

**UNIVERSITATEA BABEȘ-BOLYAI  
FACULTATEA DE BIOLOGIE ȘI GEOLOGIE  
ȘCOALA DOCTORALĂ DE BIOLOGIE INTEGRATIVĂ**

# **TEZĂ DE DOCTORAT**

**Rezumat**

**Conducător științific:**

**Prof. Dr. Horia-Leonard BANCIU**

**Doctorand:**

**Doriana-Mădălina BUDA**

**Cluj-Napoca**

**2024**

**UNIVERSITATEA BABEȘ-BOLYAI  
FACULTATEA DE BIOLOGIE ȘI GEOLOGIE  
ȘCOALA DOCTORALĂ DE BIOLOGIE INTEGRATIVĂ**

## **TEZĂ DE DOCTORAT**

**Rezumat**

**Investigarea fiziologică și transcripțională a răspunsului la  
stresul indus de argint la membri extrem halofili din clasa  
*Halobacteria***

**Conducător științific:**

**Prof. Dr. Horia-Leonard BANCIU**

**Doctorand:**

**Doriana-Mădălina BUDA**

**Cluj-Napoca**

**2024**

## Cuprins

Schița tezei .....	4
Prefață .....	6
CAPITOLUL I.....	7
Introducere generală.....	7
1. Archaea halofile: adaptări, taxonomie, versatilitate metabolică.....	7
2. Adaptarea la stres la membri ai clasei <i>Halobacteria</i> .....	7
2.1. Stresul salin și factorii de stres legați de salinitate.....	8
2.2. Proteinele răspunsului la stres în haloarchaea.....	11
3. Răspunsul la metale grele în celulele procariote .....	14
3.1. Rolul exopolizaharidelor în formarea biofilmelor în prezența metalelor grele.....	16
3.2. Sechestrarea extracelulară a metalelor .....	17
3.3. Mecanisme de apărare a peretelui celular împotriva concentrațiilor ridicate de metale.....	18
3.4. Transportul metalelor grele la procariote .....	19
3.5. Reducerea metalelor mediată de enzime.....	20
3.6. Biometilarea ionilor metalici.....	21
3.7. Sechestrarea intracelulară a metalelor.....	21
3.8. Reglarea expresiei genice sub stresul metalic. ....	22
4. Răspunsul la stresul indus de argint în procariote .....	24
4.1. Sistemele genetice responsabile pentru toleranța la argint.....	25
4.2. Interacțiunea dintre argint și biofilme .....	26
4.3. Biosinteza nanoparticulelor de argint (AgNPs) .....	27
5. Bibliografie .....	30
SCOPUL TEZEI .....	46
CAPITOLUL II.....	47
Răspunsul fiziologic la toxicitatea argintului în archaeonul extrem halofil <i>Halomicrobium mukohataei</i> .....	47
1. Introducere.....	47
2. Materiale și metode.....	48
2.1. Tulpina studiată și condițiile de cultivare .....	48

2.2. Evaluarea concentrației minime inhibitorii (MIC).....	48
2.3. Pregătirea probelor pentru evaluarea stresului oxidativ .....	48
2.4. Evaluarea peroxidării lipidelor prin cuantificarea malondialdehidei .....	49
2.5. Determinarea activității catalazei .....	49
2.6. Măsurarea capacității antioxidante totale .....	49
2.7. Separarea și purificarea nanoparticulelor de argint biosintetizate.....	49
2.8. Microscopie cu câmp luminos și microscopia electronică de transmisie (TEM) .....	50
2.9. Microscopie electronică cu scanare cuplată cu analiză spectroscopică cu dispersie de energie (SEM/EDS) .....	50
2.10. Dispersia dinamică a luminii și măsurarea potențialului zeta .....	50
2.11. Analiza statistică .....	50
3. Rezultate .....	51
3.1. Evaluarea concentrației minime inhibitorii .....	51
3.2. Determinarea malondialdehidei, activității catalazei și măsurarea capacității antioxidante totale.....	51
3.3. Biosinteza nanoparticulelelor de argint.....	52
4. Discuții.....	54
5. Concluzii.....	56
6. Mulțumiri .....	57
7. Bibliografie .....	57
Capitolul III.....	61
Răspunsul transcriptomic la nivelul întregului genom la stresul indus de argint în archaeonul extrem halofil <i>Haloferax alexandrinus</i> DSM 27206 <sup>T</sup> .....	61
1. Introducere .....	61
2. Materiale și metode.....	62
2.1. Tulpina studiată și condițiile de cultivare .....	62
2.2. Microscopie electronică cu scanare cuplată cu analiză spectroscopică cu dispersie de energie (SEM- EDS).....	63
2.3. Secvențierea genomului .....	63
2.4. Extracția ARN .....	64
2.5. Analiza RNA-Seq.....	64
2.6. Validarea rezultatelor RNA-Seq prin RT-qPCR.....	65
3. Rezultate și discuții.....	65
3.1. Efectul diferitelor concentrații de argint asupra creșterii celulelor de <i>Haloferax alexandrinus</i> .....	65
3.2. Caracteristicile genomului <i>Haloferax alexandrinus</i> DSM 27206 <sup>T</sup> .....	67
3.3. Prezentare generală a caracteristicilor transcriptomului în celulele expuse la argint.....	67

