

UTILIZAREA REACȚIEI DE POLIMERIZARE ÎN LANȚ ÎN TIMP REAL PENTRU DETECȚIA FUNGILOR PRODUCĂTORI DE MICOTOXINE ÎN TESCOVINA DE STRUGURI

Rodica Sturza¹, ORCID: 0000-0002-2412-5874
Valentin Mitin², ORCID: 0000-0001-9328-9672
Irina Mitina², ORCID: 0000-0002-1550-6739
Dan Zgardan^{1*}, ORCID: 0000-0002-1296-0864,
Emilia Behta¹ ORCID: 0000-0001-8519-9714

¹Universitatea Tehnică a Moldovei, bd. Ștefan cel Mare, 168, Chișinău, Republica Moldova

² Institutul de Genetică, Fiziologie și Protecție a Plantelor, st. Padurilor, 20, Chișinău, Republica Moldova

*Email: dan.zgardan@enl.utm.md

În procesul de vinificație se obțin cantități mari de deșeuri în urma prelucrării strugurilor cum ar fi ciorchinii, tescovinele, drojdia de vin etc. Tescovinele sunt bogate în substanțe minerale și substanțe biologice active. Astfel, la valorificarea tescovinelor se pot obține produse de valoare utilizate în industria cosmetică sau industria alimentară.

Unul din pericolele potențiale ale consumului de produse de origine vegetală este contaminarea lor cu micotoxine. Micotoxinele sunt metaboliți secundari ai fungilor filamentoși prezenți în mediul ambiant și produsele alimentare. În cazul produselor vitivinicole, micotoxina reglementată legal este *ochratoxina A* (OTA), dat fiind faptul că fungii capabili să producă această micotoxină sunt prezenți pe struguri. Prin urmare, este rezonabilă testarea tescovinelor la prezența ciupercilor producătoare de OTA, înainte de utilizarea ei în diferite scopuri.

În această lucrare s-a utilizat reacția de polimerizare în lanț în timp real (*real-time PCR*) pentru detecția potențialilor producători de OTA în tescovine. S-au proiectat primeri PCR pentru amplificarea unei secvențe de genă implicată în sinteza OTA (*OTA non-ribosomal peptide synthetase gene*), la genurile de fungi *Aspergillus* și *Penicillium*. Pentru PCR s-a folosit protocolul *SYBR Green real-time PCR*. Pentru extracția ADN-ului din tescovină s-au testat diferite protocole cu utilizarea *SDS*, *STAB*, *DNAzol*. S-a stabilit că protocolul optim de izolare a ADN-ului din tescovină este cel în care extracția se realizează cu *SDS*, urmată de tratarea cu PVPP și acetat de amoniu¹, protocol, care asigură cea mai bună calitate a ADN-ului. Pentru a confirma puritatea ADN-ului extras și a monitoriza cantitatea egală de ADN în toate reacțiile de PCR, s-au proiectat primeri pentru *Vitis vinifera 26S ribosomal RNA gene*. Așadar, ADN-ul din fiecare mostră a fost analizat în paralel folosind primeri specifici pentru 2 gene – *OTA non-ribosomal peptide synthetase gene* și *Vitis vinifera 26S ribosomal RNA gene*.

S-au analizat 8 mostre de tescovină din patru soiuri de struguri, colectată din diferite zone geografice ale RM și s-a stabilit că niciuna dintre ele nu sunt pozitive pentru prezența *OTA non-ribosomal peptide synthetase gene*, prin urmare microorganisme producătoare de *ochratoxina A* sunt absente, iar tescovină analizată nu este contaminată cu micotoxine și poate fi valorificată.

Cuvinte cheie: micotoxine, *ochratoxina A*, primeri PCR, *SYBR Green*, tescovină de struguri.

Mulțumiri. Autorii mulțumesc Proiectului 2SOFT/1.2/83 *Valorificare inteligentă a deșeurilor industriale agroalimentare*, finanțat de Uniunea Europeană, în cadrul programului Cooperare transfrontalieră România – Republica Moldova 2014-2020.

C. S. Kim, C. H. Lee, J. S. Shin, Y. S. Chung, N. I. Hyung, A Simple and Rapid Method for Isolation of High Quality Genomic DNA from Fruit Trees and Conifers Using PVP, *Nucleic Acids Research*, Volume 25, Issue 5, 1 March 1997, Pages 1085–1086, <https://doi.org/10.1093/nar/25.5.1085>