

**PRODUCTIVITATEA ȘI COMPONENTA BIOCHIMICĂ A MICROALGEI VERZI  
DUNALIELLA SALINA  
LA CULTIVARE PE LICHID CULTURAL AL SPIRULINEI SUPLIMENTAT  
CU NaCl, IONI DE NO<sub>3</sub><sup>2-</sup> ȘI SO<sub>4</sub><sup>2-</sup>**

**Cezara BIVOL**

*Catedra Biologie Vegetală*

The study of productivity and biochemical properties of green microalga *Dunaliella salina* cultivated on the organic-mineral medium produced on the base of the cultural liquid from *Spirulina platensis*, supplemented with NaCl, NO<sub>3</sub><sup>-</sup> and SO<sub>4</sub><sup>2-</sup> ions are presented. The productivity is higher in the presence of the maximum concentration of NaCl-NO<sub>3</sub><sup>-</sup> and NaCl-SO<sub>4</sub><sup>2-</sup> associations. The highest biochemical content has been obtained for maximum investigated concentrations—0,5 g/l NaNO<sub>3</sub> and 0,75 g/l MgSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O. In the high concentrations NaCl can act as stimulating and inhibitory factor in dependence of concentrations of other ions.

### **Introducere**

Cianobacteriile și microalgele reprezintă importante obiecte de studiu ale microbiologiei, servind ca modele de descifrare a mecanismelor fotosintezei, azot-fixării, osmoreglării, a proceselor de epurare naturală a bazinelor acvatice etc. În acest context, ele prezintă interes ca reglatori ai proceselor respective, contribuind la realizarea tendințelor biotehnologiei contemporane, printre cele mai evidente fiind rezolvarea problemelor poluării globale și cele ale epuizării resurselor alimentare [1].

Datorită compoziției biochimice unice și flexibilității sporite a proceselor fiziologice, cianobacteria *Spirulina platensis* și microalga *Dunaliella salina* constituie surse valoroase de substanțe bioactive pe larg utilizate în diverse domenii ale microbiologiei industriale. Microalga verde *Dunaliella salina* este cunoscută, în special, datorită conținutului sporit de β-caroten și glicerol în componența sa. De asemenea, dunaliela este un organism halofil, fiind una dintre puținele organisme care poate supraviețui în concentrații înalte de săruri în mediul ambiant. Acest avantaj deseori este aplicat în încercările de cultivare a dunaliei pe ape reziduale cu un grad divers de mineralizare sau poluare.

În contextul celor expuse, prezintă interes creșterea microalgei *Dunaliella salina* pe lichidul cultural, rezultat în urma producerii biomasei cianobacteriei *Spirulina platensis*. Lichidul cultural conține importante substanțe minerale și organice eliberate în mediu în procesul activității vitale a spirulinei, care, la suplimentarea cu NaCl în concentrații de 30-120 g/l, satisfac necesitățile nutritive ale dunaliei și asigură creșterea ei normală [2].

Astfel, pentru a asigura o productivitate mai sporită și o compoziție biochimică mai înaltă, ne-am propus să suplimentăm lichidul cultural nu doar cu NaCl, dar și cu ioni de NO<sub>3</sub><sup>2-</sup> și SO<sub>4</sub><sup>2-</sup>, azotul și sulfurile fiind elemente absolut necesare proceselor de biosinteză a compușilor organici.

**Scopul** prezentei lucrări este studierea influenței diverselor concentrații de NaCl, NO<sub>3</sub><sup>2-</sup> și SO<sub>4</sub><sup>2-</sup> asupra productivității și componenței biochimice a dunaliei cultivate pe mediul organo-mineral, preparat în baza lichidului cultural al spirulinei.

### **Material și metode**

În calitate de obiect de cercetare a servit tulpina microalgei volvocoficee *Dunaliella salina* TEOD. CNM-AV-01 cultivată pe mediul organo-mineral preparat în baza lichidului cultural al cianobacteriei *Spirulina platensis* suplimentat cu NaCl în concentrație de 80 și 100 g/l, cu NaNO<sub>3</sub> și MgSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O în concentrații de 0,3 și 0,5 g/l și, respectiv, de 0,55 și 0,75 g/l. Valorile maxime ale concentrațiilor de săruri reprezintă conținutul optim de elemente din componența mediului nutritiv mineral Ben-Amotz [3,4].