3.4. Transportori de metale și gene legate de metale.....	72
3.5. Stres oxidativ și metabolism energetic.....	74
3.6. Metabolismul de bază.....	75
3.7. Mobilitatea .....	77
3.8. Proteine care leagă ADN-ul .....	77
3.9. Componente structurale celulare.....	78
3.10. Semnalizare celulară .....	78
3.11. Evaluarea RT-qPCR.....	79
4. Concluzii.....	88
5. Disponibilitatea datelor și a materialelor.....	88
6. Mulțumiri.....	89
7. Bibliografie.....	89
CAPITOLUL IV .....	97
Concluzii generale și originalitatea rezultatelor .....	97
IV.1. Concluzii generale.....	97
IV.2. Originalitatea și noutatea rezultatelor.....	98
IV.3. Perspective.....	98
ANEXE CAPITOLUL II .....	100
ANEXE CAPITOLUL III.....	102
LISTA PUBLICAȚIILOR INCLUSE ÎN TEZĂ SUB FORMĂ DE CAPITOLE .....	104
LISTA PUBLICAȚIILOR NEINCLUSE ÎN TEZĂ .....	104
PARTICIPĂRI LA CONFERINȚELE INTERNAȚIONALE.....	105
PROGRAME DE FORMARE.....	106
IMPLICARE ÎN PROIECTE DE CERCETARE CA MEMBRU AL ECHIPEI.....	106
MULȚUMIRI .....	107

### **Cuvinte cheie:**

Bioremediere, *Halobacteria*, nanoparticule de argint, rezistență la argint, răspuns la stres, stres oxidativ, toleranță la metale grele, transcriptomică.

## Rezumat:

### Capitolul I. Introducere generală

Halofilele sunt organisme care prosperă la concentrații ridicate de sare, cu archaea halofile din clasa *Halobacteria*, cunoscute sub termenul de haloarchaea, dominând mediile cu concentrații de sare de peste 16%. Acestea prezintă pigmentație roșu-portocalie, morfologie variată și capacități metabolice diverse, incluzând respirație aerobă, heterotrofă, anaerobă și fermentativă. Organismele haloarchaea produc rodopsine cu diverse funcții, în timp ce unele se angajează în respirație sulfurică. Ele posedă vezicule de gaz pentru captarea oxigenului și a luminii, stochează nutrienți sub formă de polihidroxicanoați și dețin molecule de ADN precum megaplasmide și plasmide mici ce codifică caracteristici esențiale (Andrei *et al.*, 2012). Taxonomia organismelor haloarchaea a fost recent clasificată în trei ordine și șase familii (Oren, 2019).

Extremofilele, organisme care se dezvoltă în medii extreme și ostile pentru oameni, reprezintă surse prețioase pentru cercetarea adaptării la condiții de mediu variabile, aducând perspective inovatoare în domeniul aplicațiilor biotehnologice și în studiile astrobiologice. Aceste organisme se confruntă cu diverși factori de stres, inclusiv fluctuații ale concentrației de sare, variații de pH și nivele ridicate de radiații. Pentru a supraviețui, ele utilizează mecanisme precum strategiile de osmoreglare "sare înăuntru" și "sare înafară", adaptările membranare și modularea expresiei genelor de răspuns la stres. Extremofilele utilizează, de asemenea, adaptări specifice pentru a contracara lipsa de oxigen și iradierea intensă, inclusiv veziculele de gaz pentru accesul la oxigen, mecanismele fotoprotective bazate pe carotenoizi și sistemele de reparare a ADN-ului (Saini *et al.*, 2023).

