, така и *in vitro* размножени *L. album* L. могат да се използват като източник на антибактериални вещества.

Abstract
The antimicrobial activity of 18 different extracts from *in vivo* and *in vitro* grown *L. album* L. plants was evaluated against clinical bacteria and yeasts using the well diffusion method. All the used extracts demonstrated antibacterial activity, whereas only the water extracts from leaves (*in vivo*) possessed antifungal activity against *Candida albicans* NBIMCC 72 *and Candida glabrata* NBIMCC 8673 (14 and 20 mm diameter of inhibition zones and MIC 10 mg/ml, respectively). The methanol and ethanol extracts obtained from the *in vitro* propagated plants had a broader spectrum of antibacterial activity than those from *in vivo* plants, while the opposite tendency was observed for the chloroform extracts. All tested flower extracts possessed antimicrobial activity. The chloroform extract from *in vivo* flowers demonstrated the highest activity against *E. faecalis* NBIMCC 3915, *S. aureus* NBIMCC 3703, *P. hauseri* NBIMCC 1339 and *P. aeruginosa* NBIMCC 3700 (22 mm, 13 mm, 11 mm, 23 mm zone diameter of inhibition and MIC 0.313 mg/ml, respectively). The water extracts from leaves (both *in vivo* and *in vitro*) possessed higher antibacterial activity than extract from flowers. The obtained results showed that both *in vivo* and *in vitro* propagated *L. album* L. could be used as a source of antibacterial substances.

16. Petrova, D., Chaneva, G., Stoimenova, E., Kapchina-Toteva, V. **(2012).** Effect of *Cucumber mosaic virus* on the Contents of Chlorophyll, Proline, the Degree of Lipid Peroxidation and Phenotypic Expression of Lines Pepper with Different Susceptibility to Virus. *Oxidation Communications*, 35(1), 182-189. ISSN: 0209-4541. **IF_{2012}=0.146, SJR_{2012}=0.158 (Q4)**.

Резюме
Инфекцията от вируса на краставичната мозайка (CMV) в растения пипер се характеризира с развитие на епинастия на листата, набръчкване и хлороза, свързани с изразени метаболитни промени. Появата на симптомите след инокулация с CMV е различна в изследваните резистентни (L113 и L57) и чувствителна (Okal) на CMV линии пипер. Установена е поява на некротични локални лезии и хлоротични петна върху инокулираните листа на линии L113 и L57, съответно. След това тези листа опадат. Върху инокулираните листа на чувствителната линия Okal не се наблюдават симптоми. Върху младите листа на Okal се появява типичната за системното разпространение на вируса мозайка. Изследвано е влиянието на CMV върху метаболитните промени в изследваните линии. Резултатите показват, че съдържанието на хлорофил *a, b* и каротеноиди, пролин, степента на липидна пероксидация и пропускливостта на мембраната са променени незначително в листата на устойчивите линии пипер, в сравнение с контролните растения. Има основание да се предположи, че резистентните линии пипер имат добре развити защитни механизми срещу вирусната инфекция.

Abstract
Cucumber mosaic virus (CMV) infection of pepper plants is characterised by the development of leaf epinasty, rugosity and chlorosis associated with marked metabolic changes. Symptom appearance after CMV inoculation was different for the investigated resistant (L 113 and L57) and susceptible (Okal) to CMV pepper lines. It was established appearance of necrotic local lesion and chlorotic pots on the inoculated leaves of L 113 and L57 lines, respectively. Next these leaves fell down. On the inoculated leaves of the susceptible line Okal were not observed symptoms. Typical mosaic symptoms for systemic virus spread appeared on the young Okal leaves. The influence of CMV on metabolic changes in the investigated lines was examined. Results showed that the contents of chlorophyll a, b and carotenoids, proline, the degree of lipid peroxidation and membrane permeability were altered insignificantly in the leaves of the

resistant pepper lines in comparison with control plants. There are reasons to suppose that the resistant pepper lines have good development defence mechanisms against virus infections.

17. Chaneva, G., Pilarski, P., **Petrova, D**. **(2011).** Changes of Proline Content in a Cyanobacterium Under Oxidative Stress. *Oxidation Communications*, 34(2), 439-445. ISSN: 0209-4541**. IF$_{2011}$=0.123, SJR$_{2011}$=0.204 (Q3)**.

