

**INSTITUTUL DE GENETICĂ, FIZIOLOGIE ȘI  
PROTECȚIE A PLANTELOR**

Cu titlu de manuscris  
CZU: [630.165.7+575.16+632.53]:633.854.78

**CUCEREAVÎI ALIONA**

**CARACTERELE AGROBIOLOGICE IMPORTANTE LA  
GERMOPLASMA DE FLOAREA-SOARELUI PENTRU CREAREA  
HIBRIZILOR PERFORMANȚI**

**411.04. AMELIORAREA PLANTELOR ȘI PRODUCEREA SEMINȚELOR**

**Teză de doctor în științe agricole**

**Conducători științifici**

**DUCA Maria,**  
doctor habilitat în științe biologice,  
profesor universitar, academician, 162.01 –  
Genetica vegetală, 164.02 – Fiziologie  
vegetală

**JOIȚA-PĂCUREANU Maria,**  
doctor în științe agricole, profesor  
cercetător, Genetica și ameliorarea plantelor

**Autor**

**CUCEREAVÎI Aliona**

**CHIȘINĂU, 2018**

© Cucereavii Aliona, 2018

## CUPRINS

<b>ADNOTĂRI</b> (română, rusă, engleză)	<b>4</b>
<b>LISTA ABREVIERILOR</b>	<b>7</b>
<b>INTRODUCERE</b>	<b>8</b>
<b>1. CONSIDERAȚII PRIVIND AMELIORAREA ȘI CONSERVAREA GERMOPLASMEI DE FLOAREA-SOARELUI (<i>Helianthus annuus</i> L.)</b>	<b>13</b>
1.1. Aspecte privind perspectivele de ameliorare la floarea-soarelui în Republica Moldova	13
1.2. Resurse genetice de floarea-soarelui	18
1.3. Metode de ameliorare la floarea-soarelui hibridă	22
1.4. Selecția asistată de markerii moleculari	27
1.5. Concluzii la capitolul I	41
<b>2. MATERIAL ȘI METODE DE CERCETARE</b>	<b>42</b>
2.1. Obiectul de studiu și condițiile de efectuare a cercetărilor	42
2.2. Metode clasice de ameliorare utilizate în studiu	49
2.3. Metode moleculare de cercetare	51
2.4. Metode de analiză statistică a datelor	53
2.5. Concluzii la capitolul 2	53
<b>3. CARACTERISTICA FENOLOGICĂ, MORFOLOGICĂ ȘI AGRONOMICĂ A MATERIALULUI AMELIORATIV</b>	<b>54</b>
3.1. Crearea și evaluarea materialului inițial de ameliorare autohton	54
3.1.1. Crearea și evaluarea liniilor materne	55
3.1.2. Crearea și evaluarea liniilor paterne	58
3.1.3. Crearea și evaluarea hibrizilor	60
3.2. Ontogeneza și fenologia colecției de germoplasmă	64
3.2.1. Caracteristica fenologică a liniilor materne	64
3.2.2. Caracteristica fenologică a liniilor paterne	66
3.2.3. Caracteristica fenologică a hibrizilor	67
3.3. Caracteristica germoplasmei privind productivitatea	73
3.3.1. Evaluarea unor caractere ale productivității liniilor materne	73
3.3.2. Evaluarea unor caractere ale productivității liniilor paterne	75
3.3.3. Evaluarea unor caractere ale productivității hibrizilor experimentali	76
3.4. Concluzii la capitolul 3	83
<b>4. POLIMORFISMUL GENETIC AL GERMOPLASMEI DE FLOAREA-SOARELUI</b>	<b>84</b>
4.1. Analiza SSR privind polimorfismul genetic al materialului semincer	84
4.2. <i>Screening</i> -ul germoplasmei cu referire la mană	92
4.3. <i>Screening</i> -ul germoplasmei cu referire la rugină	99
4.4. Concluzii la capitolul 4	103
<b>CONCLUZII GENERALE ȘI RECOMANDĂRI</b>	<b>105</b>
<b>BIBLIOGRAFIE</b>	<b>107</b>
<b>ANEXE</b>	<b>122</b>
Anexa 1. Hibridi de floarea-soarelui testați și înscrși în Catalogul soiurilor de plante al Republicii Moldova	122
Anexa 2. Act de implementare a rezultatelor științifice în ameliorare	129
<b>DECLARAȚIA PRIVIND ASUMAREA RĂSPUNDERII</b>	<b>130</b>
<b>CV-UL AUTORULUI</b>	<b>131</b>

## ADNOTARE

**CUCEREAVÎI Aliona** “Caracterele agrobiologice importante la germoplasma de floarea-soarelui pentru crearea hibrizilor performanți”, teză de doctor în științe agricole, Chișinău, 2018.

Teza include introducere, patru capitole, concluzii generale și recomandări, bibliografie din 252 surse, volumul total - 133 pagini, 32 tabele, 31 figuri. Rezultatele obținute sunt publicate în 19 lucrări științifice.

**Cuvinte-cheie:** floarea-soarelui, *Helianthus annuus*, variabilitate, rezistență, mană, rugină, androsterilitate, gene de interes – *Rf*, *Pl*, *R*.

**Domeniu de studiu:** 411.04. Ameliorarea plantelor și producerea semințelor.

**Scopul lucrării:** diversificarea și evaluarea germoplasmei de floarea-soarelui, obținerea hibrizilor valoroși, testarea acestora în culturi comparative cu promovarea celor perspectivi pe piața de semințe, inclusiv cea europeană.

**Obiective:** crearea liniilor parentale de floarea-soarelui și evaluarea unor caractere cantitative importante pentru obținerea hibrizilor comerciali competitivi; caracterizarea fazelor fenologice la liniile parentale de interes și hibridii de floarea-soarelui; identificarea polimorfismului genetic cu ajutorul markerilor SSR; *screening*-ul molecular și stabilirea potențialului de rezistență specifică a resurselor genetice; crearea, testarea și promovarea hibrizilor valoroși.

**Noutatea și originalitatea științifică.** Pentru prima dată în Republica Moldova s-a efectuat o evaluare amplă a liniilor parentale de floarea-soarelui cu proveniență genetică diferită (surse locale, europene, colecții VIR și VNIIMK) în baza unor indici agro-economici, morfologici și fiziologici cu implicarea unora din acestea în crearea hibrizilor înalt productivi, rezistenți la complexul de patogeni și factorii de stres. S-a stabilit perioada de vegetație și durata medie a principalelor faze fenologice a materialului inclus în studiu. A fost relevat potențialul de rezistență la mană și rugina a germoplasmei de floarea-soarelui din colecția companiei “AMG – Agroselect Comerț” SRL.