Proteinele de stres joacă un rol crucial în asigurarea supraviețuirii organismelor de haloarchaea în medii dificile. Acestea cuprind proteasomul, care se ocupă de descompunerea specifică a proteinelor, proteinele de șoc termic, care previn plierea incorectă a proteinelor, și proteinele universale de stres, care îndeplinesc diverse funcții în celulă. Factorii de transcriere reglează exprimarea genelor ca răspuns la stresori specifici. Strategiile unice precum schimbările morfologice și secreția de halomucine susțin răspunsul la stres. Deși mecanismul prin care acționează rămâne în mare parte neînțeles, aceste proteine sunt esențiale în consolidarea rezistenței microorganismelor haloarchaea (Matarredona *et al.*, 2020; Llorca și Martínez-Espinosa, 2022).

Răspunsul celulelor procariote la metalele grele implică o interacțiune complexă a diferitelor mecanisme pentru a contracara efectele lor toxice. Metalele grele au funcții duble: benefice la concentrații mici pentru metabolismul microbial, devin toxice la concentrații mari, afectând structurile și procesele celulare. Microorganismele utilizează strategii diverse pentru detoxifiere, inclusiv producerea de exopolizaharide, formarea de biofilme și sechestrarea metalelor în interiorul și în afara celulei (Voica *et al.*, 2016). Aceste mecanisme implică substanțe chelatoare, dar și procese de reducere enzimatică. Procariontele folosesc diverși transportori pentru a exporta metalele excedentare și

utilizează molecule precum metalotioneinele pentru sechestrarea intracelulară, asigurând homeostazia metalelor. Aceste mecanisme adaptative permit celulelor procariote să supraviețuiască în medii contaminate cu metale grele, subliniind importanța înțelegerii capacităților microorganismelor în procesul de bioremediere și evidențiind necesitatea unor abordări inovatoare pentru a gestiona impactul ecologic și de sănătate al contaminării cu metale grele (Pal *et al.*, 2022).

Proprietățile antimicrobiene ale argintului s-au dovedit a fi o resursă valoroasă în lupta împotriva rezistenței la antibiotice, deschizând o cale promițătoare prin utilizarea nanoparticulelor de argint (AgNPs). Nanoparticulele demonstrează eficiență în combaterea microorganismelor, fiind sigure pentru gazde și având capacitatea de a elibera în mod treptat ioni de argint. Argintul perturbă procesele celulare esențiale prin țintirea membranelor celulare și a grupărilor tiol din structura proteinelor celulare. Microorganismele au dezvoltat mecanisme de toleranță la argint, inclusiv sechestrarea extracelulară și pompele de eflux, în timp ce unele bacterii utilizează agenți detoxifianți precum piocianina. În biofilme, argintul interacționează cu substanțele extracelulare, modificându-și toxicitatea. Biosinteza nanoparticulelor de argint implică compuși celulari sau nitrat reductaze, iar microorganismele de tipul haloarchaea sunt preferate pentru acest proces datorită structurii lor celulare unice (Terzioğlu *et al.*, 2022; Mabey *et al.*, 2019).

## Scopul lucrării

Utilizarea extinsă a argintului în diverse domenii a generat preocupări cu privire la posibila acumulare a acestuia în mediul înconjurător (Pereira *et al.*, 2013). Atunci când sunt prezente în concentrații ridicate, metalele pot compromite integritatea celulară, determinând activarea mecanismelor de supraviețuire. Chiar dacă primele investigații privind toleranța la argint în procariote s-au concentrat pe funcția compușilor obișnuiți în protejarea mediului celular, nu s-au analizat în detaliu mecanismele specifice de toleranță pentru fiecare specie (Voica *et al.*, 2016). Componentele cheie ale răspunsului la metale grele includ transportorii de tip casete care leagă ATP-ul (ABC) și ATPazele de tip P. Procariotele reacționează la metale prin supraexprimarea compușilor tiolici, cruciali pentru menținerea unui mediu intracelular redus. Enzimele precum nitrat reductaza pot converti ioni de argint toxici în forme non-toxice (Kaur *et al.*, 2006). O înțelegere riguroasă a interacțiunilor dintre metale și archaea halofile este imperativă pentru elaborarea strategiilor de atenuare a poluării cu metale în habitatele saline. În ansamblu, elucidarea bazei moleculare a toleranței la metale în haloarchaea necesită abordări interdisciplinare care integrează genomica, biologia moleculară și bioinformatica.