Резюме

Изследвани са промените в съдържанието на свободен пролин в клетки на *Plectonema boryanum* след култивиране в условия, предизвикващи оксидативен стрес. Установено е, че излишъкът от светлина има по-изразен ефект върху натрупването на пролин, отколкото екстремните температури, прилагани индивидуално. Съдържанието на пролин се повишава до 58.1 µmol пролин g^{-1} сухо тегло, което е еквивалентно на 186% увеличение над контролния вариант, когато цианобактерията се отглежда при 300 µmol фотони m^{-2} s^{-1} интензитет на светлината и 14.5°C температура. Екстремно високата температура 44.5°C, съчетана с високо LED излъчване доведе до 162% повишаване на пролина, в сравнение с контролата. Хербицидът паракват (PQ), добре известен като индуктор на оксидативен стрес, предизвика най-значително повишаване на пролина в клетки *Pl. boryanum* -79.4 µmol пролин g^{-1} сухо тегло при 20 $\times 10^{-7}$ M PQ концентрация. Също така е изследвано добавянето на желязо, за да се разкрият някои ефекти на стреса. Дефицитът на Fe провокира незначително намаляване на пролина, докато излишъкът на желязо (сублетална концентрация от 188 mg Fe 1^{-1} в хранителна среда) повишава съдържанието на пролин до 66.2 µmol пролин g^{-1} сухо тегло.

Abstract

Changes of free proline content in *Plectonema boryanum* cells after cultivation at oxidative stress inducing conditions were studied. It was found that the excess of light had more pronounced affect on the proline accumulation than the extreme temperatures applied individually. Proline content increased up to 58.1 µmol proline g^{-1} dry weight, which was equivalent to 186% increase above the control variant, when the cyanobacterium was grown at 300 µmol photons m^{-2} s^{-1} light intensity and 14.5°C temperature. Extreme high temperature 44.5°C, combined with high irradiance led to 162% proline enhancement as compared to control. Herbicide paraquat (PQ), well known as an inductor of oxidative stress, caused most considerable increase of proline in *Pl. boryanum* cells -79.4 µmol proline g-^{1} dry weight at 20 $\times 10^{-7}$ M PQ concentration. Iron supply was also studied in order to reveal some stress effects. Fe-deficiency provoked insignificant decrease of proline while iron excess (sublethal concentration of 188 mg Fe 1-1 in nutrition medium) enhanced the proline content up to 66.2 µmol proline g-1 dry weight.

18. Chaneva, G., **Petrova, D**., Uzunova, A. **(2009).** Changes in Antioxidative Enzymes of a Cyanobacterium Grown Under Heavy Metal Stress. *Biotechnology and biotechnological equipment*, 23(sup1), 293-299. ISSN: 1310-2818, 314-3530. https://doi.org/10.1080/13102818.2009.10818485. **IF$_{2009}$=0.291**, **SJR$_{2009}$=0.135 (Q4)**.

Резюме

Проучен е ефектът на Cu и Cd йони върху цианобактерията *Plectonema boryanum* Gom. Растежната скорост на водорасловата биомаса е силно инхибирана от кадмий – понижена е с 50% при 200 µM $CdCl_2$, докато добавянето на мед в хранителната среда, предизвика само около 20% редуциране на растежа. В същата степен се наблюдава понижение в съдържанието на хлорофил *a*, след третиране с Cu и Cd - то е с 35% по-

ниско от контролните варианти. Каротеноидите останаха почти незасегнати след излагане на Cu, но Cd доведе до слабо намаление от 15%, в сравнение с контролата.
Силно увеличение в активностите на антиоксидантните ензими каталаза (CAT) и глутатион пероксидаза (GPER) се регистрира след нарастване на концентрацията на Cu - те достигнаха съответно 100% и 180% над контролата. Cd провокира 58% намаление на CAT активността и слабо повишаване на GPER, при концентрация 200 μM $CdCl_2$. Активността на глутатион редуктазата (GR) не е открита в клетки от водорасли на всички експериментални варианти.

Abstract
The effect of Cu and Cd ions on the cyanobacterium *Plectonema boryanum* Gom. was studied. Growth rate of algal biomass was strongly inhibited by cadmium – it was 50 % reduced at 200 μM $CdCl_2$, while copper added into the nutrition medium caused just about 20% reduce of growth. Chlorophyll *a* content decreased at the same extent after Cu and Cd treatment - it was 35% lower than the control variants. Carotenoids were almost unaffected after Cu exposure but Cd led to a slight decrease of 15% as compared to control.
The activities of antioxidative enzymes catalase (CAT) and glutathione peroxidase (GPER) were strongly increased following the increase of Cu concentration - they reached 100% and 180% above the control, respectively. Cd provoked 58% decrease of CAT activity and a slight enhancement of GPER at concentration 200 μM $CdCl_2$. Glutathione reductase (GR) activity was not detected in algal cells of the all experimental variants.