Cultivarea s-a efectuat în retorte conice în volum de 100 ml la temperatura de 23-25°C, intensitatea luminii 4000 lucși, pH-ul mediului 9,5-10,0. Durata cultivării a fost 10 zile.

Productivitatea și compoziția biochimică a dunaliei a fost determinată conform metodelor descrise în [5].

### **Rezultate și discuții**

Optimizarea mediului nutritiv în scopul realizării la maximum a potențialului biosintetic al microorganismelor reprezintă un proces care poate fi efectuat prin mai multe metode și constă din câteva etape de planificare matematică și experimentală care se combină reciproc [6,7]. Pentru început s-a analizat experimental influența reciprocă a factorilor studiați și a concentrațiilor selectate asupra proceselor ce prezintă interes. Experiențele au fost planificate și efectuate conform codificării prezentate în Tabelul ce urmează.

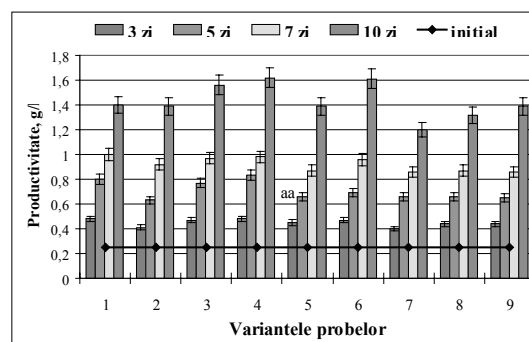
Tabel

## Planificarea experienței și codificarea probelor

Nr. d/o	Factorii	Nivelul concentrației (g/l)			Variantele experienței								
		Minim (-)	Maxim (+)	Mediu (±)	1	2	3	4	5	6	7	8	9
1	NaCl	80	100	90	-	+	-	+	-	+	-	+	±
2	NaNO <sub>3</sub>	0,3	0,5	0,4	-	-	+	+	-	-	+	+	±
3	MgSO <sub>4</sub> ·7H <sub>2</sub> O	0,55	0,75	0,65	-	-	-	-	+	+	+	+	±

Studiul interacțiunii reciproce a factorilor s-a efectuat pentru a estima adecvat gradul de influență a ionilor asupra productivității și componenței biochimice a dunaliei. Rolul ionilor de Na<sup>+</sup>, Cl<sup>-</sup>, NO<sub>3</sub><sup>2-</sup> și SO<sub>4</sub><sup>2-</sup> pentru activitatea vitală normală a microalgei *Dunaliella salina* este frecvent elucidat în bibliografia de specialitate [1,3]. Mediile nutritive tradiționale conțin elementele respective în concentrațiile optime pentru a asigura nu doar supraviețuirea dunaliei, dar și acumularea la maximum a substanțelor bioactive. Mediul mineral Ben-Amotz include elementele analizate în concentrații de (în g/l): NaCl – 120,0; NaNO<sub>3</sub> – 0,5; MgSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O – 0,75. În lichidul cultural al spirulinei, conform cercetărilor anterior efectuate, au fost depistate resturi ale ionilor respectivi neconsumați [8]. Ei se conțin, însă, într-o concentrație minimă. Astfel, a prezentat interes suplimentarea lichidului cultural cu elementele menționate în concentrații optime. Influența diverselor concentrații de NaCl, NO<sub>3</sub><sup>2-</sup> și SO<sub>4</sub><sup>2-</sup> asupra productivității dunaliei este prezentată în Figura 1.

Fig.1. Productivitatea microalgei verzi *Dunaliella salina* cultivată pe mediul organo-mineral optimizat.