**Problema științifică soluționată constă în fundamentarea științifică a aplicării diferitor tehnici de creare a materialului inițial, prin utilizarea metodelor moleculare și tradiționale de ameliorare, care a permis evaluarea eficientă și selectarea genotipurilor perspective de floarea-soarelui, inclusiv clasificarea acestora pe grupe de interes în baza indicilor economici, morfologici, fiziologici și prezența genelor de rezistență la patogeni (*Pl* și *R*), fapt care asigură eficientizarea procesului de selecție și crearea hibrizilor competitivi.**

**Semnificația teoretică.** Datele obținute contribuie cu noi informații în evidențierea unor legături de manifestare a heterozisului, moștenire a caracterelor valoroase, identificare a genelor de rezistență la factorii biotici care prezintă interes pentru ameliorare.

**Valoarea aplicativă a lucrării.** Liniile consangvinizate valoroase MS-1589A, MS-2039, MS-2098A, MS-2091A, MS-2077A, MS-2067A, MS-2161A, MS-2440C, MS-2570C, MS-2540C, MS-2203C și MS-1920C au fost incluse în programul de ameliorare pentru crearea hibrizilor de floarea-soarelui competitivi valoroși, cu diferită grupă de maturitate, adaptați pentru cultivare în diverse regiuni. Hibridii cu randament sporit de producție noi creați și evaluați au fost propuși spre testare la Comisia de Stat pentru Testarea Soiurilor de Plante. Liniile care conțin genele de rezistență *P11*, *P16* și gena *RI* au fost recomandate pentru utilizare în procesul de ameliorare pentru crearea materialului inițial rezistent la mană și rugină.

**Implementarea rezultatelor științifice.** Colecția de linii maternale și paternale, create și evaluate în cadrul lucrării sunt utilizate în compania “AMG – Agroselect Comerț” SRL la crearea hibrizilor competitivi pe piața locală și internațională, 7 dintre acestea fiind omologați se cultivă pe suprafațe de peste 200,0 mii hectare anual, inclusiv, 50 mii ha în Republica Moldova, 60 mii ha – în Ucraina și 90 mii ha în Rusia.

## АННОТАЦИЯ

**Кучерявый Алёна «Экономически важные признаки гермоплазмы подсолнечника для получения перспективных гибридов»**, диссертация на соискании степени кандидата сельскохозяйственных наук, Кишинев, 2018.

Диссертация состоит из: введения; 4-х глав; выводов и рекомендаций; библиографии из 252 источников. Всего 133 страниц, 32 таблицы, 31 рисунок. Результаты исследований опубликованы в 19 научных работах.

**Ключевые слова:** подсолнечник, *Helianthus annuus*, изменчивость, продуктивность, ложно мучнистая роса, ржавчина.

**Область исследования:** 411.04 - селекция растений и семеноводство.

**Цель работы:** диверсификация и оценка гермоплазмы подсолнечника, получение ценных гибридов, их сравнительное тестирование и продвижение самых перспективных на национальные и европейские рынки.

**Задачи исследования:** создание и оценка родительских линий подсолнечника с разными экономически важными признаками для получения коммерческих гибридов; оценка фенологических фаз родительских линий и гибридов подсолнечника; определение генетического полиморфизма с использованием SSR маркеров; молекулярный скрининг генетических ресурсов и выявление линий, потенциально устойчивых к патогенам; создание, тестирование и продвижение ценных гибридов.

**Научная новизна и оригинальность.** Впервые в Республике Молдова проведена комплексная оценка линий подсолнечника различного генетического происхождения (местные, европейские, коллекции ВИР и ВНИИМК) с точки зрения агро-экономических, морфологических и физиологических показателей с последующим их использованием в создании высокопродуктивных гибридов, устойчивых к комплексу патогенов и факторам стресса. Установлен вегетационный период и средняя продолжительность основных фенологических фаз исходного материала, включенного в исследование. Выявлен потенциал устойчивости к ложно мучнистой росе и ржавчине гермоплазмы подсолнечника из коллекции, компании «AMG - Agroselect Comert» SRL.

**Решенная научная проблема состоит в научном обосновании** применения различных способов создания исходного селекционного материала с использованием молекулярных и традиционных методов, что позволило эффективно оценить и отобрать перспективные генотипы подсолнечника, в том числе классифицировать их на основе экономических, морфологических и физиологических показателей, а также по наличию генов устойчивости (*Pl* и *R*) к патогенам, *факт позволяющий* повысить эффективность селекции и создания конкурентоспособных гибридов.

**Теоретическая значимость работы.** Получены новые данные которые способствуют выявлению некоторых теоретических аспектов проявления гетерозиса, наследования ценных признаков, выявления генов устойчивости к биотическим факторам, представляющие интерес для селекционных программ.

**Практическая ценность работы.** Ценные инбредные линии MC-1589, MC-2039, MC-2098, MC-2091A, MC-2077, MH-2067, MH-2161, MH-2440C MS-2570C, 2540C MC-MC и MC-1920C-2203C были включены в селекционные программы для создания конкурентоспособных гибридов подсолнечника относящиеся к различным группам зрелости, приспособленные для выращивания в регионах с различными климатическими условиями. Новые гибриды которые успешно прошли конкурсное сортоиспытание представлены в Государственную комиссию по испытанию сортов. Линии, содержащие гены устойчивости *PL1*, *PL6* и *R1* рекомендованы для использования в создании нового исходного материала для селекции.

**Внедрение научных результатов.** Созданные материнские и отцовские линии используются в компании «AMG - Agroselect Comert» ООО для получения гибридов конкурентоспособных на местном и международном рынке. Сертифицированные гибриды (7 гибридов) культивируются ежегодно на более 200,0 тыс. га, в том числе 50 тыс. га в Республике Молдова, 60 тыс. га - на Украине и 90 тысяч га в России.

## ANNOTATION

**CUCEREAVII Aliona "Important agro-biological traits of sunflower germplasm for obtaining of high performance hybrids"**, PhD thesis in agricultural sciences, Chisinau, 2018.

The thesis includes introduction, four chapters, general conclusions and recommendations, the bibliography from 252 sources, a total of 133 pages, 32 tables, 31 figures. The results obtained are published in 19 scientific papers.

**Key words:** sunflower, *Helianthus annuus*, variability, resistance, downy mildew, rust, androsterility, genes of interest - *Rf*, *Pl*, *R*.

**Field of study:** 411.04 - Plant breeding and seed production

**Purpose of the paper:** Diversification and evaluation of sunflower germplasm, obtaining and testing of valuable hybrids and their promotion on the seed markets, including European.

**Research objectives:** creating and evaluation of parental sunflower lines related to some characters of interest for obtaining competitive commercial hybrids; characteristic of phenological phases in lines and obtained hybrids; identification of genetic polymorphism using SSR markers; molecular screening and determination of the specific resistance potential of genetic resources; creating, testing and promoting of valuable hybrids.