19. Petrova, D., Marinova, G., Chaneva, G., Kapchina-Toteva, V., Stoimenova, E. **(2009).** Local and Systemic Responses of Antioxidants to *Cucumber mosaic virus* Infection in Pepper Plants. *Biotechnology and biotechnological equipment,* 23(sup1), 516-518. ISSN: 1310-2818,1314-3530. https://doi.org/10.1080/13102818.2009.10818485. **IF_{2009}=0.291, SJR_{2009}=0.135 (Q4).**

Резюме
Изследвани са две линии (Okal и L57) *Capsicum annuum* с различна чувствителност към вируса на краставичната мозайка (CMV) и влиянието на патогенезата върху пероксидазната и каталазна активност, съдържанието на каротеноиди и появата на симптомите. Видими хлоротични петна върху инокулираните листа на резистентната линия 57 се появяват приблизително 17 дни след инфекцията с CMV. Инокулираните листа на чувствителната линия Okal останаха без симптоми. Наблюдава се повишаване на каротеноидното съдържание в Okal. Доказана е връзката между промените в активността на пероксидазата и каталазата в заразените растения и тяхната степен на чувствителност към CMV.

Abstract
Two lines (Okal and L57) of *Capsicum annuum* with different susceptibility to *Cucumber mosaic virus* (CMV) and influence of pathogenesis on peroxidase and catalase activities, carotenoid content and symptom appearance were investigated. Visible chlorotic spots on inoculated leaves of resistant line 57 appeared approximately 17d after CMV infection. The inoculated leaves of susceptible line Okal were symptomless. The increase of carotenoid content in Okal was observed. A relationship between changes of peroxidase and catalase activity in infected plants and their degree of susceptibility to CMV is evidence.

20. Petrova, D., Marinova, G., Stoimenova, E., Kapchina-Toteva, V. (**2008**). Influence of *Cucumber mosaic virus* on Some Physiological and Biochemical Indices of Resistant and Susceptible to Virus Pepper. *Oxidation Communications*, 31(3), 730-736. ISSN: 0209-4541**. IF$_{2008}$=0.228, SJR$_{2008}$=0.235 (Q3)**.

Резюме
Изследвани са две линии (L113 и Okal) *Capsicum annuum* с различна чувствителност към вируса на краставичната мозайка (CMV) и влиянието на патогенезата върху някои показатели. Заразяването на листа от *Capsicum annuum* с CMV предизвиква силно повишаване на пероксидазната активност и ниски MDA нива в резистентна линия 113, в сравнение с чувствителната Okal. Предизвиканата от CMV пероксидазна активност в L113, чрез нейното включване в процеса на лигнификация може да се разглежда като част от защитния механизъм на *Capsicum annuum* срещу вирусната инфекция. Увеличеното производство на водороден пероксид в заразените с патогена тъкани на L113 (на 3-ия ден след инокулацията (dpi) се обяснява с появата на свръхчувствителен отговор, който е бърза защитна реакция в растенията срещу патогени. От друга страна, ниската пероксидаза активност и високото ниво на липидна пероксидация в инокулирани и системни листа от чувствителната линия Okal са резултат от системното разпространение на вируса.

Abstract
Two lines (L113 and Okal) of *Capsicum annuum* with different susceptibility to cucumber mosaic virus (CMV) and influence of pathogenesis on some indices were studied. CMV infection of *Capsicum annuum* leaves provokes a strong increase in peroxidase activity and low MDA level of resistant line 113 comparison with susceptible line Okal. CMV elicitation of the peroxidase in L113 through its involvement in the lignification process might be considered as a part of the defence mechanism of *Capsicum annuum* against viral infection. The increased production of hydrogen peroxide in pathogen-infected tissues of L113 (at the 3rd day post inoculation (dpi) was explained with the appearance of hypersensitive response which is a rapid-defence response in plants against pathogens. On the other hand, low peroxidase activity and high level of lipid peroxidation in inoculated and systemic leaves of susceptible line Okal are results of the systemic spreading of virus.