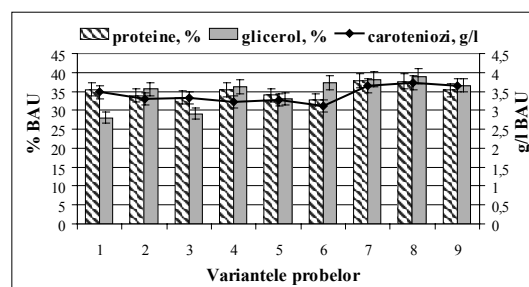


Analiza rezultatelor obținute a evidențiat valorile cele mai sporite ale productivității microalgei verzi *Dunaliella salina* pentru probele 4 și 6. Cantitatea de biomasă a crescut în cursul a 10 zile cu 648% pentru proba 4 și cu 644% pentru proba 6. Ambele variante ale probelor au fost cultivate în concentrațiile maxime cercetate de NaCl – 100 g/l. Și concentrațiile maxime ale ionilor NO<sub>3</sub><sup>2-</sup> și SO<sub>4</sub><sup>2-</sup> servesc în calitate de stimulatori ai productivității dunaliei. Proba 4 conține concentrația maximă de NO<sub>3</sub><sup>2-</sup>, iar proba 6 – concentrația maximă de ioni de SO<sub>4</sub><sup>2-</sup>. Influența reciprocă a conținutului maxim de elemente studiate are, însă, un efect inhibitor, productivitatea probei 8 constituind doar 528% față de biomasa inițial inoculată.

Compoziția biochimică a microalgei *Dunaliella salina* a fost analizată pentru cele mai valoroase componente organice: proteine, glicerol și carotenoizi. Influența diverselor raporturi ale concentrației ionilor de NaCl, NO<sub>3</sub><sup>2-</sup> și SO<sub>4</sub><sup>2-</sup> asupra potențialului biosintetic al dunaliei este prezentat în Figura 2.

Procesele de sinteză a componentelor proteice sunt direct dependente de cantitatea de elemente proteinogene în mediu, printre care o valoare primordială au ionii de NO<sub>3</sub><sup>2-</sup> și SO<sub>4</sub><sup>2-</sup>. Astfel, o cantitate sporită, în primul rând, de azot (NO<sub>3</sub><sup>2-</sup>) generează o cantitate sporită de proteine [9,10]. Analiza rezultatelor experimentale a demonstrat că cantitatea cea mai înaltă de proteine a fost acumulată în probele 7 și 8, suplimentate cu NO<sub>3</sub><sup>2-</sup> și SO<sub>4</sub><sup>2-</sup> în concentrații cu valorile maxime utilizate în cercetare. Conținutul de proteine din biomasa algală este cu 6,04-10,27 % mai înalt față de conținutul acestora în probele 1 și 2, unde concentrația ionilor de NO<sub>3</sub><sup>2-</sup> și SO<sub>4</sub><sup>2-</sup> introdusă a fost minimă. Concentrațiile studiate de NaCl nu manifestă acțiuni semnificative asupra procesului de acumulare a proteinei.

Fig.2. Compoziția biochimică a microalgei verzi *Dunaliella salina* cultivată pe mediul organo-mineral optimizat.



Studiul acumulării glicerolului a evidențiat, însă, o dependență directă de concentrația de NaCl în mediul de cultivare. Asemenea proteinelor, conținutul cel mai înalt de glicerol a fost înregistrat pentru probele 7 și 8, unde cantitatea de  $\text{NO}_3^{2-}$  și  $\text{SO}_4^{2-}$  suplimentată a fost maximă. Față de proba 1 cantitatea de glicerol sporește cu 26,53-27,98%. În comparație, însă, cu proba 2 cantitatea de glicerol este mai înaltă doar cu 6,81-8,65%. Proba 2 conține o cantitate maximă de NaCl (100g/l) față de proba 1 (80 g/l), ceea ce nemijlocit demonstrează influența stimuloare a concentrațiilor sporite de NaCl în procesele de biosinteză a glicerolului la cultivarea dunaliei pe mediul organo-mineral preparat în baza lichidului cultural rezidual al spirulinei.

Concentrațiile maxime studiate de  $\text{NO}_3^{2-}$  și  $\text{SO}_4^{2-}$  stimulează și procesele de sinteză a pigmentilor carotenoizi. Cantitatea de carotenoizi înregistrată pentru probele 7 și 8 este cu 5,08% mai înaltă față de proba 1 și cu 9,58-11,76% mai ridicată față de proba 2, unde NaCl a fost introdus în concentrația maximă analizată (100 g/l). Astfel, NaCl acționează ca un inhibitor al procesului de acumulare a carotenoizilor în cazul insuficienței ionilor de  $\text{NO}_3^{2-}$  și  $\text{SO}_4^{2-}$ .