**Novelty and scientific originality:** For the first time in the Republic of Moldova, a broad assessment of the parental sunflower lines with different genetic origin (local, European, VIR and VNIIMK collections) was performed on the basis of agro-economic, morphological and physiological indices with the involvement of some of them in creating highly productive hybrids, resistant to the pathogen complex and stress factors. The vegetation period and the average duration of the main phenological phases of the material included in the study were established. The potential for downy mildew and rust resistance of sunflower germplasm of the company "AMG - Agroselect Comert" SRL was revealed.

**The important scientific problem solved is** the *scientific validity* of the application of different techniques for the creation of the initial breeding material, using the molecular and traditional breeding methods, *which allowed* the efficient evaluation and selection of perspective sunflower genotypes, as well as their classification in the groups of interest based on economic, morphological and physiological indices and the presence of disease resistance genes (*Pl* and *R*), *which ensures* the efficiency of the breeding process and creation of highly competitive hybrids.

**Theoretical significance:** The data obtained contributes with new information in highlighting the heterosis manifestation rules and the inheritance of valuable characters such as genes for biotic resistance and the identification of germplasm of interest for breeding.

**Application value of the paper:** Inbred lines MS-1589A, MS-2039, MS-2098A, MS-2091A, MS-2077A, MS-2067A, MS-2161A, MS-2440C, MS-2570C, MS-2540C, MS-2203C and MS-1920C have been included in the breeding program for the creation of valuable competitive sunflower hybrids with different maturity groups adapted for cultivation in different regions. New hybrids with high production yields created and tested have been submitted for testing to the State Commissions for Plant Variety Testing. Lines containing the resistance genes *Pl1*, *Pl6* and *R1* were recommended for use in the breeding process to create the initial downy mildew and rust resistant material.

**Implementation of scientific results:** The collection of maternal and paternal lines, created and evaluated in the present work are used in the company "AMG - Agroselect Comert" SRL to obtain hybrids competitive on the local and international market. The set of approved hybrids (7 hybrids) are cultivated annually on the surfaces over 200,0 thousand hectares, including 50 thousand ha in the Republic of Moldova, 60 thousand ha - in Ukraine and 90 thousand ha in Russia.

## LISTA ABREVIERILOR

- AFLP – Amplified Fragment Length Polymorphism (polimorfismul lungimii fragmentelor amplificate)
- ASC – androsterilitate citoplasmatică
- CAN – capacitatea asimilatoare netă
- CAPS – Cleaved Amplified Polymorphic Sequence (Secvența Clivată Amplificată Polimorf)
- CCC – cultura comparativă de concurs
- CTAB – Cetyl Trimethyl Ammonium Bromide
- DAF - DNA Amplification Fingerprinting (Amprentarea prin amplificarea ADNului)
- DAMD- Directed Amplification of Minisatellite-region DNA (amplificare direcționată a regiunii minisatelit de ADN)
- DGGE - Electroforeza în gel cu gradient denaturant
- dNTP - Deoxynucleotide (deoxinucleotide)
- EST - Expressed Sequence Tags (Secvențe expresate marcate)
- ISF – indicele suprafeței foliare
- ISSR - Inter-Simple Sequence Repeat (Amplificarea secvențelor repetitive inter-simple)
- LG – Linkage Grup (grup de linkaj)
- MAAP - Multiple arbitrary amplicon profiling
- MMB – Masa a 1000 de boabe
- PAA – polyacrylamide (poliacrilamidă)
- pb – perechi de baze
- PCR - Polymerase Chain Reaction (reacția de polimerizare în lanț)
- PIC – Polymorphic Information Content (conținutul informației polimorfe)
- RAPD - Random Amplified Polymorphic DNA (ADN Polimorf Amplificat Arbitrar)
- RFLP - Restriction Fragments Length Polymorphism (Polimorfismul Lungimii Fragmentelor de Restricție)
- RGC – Resistance Gene Candidate (Genă candidată de rezistență)
- Rf - fertility restorer (restauratoare de fertilitate)
- SAMPL- Selective Amplification of Microsatellite Polymorphic Loci (Amplificarea Selectivă Locilor Microsateliți Polimorfe)
- SCAR – Sequence Characterized Amplified Regions (Regiunile Amplificate cu Secvența Caracterizată)
- SSR – Simple Sequence Repeat (Repetări de Secvene Simple = microsateliți)
- STS – Sequence Tagged Sites (*Site*-uri cu Secvențe Marcate) TAE – Tris-acetat-EDTA
- TBE – Tris-borat-EDTA

## INTRODUCERE

**Actualitatea și importanța problemei abordate.** La nivel mondial floarea-soarelui (*Helianthus annuus* L.) se situează pe locul al 4-lea printre culturile oleaginoase, ocupând suprafețe de până la 21 mln. hectare, ceea ce permite de a obține anual până la 25 mln. tone de semințe, adică, aproximativ 8% din volumul total al materiei prime oleaginoase din lume [29, 226].

Datorită avantajelor sale economice, agroalimentare, industriale și curative, floarea-soarelui este una din principalele culturi din Republica Moldova, plasându-se pe locul al 3-lea după porumbul pentru boabe și grâu. Valoarea economică ridicată a culturii este determinată de multiplele sale întrebuințări, ca materie primă industrială, produs secundar, nutreț valoros, precum și ca plantă meliferă. Astfel, de pe 1 ha semănat cu floarea-soarelui cu o recolta de 2,5 t/ha obținem 1,2 t de ulei, 0,8 t turte (0,3 t proteine), inclusiv, 0,5 t coji, 1,5 t calatidii (1,0 t nutreț), 25-30 kg miere și alte produse secundare [35].

J. Ryland, comparând diferite uleiuri de origine vegetală, constată că uleiul de floarea-soarelui este cel mai benefic pentru sănătatea omului, grație conținutului său de acid oleic [182, 206]. De asemenea, floarea-soarelui prezintă o sursă importantă de tocoferoli și fitosteroli ce posedă efect curativ [120]. Aceștea contribuie la reducerea nivelului de colesterol în sânge [185], prevenind îmbolnăvirile de cancer, posedă acțiuni antioxidante [176]. În prezent, în unele țări, uleiul de floarea-soarelui, alături de alte uleiuri vegetale, este utilizat și drept carburant pentru motoarele de tip Diesel.

Direcționat au fost creați și hibrizi de floarea-soarelui cu un conținut scăzut de ulei, aceștea fiind folosiți în consumul direct și pentru fabricarea de halva. Turtele și șroturile obținute în urma extragerii uleiului, conținând în măsură suficientă toți aminoacizii utili, sunt utilizate ca supliment valoros în hrana animalelor [42, 48]. Cultura are și o importanță agrotehnică ridicată ce constă în folosirea acesteia la alcătuirea asolamentelor.