**Scopul principal al acestei teze de doctorat a fost de a explora mecanismele moleculare și fiziologice care stau la baza toleranței la metale grele în reprezentanți ai archaea halofile din clasa *Halobacteria*.**

Pentru a îndeplini obiectivul principal al tezei, am definit două obiective specifice:

1. Să evaluăm din punct de vedere fiziologic tulpini de haloarchaea rezistente la argint capabile să producă nanoparticule de argint, efectuând în același timp analize chimice și fizice pentru a caracteriza nanoparticulele de argint biosintetizate (**Capitolul II**).
2. Să identificăm modelele de exprimare a genelor induse de expunerea la ioni de argint, folosind tehnici transcriptomice (**Capitolul III**).

## **Capitolul II. Răspunsul fiziologic la toxicitatea argintului în archaeonul extrem halofil *Halomicrobium mukohataei***

Strategiile adaptative responsabile de toleranța la metale grele au fost explorate la archaeonul extrem halofil *Halomicrobium (Hmc.) mukohataei* DSM 12286<sup>T</sup>. Tulpina testată depășește stresul oxidativ indus de argint (evaluat prin cuantificarea malondialdehidei, testul catalazei și măsurarea capacității antioxidante totale), în principal prin antioxidanți non-enzimatici. Analiza spectroscopică cu dispersie de energie a razelor X a ilustrat prezența argintului coloidal în culturile de *Hmc. mukohataei* expuse la AgNO<sub>3</sub>. Imaginile microscopiei în câmp luminos și electronice de transmisie, precum și analiza dispersiei dinamice a luminii, au demonstrat prezența nanoparticulelor intracelulare, în principal sferice, într-un interval de dimensiuni de la 20 la 100 nm. Conform măsurătorii potențialului zeta, nanoparticulele biosintetizate au fost stabile, cu o încărcare negativă la suprafață.

Cercetarea noastră reprezintă o primă abordare sistematică în studiul stresului oxidativ și acumulării intracelulare de nanoparticule de argint. Acest studiu este realizat prin expunerea la ioni de argint a membri ai clasei *Halobacteria*, extinzându-ne astfel cunoștințele despre mecanismele care susțin toleranța la metale grele în celulele microbiene care trăiesc în medii saline.

## **Capitolul III. Răspunsul transcripțional la nivelul întregului genom la stresul indus de argint în archaeonul extrem halofil *Haloferax alexandrinus* DSM 27206<sup>T</sup>**

Archaeonul extrem halofil *Haloferax (Hfx.) alexandrinus* DSM 27206<sup>T</sup> a fost anterior documentat pentru capacitatea de a biosintetiza nanoparticule de argint, în timp ce mecanismele care stau la baza toleranței sale la argint au rămas necunoscute. În studiul actual, ne-am propus să evaluăm răspunsul transcripțional al acestui haloarcheon la concentrații variabile de argint, căutând o înțelegere cuprinzătoare a componentelor moleculare care stau la baza toleranței sale la metalele grele.