Cercetările de analiză a acțiunii reciproce a ionilor de  $\text{Na}^+$ ,  $\text{Cl}^-$ ,  $\text{NO}_3^{2-}$  și  $\text{SO}_4^{2-}$  asupra productivității și componenței biochimice a microalgei verzi *Dunaliella salina* demonstrează eficacitatea utilizării lichidului cultural al spirulinei în calitate de mediu nutritiv nou. Rezultatele obținute la cultivarea dunaliei pe mediul organo-mineral preparat sunt adecvate, ele elucidând particularități de cultivare pe mediile minerale tradiționale [10,12].

### Concluzii

1. Productivitatea microalgei verzi *Dunaliella salina*, cultivată pe mediul organo-mineral preparat în baza lichidului cultural al spirulinei, înregistrează cele mai înalte valori în prezența concentrației maxime de NaCl – 100 g/l. Concentrațiile maxime de  $\text{NO}_3^{2-}$  și  $\text{SO}_4^{2-}$  introduse concomitent acționează ca inhibitori ai productivității.

2. Studiul componenței biochimice a dunaliei cultivate pe mediul organo-mineral optimizat a demonstrat o creștere considerabilă a conținutului de proteine în prezența concentrațiilor maxime ale ionilor de  $\text{NO}_3^{2-}$  și  $\text{SO}_4^{2-}$ , indiferent de concentrația NaCl. Cantitatea proteinelor a sporit cu 6,04-10,27%. Concentrațiile maxime de  $\text{NO}_3^{2-}$ ,  $\text{SO}_4^{2-}$  și NaCl au favorizat acumularea glicerolului cu 26,53-27,98% și a carotenoizilor cu 9,58-11,76% față de probele suplinite cu concentrații minime de elemente cercetate. În cazul concentrațiilor minime de  $\text{NO}_3^{2-}$  și  $\text{SO}_4^{2-}$ , clorura de natriu acționează ca un stimulator al biosintezei glicerolului, dar în calitate de inhibitor al sintezei pigmentilor carotenoizi.

### Referințe:

- Rudic V. Aspecte noi ale biotehnologiei moderne. - Chișinău: Știința, 1993, p.12-76.
- Bivol C. Aspecte biotehnologice de reutilizare a mediului de cultivare Zarrouk // International Conference of Young Researchers. Scientific Abstracts, IV Edition, 2006, p.69.
- Aharon Oren. A hundred years of *Dunaliella* research: 1905-2005 // Saline Systems. - 2005 1:2.-doi: 10.1186/1746-1448-1-2.
- Ben-Amotz A., Avron M. The biotechnology of cultivating the halotolerant alga *Dunaliella salina* // Trends Biotechnol. -1990. - Vol.8. - P.121-126.
- Rudic V., Gudumac V., Bulimaga V., Dencicov L., Ghelget V., Chiriac T. Metode de investigație în ficobiotehnologie. -Chișinău: CE USM, 2002, p.19-36.
- Доспехов Б.А. Методика полевого опыта. - Москва: Агропромиздат, 1985. - 351 с.
- Максимов В. Многофакторный эксперимент в биологии. - Москва: Издательство МГУ, 1980. -280 с.
- Bivol C., Rudic V. Productivitatea și componența biochimică a microalgei verzi *Dunaliella salina* la cultivare pe medii minerale și organo-minerale // Buletinul Academiei de Științe a Moldovei. Seria „Științele vieții”, 2008.
- Giordano M., Bowes G. Gas exchange and C allocation in *Dunaliella salina* cells in response to the N source and  $\text{CO}_2$  concentration used for growth // Plant Physiology. -1997. - Vol.115. - Issue 3. - P.1049-1056.
- Giordano M., Davis J.S., Bowes G. Organic carbon release by *Dunaliella salina* (*Chloophyta*) under different growth conditions of  $\text{CO}_2$ , nitrogen and salinity // Journal of Phycology. -1994. - Vol.30. - No 2. - P.249-257.
- Borowitzka M.A., Borowitzka L.J., Kessly D. Effect of Salinity increase on carotenoid accumulation in the green algae *Dunaliella salina* // Journal of Applied Phycology. -1990. - Vol. 5. - No 2. - P. 111-119.
- Gordillo F.J.L., Jiménez C., Figueroa F.L., Niell F.X. Influence of elevated  $\text{CO}_2$  and nitrogen supply on the carbon assimilation performance and cell composition of the unicellular algae *Dunaliella viridis* // Physiologia plantarum. - 2003. - No119 (4). - P.513-518.