Reieșind din cele expuse și datorită obținerii unor venituri anuale stabile din realizarea semințelor căpătate, floarea-soarelui prezintă una dintre cele mai profitabile culturi pentru agricultură, ceea ce determină cerințe sporite ale pieții față de hibrizii cultivați și creșterea semnificativă a suprafețelor însămânțate, tendință ce persistă în ultimii ani. Astfel, în prezent suprafețele cultivate cu *H. annuus* au atins deja 385 mii hectare [1], iar extinderea acestora duce la perturbarea rotației culturilor în asolament, la acumularea mai rapidă a agenților patogeni și îmbolnăvirea mai frecventă a plantelor, precum și la scăderea considerabilă a recoltelor de la an la an.



Ținând cont de necesitatea permanentă de sporire a recoltelor și a rezistenței la condițiile climatice și de cultură, la atacul de boli, dăunători și la rasele foarte virulente de lupoaie, piața impune crearea de hibrizi de floarea-soarelui competitivi și productivi, care întrunesc în sine caracteristici valoroase și sunt capabili să producă recolte înalte în condiții extreme de mediu și cultură.

Crearea de hibrizi comerciali competitivi de floarea-soarelui pentru piața europeană de semințe este realizabilă prin diversificarea germoplasmei de floarea-soarelui. Pentru aceasta cercetările prezentate au fost orientate spre crearea, studierea și completarea germoplasmei cu genotipuri înalt productive, cu conținut bogat în ulei de calitate înaltă, cu arhitectură optimă a plantelor, plasticitate la condițiile de mediu și de cultură, rezistente la atacul sporit al bolilor și la rasele noi de *Orobanche cumana* Wallr., care posedă capacitate combinativă înaltă.

**Scopul lucrării:** diversificarea și evaluarea germoplasmei de floarea-soarelui, obținerea hibrizilor valoroși, testarea acestora în culturi comparative cu promovarea celor perspectivi pe piața de semințe, inclusiv cea europeană.

**Obiective:**

- crearea liniilor parentale de floarea-soarelui și evaluarea unor caractere cantitative importante pentru obținerea hibrizilor comerciali competitivi;
- caracterizarea fazelor fenologice la liniile parentale de interes și hibrizii de floarea-soarelui;
- identificarea polimorfismului genetic cu ajutorul markerilor SSR;
- *screening*-ul molecular și stabilirea potențialului de rezistență specifică a resurselor genetice;
- crearea, testarea și promovarea hibrizilor valoroși.

**Noutatea și originalitatea științifică.** Pentru prima dată în Republica Moldova s-a efectuat o evaluare amplă a liniilor parentale de floarea-soarelui cu proveniență genetică diferită (surse locale, europene, colecții VIR și VNIIMK) în baza unor indici agro-economici, morfologici și fiziologici cu implicarea unora din acestea în crearea hibrizilor înalt productivi, rezistenți la complexul de patogeni și factorii de stres. S-a stabilit perioada de vegetație și durata medie a principalelor faze fenologice a materialului inclus în studiu. A fost relevat potențialul de rezistență la mană și rugina a germoplasmei de floarea-soarelui din colecția companiei “AMG – Agroselect Comerț” SRL.

**Problema științifică soluționată constă în fundamentarea științifică a aplicării diferitor tehnici de creare a materialului inițial, prin utilizarea metodelor moleculare și tradiționale de ameliorare, care a permis evaluarea eficientă și selectarea genotipurilor perspective de floarea-soarelui, inclusiv clasificarea acestora pe grupe de interes în baza indicilor economici, morfologici, fiziologici și prezența genelor de rezistență la patogeni (*Pl* și *R*), fapt care asigură eficientizarea procesului de selecție și creare a hibrizilor competitivi.**

**Semnificația teoretică.** Datele obținute contribuie cu noi informații în evidențierea unor legități de manifestare a heterozisului, moștenire a caracterelor valoroase, identificare a genelor de rezistență la factorii biotici care prezintă interes pentru ameliorare.

**Valoarea aplicativă a lucrării.** Liniile consangvinizate valoroase MS-1589A, MS-2039, MS-2098A, MS-2091A, MS-2077A, MS-2067A, MS-2161A, MS-2440C, MS-2570C, MS-2540C, MS-2203C și MS-1920C au fost incluse în programul de ameliorare pentru crearea hibrizilor de floarea-soarelui valoroși, cu diferită grupă de maturitate, adaptați pentru cultivare în diverse regiuni. Hibrizii cu randament sporit de producție noi creați și evaluați au fost propuși spre testare la Comisia de Stat pentru Testarea Soiurilor de Plante. Liniile care conțin genele de rezistență *PI1*, *PI6* și gena *RI* au fost recomandate pentru utilizare în procesul de ameliorare pentru crearea materialului inițial rezistent la mană și rugină.

**Implementarea rezultatelor științifice.** Colecția de linii materne și paterne, create și evaluate în cadrul lucrării sunt utilizate în compania “AMG – Agroselect Comerț” SRL la crearea hibrizilor competitivi pe piața locală și internațională, 7 dintre aceștea fiind omologați se cultivă pe suprafațe de peste 200,0 mii hectare anual, inclusiv, 50 mii ha în Republica Moldova, 60 mii ha – în Ucraina și 90 mii ha în Rusia.

**Rezultatele științifice principale înaintate spre susținere:**

- Colecția de linii materne și paterne create și caracterizate după un șir de indici agro-economici valoroși.
- Setul de hibridi omologați și de perspectivă competitivi pentru comercializarea pe piața de semințe.
- Abordarea complexă a metodelor de laborator (*screening* molecular) și experimentale în câmp pentru evaluarea germoplasmei de floarea-soarelui.

**Sumarul compartimentelor tezei**

Lucrarea cuprinde: adnotare prezentată în limbile română, rusă și engleză, lista abrevierilor, introducere, patru capitole, concluzii generale și recomandări practice, bibliografie, declarația privind asumarea răspunderii și CV-ul.

În *introducere* se argumentează actualitatea și importanța problemei abordate; sunt formulate scopul și obiectivele tezei; sunt expuse noutatea științifică a rezultatelor obținute, importanța teoretică și valoarea aplicativă a lucrării, aprobarea rezultatelor și este inclus sumarul compartimentelor tezei.