21. Petrova, D., Derekova, A., Vlahov, S. **(2006).** Purification and Properties of Individual Collagenases from *Streptomyces* sp. strain 3B. *Folia Microbiologica*, 51 (2), 93-98, ISSN:1874-9356, 0015-5632. https://doi.org/10.1007/BF02932162. **IF$_{2006}$=0.963, SJR$_{2006}$=0.382 (Q2)**.

Резюме
Streptomyces щам 3B синтезира конститутивно колагенолитични ензими по време на пост-експоненциалната фаза на растеж. Описано е пречистване, водещо до две колагенази (I и II) със специфична активност, съответно 3350 и 3600 U/mg, най-високата активност, получена досега за стрептомицетна колагеназа. Анализът на пречистените ензими, по метода на зимографията разкри, че двата ензима I и II са хомогенни, с моларна маса, съответно 116 и 97 kDa. Двете колагенази са с идентично pH (7,5) и температурен оптимум на действие (37 ºC). Профилът на инхибиране на ензимите от EDTA и 1,10-фенантролин потвърждава, че тези ензими са металопротеинази. Чрез тестване на активността с неразтворим колаген, киселинно-разтворим колаген, желатин, казеин, еластин и Pz-PLGPR беше установено, че I и II са много специфични към неразтворимия колаген и желатин, показват висока активност спрямо киселинно-разтворимия колаген и Pz-PLGPR. Колагеназите I и II обаче, не успяха да хидролизират

казеина и еластина; те принадлежат към истинските колагенази и наподобяват клостридиалните ензими.

Abstract

Streptomyces strain 3B constitutively secreted collagenolytic enzymes during the post-exponential growth phase. Purification is described here leading to two collagenases (I and II) with specific activity of 3350 and 3600 U/mg, respectively, the highest activity obtained as yet for any streptomycete collagenase. Analysis of the purified enzymes by the method of zymography revealed that both I and II were homogeneous, with molar mass 116 and 97 kDa, respectively. Both collagenases were identical in their pH (7.5) and temperature optimum (37 degrees C). The inhibition profile of the enzymes by EDTA and 1,10-phenanthroline confirmed these enzymes to be metalloproteinases. By testing the activity with insoluble collagen, acid soluble collagen, gelatin, casein, elastin and Pz-PLGPR it was established that I and II are very specific for insoluble collagen and gelatin, showing a high activity toward acid soluble collagen and Pz-PLGPR. However, collagenases I and II failed to hydrolyze casein and elastin; they belong to true collagenases and resemble the clostridial enzymes.

22. Petrova, D., Angelova, P., Antonova-Nikolova, S. **(2003).** Study of Protease Complex from *Streptomyces* sp. 3B strain. *Biotechnology and biotechnological equipment*, 2 (17), 57-64. ISSN: 1310-2818, 1314-3530. https://doi.org/10.1080/13102818. 2001.10819108. **IF$_{2003}$=0.055**, **SJR$_{2003}$=0.202 (Q3)**.

Резюме

Изследван е екстрацелуларният протеолитичен комплекс от *Streptomyces* sp. 3B. Молекулната маса на протеазите, измерена чрез SDS електрофореза е около 20-30 kDa. Резултатът получен от HPLC хроматография потвърждава данните от SDS-PAGE анализа. Данните от зимограмата с казеин показват наличие на два различни белтъка. Част от ензимния комплекс има трипсиноподобна активност. Представените резултати от инхибиторния анализ сочат, че протеазният комплекс съдържа серинова- и метало-протеази. Анализът от изоелектричното фокусиране показа наличие на протеинови бандове с изоелектрични точки в алкалната (pI 8.45-8.15) и киселинната област (pI 4.55-5.85).

Abstract

The extracellular proteolytic complex from *Streptomyces* sp. 3B was studied. The molecular mass of the proteases measured by SDS electrophoresis was near 20-30 kDa. The result obtained from HPLC chromatography confirm the data from SDS-PAGE analysis. The data from zymogram with casein showed presence of two different proteins. A part of enzyme complex had a trypsin-like activity. The presented results from inhibitory analysis indicated that the protease complex was contained serine-and metallo-proteases. The analysis from isoelectric focusing showed presence of a protein bands with isoelectric points in alkaline (pI 8.45-8.15) and acid regions (pI 4.55-5.85).

Дата:
28.02.2025г.

Изготвил: Detelina Petrova
Digitally signed by Detelina Petrova
Date: 2025.03.06 11:07:37 +02'00'
/гл.ас. д-р Детелина Петрова/