Prezentat la 13.06.2008

## EVALUAREA NIVELULUI DE EXPRESIE A GENEI ȘOCULUI TERMIC (HSP70) LA GENOTIPURILE DE PORUMB CONTRASTE DUPĂ REZISTENȚA LA STRESUL SECETEI

**Dumitru BADICEAN**

*Institutul de Genetică și Fiziologie a Plantelor al AȘM*

There has been performed the evaluation of expression level of hsp70 gene for 5 maize genotypes, from germplasm collection of the Institute of Genetics and Plant Physiology of ASM, with different drought stress tolerance. We established that expression level of hsp70 gene depends of amplitude, duration of heat shock as well as of genotype resistance to stress. For medium resistant and sensitive genotypes this gene expression level was higher than for resistant genotypes owing to preexistence of hsp70 transcripts in normal conditions of development. These specific constructed primers for hsp70 gene could be used for early screening process, of maize genotypes for stress tolerance, in selection and amelioration programs.

### Introducere

Deoarece porumbul este o cultură cerealică de o importanță strategică la nivel global (ocupă locul trei după producere), cultivat atât în zonele temperate, cât și în cele aride, sporirea toleranței și rezistenței lui la stresul secetei are un impact economic enorm. Problema a devenit și mai stringentă în urma sporirii ratelor de utilizare a porumbului în producerea etanolului. Accentul se pune pe crearea unor genotipuri de porumb cu capacitatea de producere a unei recolte stabile sub diverse regimuri hidrice. Aceasta a devenit posibil datorită ingineriei toleranței plantelor de cultură la stresul secetei. Strategia de bază în ingineria toleranței la stresul secetei constă în inducerea genelor funcționale ce determină fenomenele de rezistență în genotipurile dorite. Ingineria genetică a genelor reglatoare-cheie, ce influențează un subset de gene în cazul stresului, reprezintă cea mai optimă strategie în crearea genotipurilor stres tolerante [1-5].

Din aceste considerente, evidențierea și descifrarea mecanismelor moleculare ce stau la baza rezistenței plantelor de cultură la stresul secetei rămâne o problemă foarte actuală.

În cercetările efectuate ne-am propus să evaluăm nivelul de expresie a genei șocul termic – hsp70 la unele genotipuri de porumb contraste după rezistența la stresul secetei, din colecția Institutului de Genetică și Fiziologie a Plantelor.

### Material și metode

Drept material de studiu au servit genotipurile de porumb (Zea Mays) din colecția Institutului de Genetică și Fiziologie a Plantelor, liniile: 1) MK01, 2) XL12, 3) 092 și hibridii 4) XL12xM1, 5) MK01xRF7. Plantulele de porumb au fost crescute în cutii Petri până la stadiul de 3 frunze. Stresul termic (cu o durată și intensitate diferită) a fost modelat în condiții de climocameră. Probele de RNA au fost izolate utilizând protocolul de izolare cu Trizol (Invitrogen) oferit de producător. Pentru efectuarea analizei RT-PCR semicantitative, întâi de toate s-a efectuat reverstranscripția pentru fiecare eșantion de RNA izolat și s-au obținut eșantioane de cDNA. Au fost utilizați primeri creați pe baza exonilor din gena șocului termic hsp70 [6], cu următoarea succesiune a nucleotidelor:



Componentele unei reacții de amplificare au fost: 10 ng/5 μl cADN, 0,2 μl primer, 299 μM dNTPs, 5 x soluție tampon (670 mM Tris HCl, pH 8,8; 67 mM MgCl<sub>2</sub>; 116 mM (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>; 0,1% Ten 20) și Taq-polimeraza din considerente 1U activitate enzimatică la 1 μg cADN într-un volum total de 30 μl.

Paralel s-a efectuat amplificarea tuturor probelor cu primerii pentru actină la porumb:



Amplificarea a fost efectuată la amplificatorul Ependorf Mastercycler 5330 sub următorul program termic:

√ 1 ciclu: denaturarea ADN-ului la +94°C timp de 4 min.;

√ 35 cicluri: - denaturarea ADN-ului la +94°C timp de 1 min.;

- alinierea primerului la +55°C timp de 1 min. (+60°C în cazul primerilor actin);

- elongarea la +72°C timp de 1 min.;