**Capitolul 1. CONSIDERAȚII PRIVIND AMELIORAREA ȘI CONSERVAREA GERMOPLASMEI DE FLOAREA-SOARELUI (*Helianthus annuus* L.),** include analiza amplă a situației în domeniu și vine să argumenteze necesitatea cercetărilor realizate în lucrare. Generalizând rezultatele primului capitol menționăm că floarea-soarelui este una dintre culturile oleaginoase de bază din Republica Moldova. Anual, pe câmpurile agricole ale republicii se cultivă în jur de 320 mii ha de floarea-soarelui (conform datelor din 2014), mult mai mult decât prevăd recomandările științifice. Din aceste considerente, precum și reeșind din faptul că această cultură este vulnerabilă la factorii biotici, important este de evaluat germoplasma autohtonă și de creat un bogat material pentru ameliorare care trebuie valorificat în crearea hibrizilor autohtoni, înalt productivi, adaptați la condițiile factorilor abiotici, specifici Republicii Moldova și rezistenți la boli. Pornind de la sinteza datelor din literatură rezultă scopul și obiectivele prezentei lucrări: obținerea hibrizilor de perspectivă prin ameliorarea plantelor de cultură, bazată pe metode tradiționale sau prin aplicarea tehnicilor moleculare eficiente, care asigură evaluarea materialului inițial, utilizat în programele de selecție, inclusiv estimarea polimorfismului genetic al populațiilor studiate, determinarea omogenității liniilor consangvinizate și a gradului de hibridare în F<sub>1</sub>, *screening*-ul molecular și fenotipic în condiții naturale și în condiții model al genelor de interes.

**Capitolul 2. MATERIAL ȘI METODE DE CERCETARE** conține descrierea metodologiei utilizate pentru realizarea studiului, materialului biologic utilizat și a condițiilor de cultivare. Pentru evidențierea polimorfismului genetic al materialului investigat și genotiparea liniilor parentale valoroase au fost utilizați marcheri microsateliți. Prezența genelor, care asigură rezistența specifică la mană a fost demonstrată cu ajutorul marcherilor CAPS și STS.

**Capitolul 3. CARACTERISTICA FENOLOGICĂ, MORFOLOGICĂ ȘI AGRONOMICĂ A MATERIALULUI AMELIORATIV,** include date privind crearea și evaluarea liniilor maternelor, paternelor și a hibrizilor de perspectivă după anumite caractere agronomice cu valoare economică importantă.

**Capitolul 4. POLIMORFISMUL GENETIC AL GERMOPLASMEI DE FLOAREA-SOARELUI,** cuprinde date privind polimorfismul genetic al germoplasmei, obținute prin analiza SSR a genotipurilor investigate, precum și evaluarea germoplasmei în baza unor primeri specifici pentru gene ale rezistenței la mană și rugină. Investigarea profilurilor generate de

primeri incluși în studiu, în special ORS70 și ORS224, a permis de a evidenția unele benzi asociate cu rezistența și susceptibilitatea la mană. Zece linii parentale valoroase din punct de vedere economic au fost genotipate cu ajutorul a șapte markeri microsatelici, caracterizați printr-un nivel înalt de polimorfism și claritatea profilurilor generate. De asemenea, capitolul include datele privind analiza clusteriană a genotipurilor investigate cu scopul clasificării acestora în baza distanțelor genetice. În concluziile capitolului se rezumă valoarea aplicativă a rezultatelor obținute și perspectivele utilizării markerilor selectați pentru studiu. *Screening*-ul molecular al genelor relevă prezența sau absența genelor de rezistență la mana *Pl1* și *Pl6* (pentru mană) și *R1* (pentru rugină) obținute cu ajutorul markerilor moleculari linkați cu genele respective.

**CONCLUZIILE GENERALE ȘI RECOMANDĂRILE** conțin o sinteză a principalelor rezultate ale cercetărilor efectuate, structurate conform capitolelor descrise.

**Aprobarea rezultatelor științifice.** Cercetările efectuate și datele obținute au fost prezentate și discutate anual la ședințele Consiliului Științific al Institutului de Genetică, Fiziologie și Protecție a Plantelor și ale laboratoarelor științifice din cadrul institutului, precum și la: International Plant Breeding Congress (Antalya, Turkey, 10-14 November 2013); Conferința Științifică Internațională a doctoranzilor „Tendențele Contemporane ale dezvoltării științei: viziuni ale tinerilor cercetători” (UnAȘM, Chișinău, Republica Moldova, 10 martie 2014); Third International Symposium on Broomrape in Sunflower (Cordoba, Spain, 3-6 June 2014); Congresului al X-lea Internațional al Geneticienilor și Amelioratorilor (Chișinău, Republica Moldova, 28 iunie-1 iulie 2015); 2<sup>nd</sup> Plant Breeding Congress & EUCARPIA – Oil and Protein Crops Conference (Antalya, Turkey, 1-5 november 2015); 19<sup>th</sup> International Sunflower Conference (Edirne, Turkey, 29 may- 3 june 2016), International Plant Breeding Conference (Kyrenia, Turcia, October 15-20, 2017).

**Publicațiile la tema tezei.** Rezultatele obținute sunt reflectate în 19 lucrări științifice, dintre care 3 articole în reviste recenzate peste hotare, 5 articole în reviste recenzate naționale, inclusiv 2 în monoautorat și 11 comunicări în cadrul unor foruri științifice naționale și internaționale.

**Volumul și structura tezei.** Teza include introducere, patru capitole, concluzii generale și recomandări, bibliografia din 252 surse, volumul total de 133 pagini, 32 tabele, 31 figuri.

**Cuvinte-cheie:** floarea-soarelui, *Helianthus annuus*, variabilitate, rezistență, mană, rugină, androsterilitate, gene de interes – *Rf*, *Pl*, *R*.

## **1. CONSIDERAȚII PRIVIND AMELIORAREA ȘI CONSERVAREA GERMOPLASMEI DE FLOAREA-SOARELUI (*Helianthus annuus* L.)**

Procesul de ameliorare la floarea-soarelui (*Helianthus annuus* L.), în mare măsură, se datorează valorii și abundenței resurselor genetice [53], ansamblului genelor importante a căror acumulare se urmărește în genotipurile noi create. Cu cât fondul genetic este mai variat și mai bogat, cu atât sunt mai mari șansele de a crea cultivare cu caractere agronomice valoroase, ce corespund cerințelor pieții [45].

### **1.1. Aspecte privind perspectivele de ameliorare la floarea-soarelui în Republica Moldova**

Ținând cont de importanța florii-soarelui pentru economia Republicii Moldova, precum și extinderea permanentă a suprafețelor cultivate și creșterea cererii de produse oleaginoase, pe parcursul mai multor ani au fost întreprinse cercetări profunde ce au avut drept scop ameliorarea acestei culturi.