Curbele de creștere au confirmat capacitatea lui *Hfx. alexandrinus* de a depăși stresul provocat de argint, în timp ce analiza SEM-EDS a ilustrat prezența nanoparticulelor de argint în culturile expuse la 0,5 mM de nitrat de argint. Analiza transcripțională bazată pe RNA-Seq a celulelor *Hfx. alexandrinus* expuse la 0,1, 0,25 și 0,5 mM de nitrat de argint a relevat expresia diferențiată a mai multor seturi de



gene potențial implicate în răspunsul la stresul cauzat de metalele grele, gene în principal legate de transportorii de metale, metabolismul de bază, răspunsul la stresul oxidativ și mobilitatea celulară. Analiza RT-qPCR a transcripturilor selectate a fost efectuată pentru a verifica și valida datele generate de RNA-Seq. Rezultatele noastre au indicat că gena *copA*, care codifică ATP-aza cu specificitate pentru cupru, este esențială pentru supraviețuirea celulelor *Hfx. alexandrinus* în medii saline conținând argint. Culturile expuse la argint au suferit mai multe ajustări metabolice care au permis activarea enzimelor implicate în răspunsul la stresul oxidativ și alterarea motilității celulare. Din câte cunoaștem, această cercetare reprezintă prima analiză cuprinzătoare a expresiei genice la archaea halofile care sunt expuse la niveluri crescute de metale grele.

## Capitolul IV. Concluzii generale și originalitatea rezultatelor

### IV.1. Concluzii generale

Contaminarea ecosistemelor saline cu ioni metalici cauzată de urbanizare și dezvoltarea industrială constituie o problemă majoră atât din perspectivă ecologică, cât și din punct de vedere al sănătății. Cu scopul de a contribui la rezolvarea acestei probleme, s-au cercetat mecanismele de adaptare ale organismelor haloarchaea care au capacitatea de a produce nanoparticule de argint. Această teză de doctorat și-a propus să evalueze răspunsul fiziologic al tulpinii rezistente la argint, *Halomicrobium mukohataei* DSM 12286<sup>T</sup>, și să identifice modelele de exprimare a genelor declanșate de expunerea la ioni de argint în tulpina *Haloferax alexandrinus* DSM 27206<sup>T</sup>.

Studiul a investigat capacitatea haloarchaeonului *Halomicrobium mukohataei* DSM 12286<sup>T</sup> de a gestiona concentrațiile crescute de Ag<sup>+</sup>. Antioxidanții non-enzimatici au diminuat efectul stresului oxidativ indus de argint. Celulele *Halomicrobium mukohataei* expuse la AgNO<sub>3</sub> au produs nanoparticule de argint coloidal cu formă sferică și dimensiuni cuprinse între 20 și 100 nm. Analiza potențialului zeta a relevat o stabilitate puternică și o încărcare negativă a suprafeței nanoparticulelor (**Capitolul II**).

În plus, a fost analizat transcriptomul celulelor *Haloferax alexandrinus* DSM 27206<sup>T</sup> expuse la diferite concentrații de argint, dezvăluind modele distincte de exprimare a genelor legate de stresul provocat de metale grele. Răspunsul a implicat modificări în exprimarea genelor legate de transportul metalelor, procesele metabolice fundamentale, combaterea stresului oxidativ și facilitarea mișcării celulare. ATP-aza cu specificitate pentru cupru, CopA, a fost identificată ca un element cheie în reglarea mișcării ionilor metalici în celule. *Haloferax alexandrinus* s-a adaptat la prezența argintului prin ajustarea metabolismului, realocarea eficientă a resurselor și activarea mecanismelor de răspuns la stres (**Capitolul III**).

În ansamblu, studiul a examinat modul în care tulpinile de archaea halofile care manifestă toleranță la niveluri ridicate de ioni de argint se adaptează pentru a supraviețui stresului cauzat de

metalele grele. Prin analize fiziologice și genetice, studiul dezvăluie mecanismele fiziologice, biochimice și genetice care stau la baza răspunsului la stresul de argint în haloarchaea. Aceste date oferă noi perspective asupra mecanismelor lor de toleranță și pune bazele pentru eforturile viitoare de bioremediere în medii contaminate cu argint.

## IV.2. Originalitatea rezultatelor

Teza introduce descoperiri originale în cercetarea microorganismelor din clasa *Halobacteria*. În primul rând, fără precedent în literatura existentă, explorează modul în care *Halomicrobium mukohataei* DSM 12286<sup>T</sup>, un membru al clasei *Halobacteria*, contracarează stresul oxidativ indus de argint prin supraexprimarea antioxidanților non-enzimatici, dezvăluind astfel mecanismele de răspuns la stres în aceste microorganisme. În al doilea rând, documentează prima instanță de biosinteză a nanoparticulelor de argint în cadrul *Halomicrobium mukohataei*, extinzând astfel înțelegerea noastră asupra răspunsului dat de *Halobacteria* la stresul indus de argint (**Capitolul II**).