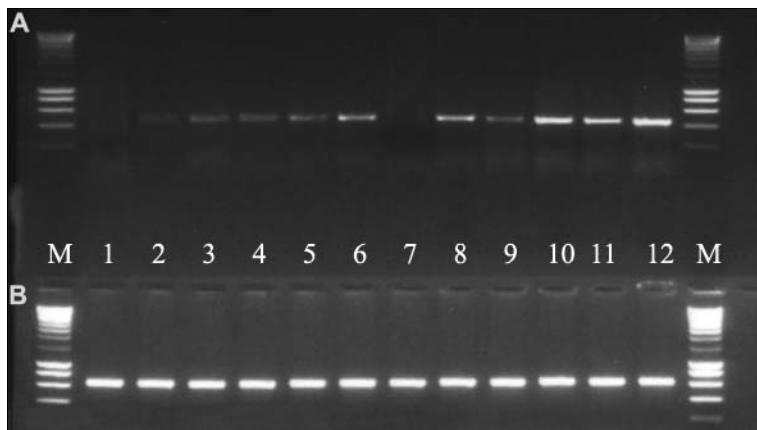
√ 1 ciclu: elongarea la +72°C timp de 7 min.

Electroforeza produselor de amplificare s-a efectuat în gel de agaroză 3% și soluție tampon TBE. Gelul a fost fotografiat la transiluminator UV cu ajutorul aparatului de fotografiat digital. Analiza nivelului de expresie a genei hsp70 a fost efectuată prin utilizarea softului specializat Quantity One.

### Rezultate și discuții

Proteinele șocului termic au un rol primordial în protecția macromoleculilor intracelulare de acțiunea radicalilor liberi și a speciilor reactive de oxigen ce apar în urma acțiunii stresului. Deoarece se cunoaște ca primii transcripti apar sub influența șocului termic peste aproximativ 15 min. și se acumulează în abundență peste 1-2 ore [7], am modelat două tipuri de stres termic: treptat și brusc, cu scopul evaluării efectului aclimatizării asupra abundenței acumulării transcriptiilor și a rezistenței la stres.

În urma analizei electroforetice a produselor obținute pe baza analizei RT-PCR semicantitative, a fost identificată o bandă cu dimensiunea de 450pb, la toate genotipurile analizate (Fig.1). Intensitatea ei diferă în dependență de timpul expunerii plantulei de porumb la stresul termic, de intensitatea stresului și de gradul de rezistență a genotipului la stres. Astfel încât primele 6 trecuri în imaginea A reprezintă rezultatul amplificării cu primerul hsp pe matricea cDNA a genotipului MK01, expus stresului termic de 34, 38, 42°C timp de 30 min. și de 42°C –1, 2 ore, respectiv. Acumularea transcriptiilor genei hsp70 are loc în mod gradual și doar în condiții de stres (transcriptul respectiv s-a acumulat sub nivelul de 5% în cazul martorului – plantule de porumb menținute în condiții termice optime), picul revenind stresului termic de lungă durată 42°C – 2ore (Fig.1, Tabelul).



**Fig.1.** Rezultatele analizei electroforetice a fragmentelor amplificate de DNA cu ajutorul praimerului hsp, construit pe baza genei hsp70 (A): 1) MK01–martor, 2) MK01 (34°C–30 min.), 3) MK01 (38°C–30 min.), 4) MK01 (42°C–30 min.), 5) MK01 (42°C–1 oră), 6) MK01 (42°C–2 ore), 7) MK01–martor, 8) XL12 (42°C–2 ore), 9) MK01 (42°C–2 ore), 10) 092 (42°C–2 ore), 11) XL12xM1 (42°C–2 ore), 12) MK01xRF7 (42°C–2 ore) și praimerul pentru actină (B) cu aceeași ordine a probelor. M – markerul greutății moleculare 10kb SmartLadder (Eurogentec).

Din aceste considerente, cinci genotipuri de porumb, cu o toleranță diferită la stresul secetei, din a doua parte a experiențelor noastre au fost supuse unui stres termic cu durata de 2 ore. Efectuând analiza semicantitativă a acumulării transcriptiilor genei hsp70 în condițiile modelate de stres termic (42°C–2 ore) am relevat acumularea lor maximală în cazul genotipului cu rezistență medie (MK01xRF7) în mărime de 68% față de martor (gena actinei, Fig.1,B). În cazul utilizării genotipurilor cu rezistență scăzută și nerezistente la stresul secetei (trecurile 8,11,10), transcriptul de interes s-a acumulat la un nivel relativ înalt: 37, 46 și 56% față de gena actinei, respectiv (Fig.1, Tabelul).