Primele lucrări de ameliorare a florii-soarelui în Republica Moldova s-au efectuat în anii 1932-1938, la Stațiunea Experimentală VNIIMK. La etapele inițiale ale programului de ameliorare a florii-soarelui (1959-1965), lucrările au fost orientate cu precădere în direcția creării unor soiuri mai bine adaptate condițiilor de mediu din sudul țării. Ameliorarea clasică prin selectarea genotipurilor cu un conținut sporit de ulei în miez, realizată preponderent în Krasnodar de către V.S. Pustovoit a contribuit la obținerea unor soiuri performante, care conțineau 48-50 % de ulei [52]. Selecția individuală și utilizarea metodelor convenționale de creare a soiurilor au condus la o creștere substanțială a conținutului de ulei din semințe și schimbări nesemnificative în ceea ce privește producția de semințe. În acest context crearea hibridilor heterozigoți cu creștere viguroasă prin manifestarea efectului heterozis a constituit un pas progresiv în ameliorarea florii-soarelui la productivitate. În Republica Moldova ample cercetări în acest domeniu au fost inițiate la sfârșitul anilor '70 la Institutul Moldovenesc de Cercetări Științifice pentru Ameliorare, Producere de Semințe și Tehnologia Culturilor de Câmp din Bălți, care a oferit materialul inițial pentru ameliorare și suport științific în pregătirea cadrelor. Lucrările de ameliorare au fost axate pe câteva direcții de bază:

- crearea liniilor materne cu androsterilitate citoplasmatică,
- crearea liniilor paterne restauratoare de fertilitate,
- evaluarea colecției de linii după indici de performanță economică,
- crearea hibridilor cu productivitate înaltă, adaptați la condițiile de mediu și rezistenți la factorii biotici și abiotici.

În cadrul Institutului au fost înregistrate succese remarcabile în utilizarea efectului heterozis la floarea-soarelui, considerându-l după importanță cel mai eficient mijloc de sporire a productivității cu 10–30% [6]. Ținem să menționăm, că efectul heterozis la floarea-soarelui era bine cunoscut de mai mult timp, însă doar descoperirea androsterilității citoplasmatică, inclusiv a genelor restauratoare, a impulsionat fondarea unei direcții noi de ameliorare a culturii date. Anume aceste circumstanțe au contribuit la crearea hibrizilor comerciali și introducerea lor în producere [5, 6]. Printre savanții ce activează în domeniul ameliorării florii-soarelui în Moldova se remarcă Buciucianu Mihail – doctor în științe agricole cu o vastă activitate științifică în domeniul selecției și ameliorării soiurilor și hibrizilor culturilor de câmp cu caractere prețioase [2-5]; Vronskih Mihail - membru corespondent al AȘM, fitopatolog, ce a realizat studii îndelungate a diferitor sisteme integrate de protecție a culturilor de câmp în calitate de parte componentă a tehnologiilor industriale de cultură [28, 29]; Rotaru Tudor - doctor hab. în științe agricole, ameliorator de floarea-soarelui cu o experiență de peste 35 de ani; Caradjova Larisa - dr. în șt, fitopatolog; Lesnic Vladimir - semenolog, activitatea căruia constă preferențial în testarea noilor soiuri și hibrizi omologați în condițiile de producere în diferite zone a Republicii Moldova ș.a. [5].

Succesul lucrărilor de ameliorare la floarea-soarelui este determinat de calitatea programului de ameliorare în care să fie bine determinat scopul, obiectivele și modalitatea punerii în aplicare a acestora. În dependență de arealul de producție, preponderența bolilor, randamentul economic, stresul abiotic și, nu în ultimul rând, de preferința cultivatorilor, obiectivele de ameliorare variază mult [168]. La fel, obiectivele de ameliorare pot varia în funcție de direcțiile de utilizare a materiei prime [112]. Pentru realizarea reușită a obiectivelor de ameliorare este necesar să se cunoască baza genetică și valoarea ameliorativă a surselor de germoplasmă utilizate, precum și factorii (naturali-locali, tehnologici, economici) care condiționează alegerea acestor obiective.

Academicianul A.Vrânceanu [23] consideră, ca indiferent de programele de ameliorare, grupele principale de obiective sunt comune. Principalul obiectiv strategic în procesul de ameliorare constituie crearea hibrizilor cu potențial sporit de productivitate, care în condițiile de producție să realizeze cel puțin 70-80% din potențialul său. În realizarea acestui obiectiv este necesar de a cunoaște specializarea hibridului, condițiile pedo-climatice, răspândirea bolilor și a dăunătorilor, cât și a particularităților agrotehnice și a perioadelor critice la creșterea și dezvoltarea culturii [60]. A.Vrânceanu [23, p. 15] consideră ca obiective principale în ameliorarea la floarea-soarelui constituie producția de semințe și a componentelor ei, conținutul

de ulei în semințe, rezistența genetică la boli și lupoaie, adaptabilitatea la condițiile de mediu și de cultură, mai recent, diversificarea calității uleiului [111, 203].

După D. Škorić și colab. [214, 222] principalele obiective ale ameliorării la floarea-soarelui sunt creșterea randamentului de semințe și a conținutului de ulei pe unitatea de suprafață, indicele de producție, rezistența la bolile dominante și la dăunători, optimizarea arhitecturii plantei, maturarea timpurie și bună adaptabilitate. K. Soldatov și A. Kalaydzhyan [55] susțin, că crearea plantelor cu talie joasă constituie un indiciu prețios în ameliorarea florii-soarelui. Mai recent, ca obiectiv de importanță majoră în ameliorarea la floarea-soarelui îl constituie retrogresia genelor de rezistență la erbicidele de tip imidazolinone și sulfonilureice de la speciile sălbatice ale genului *Helianthus*.

Reieșind din obiectivele enumerate este necesar ca amelioratorii să dezvolte un model al hibridului de floarea-soarelui, a unui **ideotip** de plantă, care să întrunească în sine caracterele dorite.

**Modelul soiului** este o previziune științifică care specifică combinația caracterelor cantitative ale unei plante pentru a asigura un anumit nivel de productivitate, rezistență, stabilitate și alte însușiri dorite [38]. Modelul tip al cultivarului include un șir de însușiri morfologice și agronomice utile. Ca etalon servește cel mai bun cultivar omologat. Conceptul de soi ideal a fost introdus în anul 1935 de către N.I.Vavilov, însă termenul de „ideotip” a fost utilizat mai târziu, de către C.M. Donald [102]. **Ideotipul** este o opțiune a modelului unui cultivar. Acesta prezintă modelul care exprimă pe deplin caracteristicile soiului sau a hibridului [38]. Principala condiție pentru proiectarea modelului unui hibrid este de a obține linii parentale ce posedă genele dorite, astfel ca la încrucișare să producă descendenți ( $F_1$ ) superiori hibridilor existenți pentru cel mai mare număr de trăsături agronomice [126]. Talia plantei, diametrul capitulului, forma și poziția lui pe tulpină, mărimea frunzelor, viabilitatea și distribuția lor pe tulpină, joacă un rol important în definirea optimă a arhitecturii plantei pentru crearea unui model de hibrid de floarea-soarelui [40, 214, 224].

După A. Vrânceanu idiotipul plantei de floarea-soarelui trebuie să fie prezentat de plante înalte, scunde sau intermediare, cu înclinare diferită a capitulului, cu numărul și mărimea frunzelor variabil, cu capitule mari, cu semințe multe și compacte, cu o perioadă lungă de umplere a boabelor, cu plante rezistente la cădere și boli, tolerante la competiția dintre plante, cu o mare adaptabilitate ecologică [23].