Mai mult, acest studiu prezintă prima examinare detaliată a profilului transcripțional al microorganismelor de haloarchaea în răspuns la concentrații ridicate de metale grele. În mod specific, rezultatele noastre fără precedent au relevat că supraviețuirea tulpinii *Haloferax alexandrinus* în medii sărate bogate în argint depinde de prezența ATPazei cu specificitate pentru cupru codate de gena *copA*. Prin analiza RNA-seq, am descoperit în premieră în literatura cunoscută activarea enzimelor antioxidante și reglarea negativă a genelor implicate în mobilitatea celulară în *Haloferax alexandrinus* expus la niveluri crescute de ioni de argint. Aceste constatări îmbunătățesc semnificativ înțelegerea mecanismelor adaptive utilizate de archaea halofile pentru a rezista la stresul crescut cauzat de metalele grele (**Capitolul III**).

## IV.3. Perspective

Investigațiile viitoare în acest domeniu de cercetare ar putea elucida controlul genetic al sintezei de nanoparticule de argint în *Halomicrobium mukohataei* și *Haloferax alexandrinus*, dezvăluind mecanismele moleculare și posibilele aplicații în contexte biomedicale și de bioremediere. Analizele genomice comparative între speciile de haloarchaea ar putea releva tactici adaptative comune și distinctive ca răspuns la stresul provocat de metale grele. Această inițiativă ar putea implica evaluarea prezenței, diversității, distribuției și rolurilor genelor implicate în transportul metalelor, căile de detoxificare și mecanismele de răspuns la stres în diverse specii de haloarchaea. În plus, extinderea analizelor transcriptomice pentru a acoperi o varietate extinsă de condiții de mediu, împreună cu niveluri crescute de metale grele, ar putea îmbunătăți înțelegerea despre modul în care microorganismele archaea halofile răspund adaptativ la diferiți factori de stres din mediu, inclusiv cei generați de activitatea umană. Astfel, devine esențial să se examineze modelele de expresie genetică în diverse concentrații și tipuri de metale grele, în paralel cu investigarea interacțiunii dintre stresul cauzat de metalele grele și alte componente ale mediului. De asemenea, analizarea potențialului de modificare

genetică sau inginerie a tulpinilor de haloarchaea pentru a îmbunătăți toleranța și eficacitatea lor în procesele de bioremediere a metalelor grele ar putea constitui un domeniu promițător pentru cercetările viitoare. Această activitate ar putea implica cercetarea tehnicilor de editare genetică pentru a modifica genele esențiale implicate în mecanismele de toleranță la metale grele și evaluarea consecințelor acestor modificări asupra viabilității și creșterii tulpinilor în medii contaminate. În final, investigarea posibilelor aplicații ale nanoparticulelor de argint în domeniile bioremedierii sau biomedicale ar putea furniza instrumente valoroase.

## Diseminarea rezultatelor

### Lista publicațiilor incluse în teză sub formă de capitole

#### Capitolul II

**Buda, D.M.**, Bulzu, P.A., Barbu-Tudoran, L., Porfire, A., Pătraș, L., Sesărman, A., Tripon, S., Șenilă, M., Ionescu, M.I., Banciu, H.L., 2019. Physiological response to silver toxicity in the extremely halophilic archaeon *Halomicrobium mukohataei*. *FEMS Microbiol Lett*, 366(18), p.fnz231. <https://doi.org/10.1093/femsle/fnz231>

#### Capitolul III

**Buda, D.M.**, Szekeres, E., Tudoran, L.B., Esclapez, J., Banciu, H.L., 2023. Genome-wide transcriptional response to silver stress in extremely halophilic archaeon *Haloferax alexandrinus* DSM 27206<sup>T</sup>. *BMC Microbiol*, 23(1), p.381. <https://doi.org/10.1186/s12866-023-03133-z>