**Tabel**

**Evaluarea nivelului de expresie semicantitativă a genei hsp70**

Genotipul	Nivelul de rezistență la stresul secetei	Trecul, nr.	Similaritatea benzilor, %	Nivelul de expresie comparativă cu actina, %
MK01–martor	rezistent	1	100,00	2
MK01 (34°C–30 min.)		2	96,85	9
MK01 (38°C–30 min.)		3	92,55	19
MK01 (42°C–30 min.)		4	93,08	17
MK01 (42°C–1 oră)		5	91,92	20
MK01 (42°C–2 ore)		6	88,51	29
MK01–martor	rez. scăzută	7	99,32	4
XL12 (42°C–2 ore)		8	85,63	37
MK01 (42°C–2 ore)	rezistent	9	92,40	19
092 (42°C–2 ore)	nerezistent	10	79,20	56
XL12xM1 (42°C–2 ore)	rez. scăzută	11	82,44	46
MK01xRF7 (42°C–2 ore)	rez. medie	12	75,55	68

Cel mai scăzut nivel de acumulare a transcriptului genei hsp70 a avut loc în cazul genotipului rezistent la stres MK01 (19% față de gena martor – actina). Acest fapt poate fi explicat prin preexistența proteinelor șocului termic în condiții normale la genotipurile rezistente [8,9], în concentrații relativ suficiente pentru exercitarea funcțiilor de protecție. Din aceste considerente, inducerea sintezei noilor transcripti are loc mai târziu comparativ cu genotipurile nerezistente și mediu rezistente.

În concluzie putem menționa că acumularea transcripturilor genei hsp70 are loc gradual în dependență de mărimea stresului termic, de durata lui, de genotip și gradul său de toleranță față de stres. Pentru genotipurile nerezistente, cu o rezistență scăzută și cele mediu rezistente are loc o acumulare mai abundentă a transcripturilor genei hsp70 comparativ cu genotipurile rezistente. Praimerii elaborați pe baza secvenței genei hsp70 pot fi utilizați în screeningul genotipurilor de porumb pentru toleranță la stres, la primele etape de creștere și dezvoltare, în programele de selecție și ameliorare a acestei culturi.

#### Referințe:

1. Monks D., Aghoram K., Courney P., et al. Hyperosmotic stress induces the rapid phosphorylation of a soybean phosphatidylinositol transfer protein homolog through activation of the protein kinases SPK1 and SPK2 // *Plant Cell*, 2001, 13:1205-1219.
2. Li J., Wang X., Watson M., et al. Regulation of abscisic acid-induced stomatal closure and anion channels by guard cell AAPK kinase // *Science*, 2000, 287:300-303.
3. Li P.H., Davis D.W., Markhart A.H. Photosynthetic responses to heat stress in common bean genotypes differing in heat acclimation potentials // *Crop Sci.*, 1990, 30:100-104.
4. Umezawa T., et al. Engineering drought tolerance in plants: tailoring genes to unlock the future // *Current Opinion in Biotechnology*, 2006, 17:113-122.
5. Klueva N., Zhang J., Nguyen H.T. Molecular strategies for managing environmental stress.- In: Chopra V.L., Singh R.B., Varma A. *Crop Productivity and sustainability – shaping the future.* - New Delhi: Oxford & IBH Publishing Co. Pvt. Ltd, 1997, p.501-524.
6. Rochester E.D., Winer A.J., Shah M.D. Te structure and expression of maize genes encoding the major heat shock protein hsp70 // *The EMBO Journal.* -1986. -Vol.5. - No 3. - P.451-458.
7. Kimpel J.A., Nagao R.T., Goekjian V., Key J.L. Regulation of the heat shock response in soybean seedlings // *Plant Physiology*, 1990, 94: 988-995.
8. Riccardi F., Gazeau D., de Vienne D., Zivy M. Protein changes in response to progressive water deficit in maize: quantitative variations and identification // *Plant Physiology*, 1998, 117: 1253-1263.
9. Ristic Z., Gifford D.J., Cass D.D. Heat shock proteins in two lines of *Zea mays* L. that differ in drought and heat resistance // *Plant Physiology*, 1991, 97: 1430-1434.

*Prezentat la 03.07.2008*