M. Arnoux [70] a prezentat modelul ideal de floarea-soarelui pentru Franța, care să posedă un ciclu vegetativ scurt, să germineze la temperaturi scăzute, să fie tolerant la frig, cu fază scurtă de la răsărire la înflorire și perioadă lungă de înflorire. Sistemul radicular trebuie să fie puternic,

adânc, capabil să exploateze apa și rezervele minerale din sol, tulpina să fie moderat dezvoltată, cu o suprafață foliară rezonabilă, capitule plate, subțiri, verticale, să posede toleranță sporită la atacul ciupercelor *Botrytis cinerea*, *Sclerotinia sclerotiorum*, *Macrophomina phaseoli*.

Hibrizii de floarea-soarelui creați la Novi Sad, posedă perioada de vegetație de 120-130 zile, înălțimea medie a tulpinii de 160-180cm, suprafața foliară a plantei de 6000-7000 cm<sup>2</sup>, capitul de mărime intermediară, cu diametru de 20-25 cm, din țesut dens, numărul de flori pe planta peste 1500, semințe mari și grele, rezistență la secetă, la boli și la atacul lupoaiei, calitate superioară a uleiului și proteinelor din semințe [215]. În mai multe surse bibliografice, D. Škorić și colaboratorii consideră, că componentele ideotipului de floarea-soarelui care direct influențează productivitatea sunt numărul de semințe pe plantă (> 1500), masa a 1000 de boabe (>80g.), masa hectolitrică (> 45-50 kg), numărul de plante la hectar (55-60 mii), conținutul scăzut de coajă (20-24%), conținutul ridicat de ulei în semințe (> 50%) [213, 214, 221, 224]. De asemenea, D. Škorić și colab. susțin, ca la întocmirea tipului ideal de plantă nu trebuie de ignorat nici parametri fiziologici. Acest model prevede că biomasa uscată să constituie 12 t/ha, dintre care tulpinile - 4 t/ha, frunzele - 2 t/ha, rădăcinile - 1 t/ha, iar semințele și calatidiile - 5 t/ha. Durata perioadei de vegetație să fie, preferabil, de până la 90 zile, indicele suprafeței foliare să atingă 3m<sup>2</sup> pe m<sup>2</sup> până la faza de butonizare, iar la înflorire să fie mai mare. Ca rezultat al suprafeței foliare sporite și, respectiv, a fotosintezei active, sinteza uleiului trebuie să fie maximală de la înflorire până la maturarea fiziologică.

Dinamica sintezei proteinelor depinde de cantitatea de azot anterior acumulată în tulpină și în frunze. Perioada de umplere a semințelor este necesar să fie suficient de lungă, iar sistemul radicular bine dezvoltat pentru a absorbe apa și elementele minerale din sol.

N. Tivolzanski [57] a dezvoltat modelul ideal al hibridului timpuriu pentru zona de Sud-Vest a Rusiei, care trebuie să asigure o recoltă de semințe de 4 t/ha și 2 t/ha de ulei, durata perioadei de vegetație să fie de 81-84 zile, înălțimea plantei de 130-150cm, cu 27-28 frunze pe tulpină. Tulpina trebuie să fie erectă, elastică cu grosimea de 2,0-2,5 cm să ofere rezistență la cădere și frângere. Suprafața foliară optimă a semănăturilor de floarea-soarelui să fie de 3,5-4,0 ha, ce corespunde densității de 50mii pl/ha. Frunzele trebuie să aibă dimensiuni medii, pot fi gofrate. Ultimele 5 frunze să fie mici, pe când, frunzele nivelului 6-8 de la capitul să fie mai mari și funcționale până la maturitatea fiziologică a semințelor. Unghiul de fixare a capitulului pe tulpină de la 45 până la 90 grade la înălțimea de 10-15 cm. de asupra nivelului de sus a frunzelor. Capitulul să fie solitar, plan, cu grosimea de 2,0-2,5 cm. și diametrul de 20cm., rezistent la deteriorările mecanice. Numărul de semințe pline a unui calatidiu să nu fie mai mic de 1200



semințe și greutatea lor nu mai mică de 80g, masa a 1000 boabe - între 70-80g, masa hectolitrică 400-500g/l, procentul de coji să fie de 22-23%, conținutul de ulei – 48-50%.

Modelul hibridului ideal pentru Republica Moldova trebuie să aibă durata perioadei de vegetație de 90, 105 sau 120 zile, nivelul de producție să constituie 3,5-4,2 t/ha, iar conținutul de ulei de 50-52%. Tulpina trebuie să fie de înălțime optimă, subțire, densă și elastică, suprafața foliară să fie rațională, calatidiul să fie subțire din țesut tare, de dimensiuni mijlocii, rezistent la traumele mecanice, să posede rezistență la atacul cu molia florii-soarelui, lupoaie, rugină, perenosporoză, putregaiul alb și cenușiu, fomoză și fomopsis [2, 6, 29, 49].

J. Joksimović și colab. [147] subliniază că înălțimea plantei, mărimea, forma și poziția calatidiului pe tulpină joacă un rol important în definirea arhitecturii optime a hibrizilor de floarea-soarelui. La fel, D. Pankovic și colab. [183] atenționează, că lungimea pețiolului schimbă arhitectura plantelor de floarea-soarelui existente, iar suprafața foliară totală depinde de poziția, gofrarea frunzei și de dezvoltarea plantelor. Deci, crearea hibrizilor cu arhitectură modificată a plantei, constituie o direcție modernă pentru îmbunătățirea modelului hibridului de floarea-soarelui. Acestui tip corespund plantele cu unghi mic de atașare a frunzelor pe tulpină, cu pețiolul frunzei mai scurt, distanță mică între tulpină și frunză [37, 40, 58]. Plantele cu tip erectoidal al frunzelor puțin se umbresc reciproc în câmp și datorită acestui fapt putem mări densitatea plantelor la hectar, ce duce la creșterea recoltei de semințe de floarea-soarelui și a conținutului de ulei.

Trebuie de remarcat faptul, că cerințele actuale ale industriei de procesare către hibrizii pentru cofetărie și consum sunt diferite de cele înaintate față de hibrizii pentru ulei. Principalele obiective pentru semințele de floarea-soarelui pentru consum sau procesare în industria alimentară constau în creșterea randamentului de semințe, conținut mai mare de proteine, indicele de producție, rezistență la bolile dominante, maturare mai devreme [224]. Pe lângă productivitate și rezistența la boli, importanță are conținutul scăzut de coji, decojirea ușoară, păstrarea de lungă durată, conținutul ridicat de proteine, uniformitatea, forma și culoarea semințelor. Este cunoscut faptul, că culoarea favorită a semințelor hibrizilor de cofetărie din Turcia este albă cu dungi gri, iar consumatorii din țările Balcanice, precum Serbia, Bulgaria, Republica Moldova și România preferă semințele de culoare neagră [213].