### Lista publicațiilor neincluse în teză

1. **Buda, D.M.**, Bulzu P.-A., Cristea, A., Banciu, H.L. (2019) The saline aquatic systems as ‘natural reservoirs’ for microorganisms with current and potential applications. *Aerul Apa Compon Mediu*, ISSN 2067-743X. pp. 427-434. [http://doi.org/10.24193/AWC2019\\_42](http://doi.org/10.24193/AWC2019_42).
2. Bulzu, P.-A., Cristea, A., **Buda, D.M.**, Banciu, H.L. (2019) Asgardarchaeota – a novel prokaryotic group discovered in aquatic sediments that might shed light on the origin and early evolution of Eukaryotes. *Aerul Apa Compon Mediu*, ISSN 2067-743X. pp. 435-446. [http://doi.org/10.24193/AWC2019\\_43](http://doi.org/10.24193/AWC2019_43).
3. Drugă, B., **Buda, D. M.**, Szekeres, E., Chiș, C., Chiș, I., Sicora, C. (2019). The impact of cation concentration on *Microcystis* (cyanobacteria) scum formation. *Sci Rep*, 9(1), 3017. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-39619-y>.
4. Baricz, A., Levei, E. A., Șenilă, M., Pînzaru, S. C., Aluaș, M., Vulpoi, A., Filip, C., Tripon, C., Dădărlat, D., **Buda, D.M.** Dulf, F.V., Banciu, H. L. (2021). Comprehensive mineralogical and

physicochemical characterization of recent sapropels from Romanian saline lakes for potential use in pelotherapy. *Sci Rep*, 11(1), 18633. <https://doi.org/10.1038/s41598-021-97904-1>.

5. Şuteu, A.M., Momeu, L., Battes, K.P., Baricz, A., Cristea, A., Bulzu, P.A., **Buda, D.M.**, Banciu, H.L., Cîmpean, M. (2021). Diversity and distribution of phototrophic primary producers in saline lakes from Transylvania, Romania. *Plant Syst Evol*, 307(1), 12. <https://doi.org/10.1007/s00606-020-01733-0>.

## Bibliografie selectivă

- Andrei AŞ, Banciu HL, Oren A. Living with salt: metabolic and phylogenetic diversity of archaea inhabiting saline ecosystems. *FEMS Microbiol Lett*. 2012;330(1):1-9.
- Kaur A, Pan M, Meislin M, Facciotti MT, El-Gewely R, Baliga NS. A systems view of haloarchaeal strategies to withstand stress from transition metals. *Genome Res*. 2006;16(7):841-54.
- Llorca MG, Martínez-Espinosa RM. Assessment of *Haloferax mediterranei* genome in search of copper-molecular machinery with potential applications for bioremediation. *Front Microbiol*. 2022;13:895296.
- Mabey T, Cristaldi DA, Oyston P, Lymer KP, Stulz E, Wilks S, Keevil C, Zhang X. Bacteria and nanosilver: the quest for optimal production. *Crit Rev Biotechnol*. 2019;39(2):272-87.
- Matarredona L, Camacho M, Zafrilla B, Bonete MJ, Esclapez J. The role of stress proteins in haloarchaea and their adaptive response to environmental shifts. *Biomolecules*. 2020;10(10):1390.
- Oren A. Halophilic Archaea. In: *Encyclopedia of Microbiology* (Fourth Edition). Elsevier; 2019. pp. 495-503.
- Pal A, Bhattacharjee S, Saha J, Sarkar M, Mandal P. Bacterial survival strategies and responses under heavy metal stress: A comprehensive overview. *Cri Rev Microbiol*. 2022;48(3):327-55.
- Pereira F, Kerkar S, Krishnan KP. Bacterial response to dynamic metal concentrations in the surface sediments of a solar saltern (Goa, India). *Environ Monit Assess*. 2013;185:3625-36.
- Saini A, Kumar A, Singh G, Giri SK. Survival strategies and stress adaptations in halophilic archaeobacteria. In: *Microbial Stress Response: Mechanisms and Data Science 2023* (pp. 1-21). ACS; 2023.
- Terzioğlu E, Arslan M, Balaban BG, Çakar ZP. Microbial silver resistance mechanisms: Recent developments. *World J Microbiol Biotechnol*. 2022;38(9):158.
- Voica DM, Bartha L, Banciu HL, Oren A. Heavy metal resistance in halophilic Bacteria and Archaea. *FEMS Microbiol Lett*. 2016;363(14):fnw146.