Ameliorarea la floarea-soarelui pentru cofetărie și consum este îndreptată spre creșterea masei a 1000 de boabe, a conținutului de proteină de calitate în semințe, concomitent cu reducerea conținutului de ulei și a procentului de coajă [25, 42, 47, 127]. După N. Hladni și colab. [129] hibrizii de floarea-soarelui pentru cofetărie se disting prin conținut de proteine de calitate >25%, masa a 1000 de boabe >100g, masa hectolitrică mare, conținut de ulei în miez mai mic de 40 %, randament sporit de miez, semințe uniforme după dimensiune și culoare, toleranță la bolile dominante. Y. Kaya și

colab. [150] consideră, că conținutul ideal de ulei în semințele hibrizilor pentru cofetărie trebuie să fie mai mic de 30%.

## **1.2. Resurse genetice de floarea-soarelui**

Procesul de ameliorare, în mare măsură, se datorează valorii și abundenței resurselor genetice [53], ansamblului genelor valoroase a căror acumulare se urmărește în genotipurile noi create. Cu cât fondul genetic este mai variat și mai bogat, cu atât sunt mai mari șansele de a crea cultivare cu caractere agronomice valoroase, ce corespund cerințelor pieței [45, 215]. Resursele genetice cuprind toate genotipurile care pot fi folosite ca material inițial pentru crearea de linii consangvinizate de floarea-soarelui sau ca forme donatoare de gene pentru ameliorare. Aceste resurse sunt grupate în cultivare vechi, soiuri, linii consangvinizate și hibrizi, specii sălbatice de floarea-soarelui, hibrizi interspecifici, mutanți naturali sau induși și populații-sursă sau sintetice.

**Cultivare vechi cu conținut scăzut de ulei.** Acest grup de surse de germoplasma îl constituie soiurile vechi, bazate pe proveniențele locale, create prin selecție populară în masă la care sămânță are coaja groasă. Astfel, de soiuri ca, Saratovskii 169, Kruglik A-41, Zelenka 76, Fuksinca, obținute în Rusia, au fost selecționate în direcția producerii de plante neramificate, cu un singur calatidiu și cu semințe de dimensiuni mari. Aceste soiuri erau și rezistente la secetă, variind în ceea ce privește perioada de vegetație, de la timpurii și semitimpurii, la tardive și semitardive. Selecția locală pentru rezistența la lupoaiie (*Orobanche cumana* Wallr.) a jucat un rol important la începutul ameliorării acestei specii. Soiuri create în trecut, în Rusia și apoi în Uniunea Sovietică au fost cultivate și în alte țări sau au fost folosite pentru crearea unor populații locale, adaptate condițiilor din țările respective (țări din Europa), dar și în Canada, Argentina, SUA.

**Soiuri cu conținut ridicat de ulei.** Soiurile moderne cu polenizare liberă prezintă grupa de resurse genetice cu conținut ridicat de ulei. Acestea constituie cea mai valoroasă sursă de germoplasmă pentru ameliorare, crearea hibrizilor la floarea-soarelui, în special, pentru crearea de linii B, cu ajutorul cărora se face multiplicarea și menținerea liniilor analoage, androsterile, A. Aceste soiuri sunt cele de tip VNIIMK, ca VNIIMK 6540, VNIIMK 8931, VNIIMK 8883, Armavirskii 3497, Armavireț, Smena, Peredovik, Sputnik, Saliut, Luci, care au fost obținute de V.S. Pustovoit la Institutul Unional de Cercetari pentru Plante Oleaginoase, din Krasnodar, U.R.S.S. [52]. Printre soiurile cu conținut ridicat de ulei în semințe se enumeră și soiurile Zelenka 365, Maiak, Donskoi 5, Voronejskii 143, Voronejskii 202, Volgar etc., la fel create la stațiunile experimentale sovietice.

În România, utilizându-se germoplasma de tip VNIIMK și metode de ameliorare folosite de Pustovoit [23], au fost create soiurile Record și Orizont. P. Alvarez și colab. [64] studiind 20 de soiuri – populații de diferită origine geografică, din Banca de germoplasmă de la Pergamino, Argentina, au determinat existența unei vaste variabilități genetice în cadrul acestora. S-a constatat, că grupul format din genotipurile rusești prezintă cel mai mare interes pentru ameliorare, datorită valorilor sporite ale producției de semințe și al conținutului ridicat de ulei. La fel, M. Arango și colab. [68] au studiat 57 cultivare provenite din Rusia, Europa de Est, Franța și America de Sud (populații, soiuri, linii) păstrate și ele în Banca de gene din Pergamino, Argentina. În urma studiului, cea mai mare variabilitate a procentului de coji și de miez din semințe, a conținutului de ulei și a masei hectolitrică s-a stabilit la grupul provenit din Europa de Est, iar a greutateii a 1000 boabe – la grupul din America de Sud. Marinkovic și colab. [161] au studiat 78 populații de floarea-soarelui provenite de la Universitatea din Ames, Iowa, SUA și de la VIR, Sankt Petersburg, Rusia. Din punct de vedere al diversității genetice, populațiile studiate au fost grupate în 5 grupuri.

Mai recent, pentru diversificarea germoplasmei, sunt utilizate soiurile de floarea-soarelui cu o variabilitate genetică diferită, ca Kazacii, Azovckii, Donskoi krupnoplodnîi ale stațiunii experimentale de pe Don; Master, Buzuluk, Albatros, Kruiz, Orešek, Lakomka, Flagman, Rodnik, Sur - VNIIMK, Krasnodar; Krepîș și Foton – ale stațiunii experimentale din Armavir: Stepnoi, Skorospelîi 87, Saratovskii 85, Saratovskii 82, Saratovskii 20 - ale Institutului de Sud - Est din Saratov [33].

**Hibridi și linii consangvinizate.** Hibridii de floarea-soarelui constituie o sursă accesibilă de creare a liniilor consangvinizate restauratoare a fertilității polenului, la care genele *Rf* sunt încorporate în germoplasma de tip *petiolaris*, rezistente la factorii biotici și abiotici. Valoarea de ameliorare a hibridilor se datorează diversității genetice a acestora.

M. Mihaljcevic [167] a studiat 154 hibridi de floarea-soarelui obținuți de diferite institute de cercetare și companii internaționale de semințe. Acești hibridi, au fost evaluați cu referire la talia plantei, diametrul calatidiului, numărul de frunze și suma temperaturilor efective până la formarea butonului floral, înflorire și maturitate. Potrivit rezultatelor testării, hibridii studiați au fost încadrați doar în două grupe.

W. Lawson și colab. [156] au estimat diversitatea genetică a mai multor genotipuri de floarea-soarelui cultivate în Australia, folosind analiza RAPD (*Random Amplified Polymorphic DNA*). Rezultatele obținute au specificat, că baza genetică la floarea-soarelui cultivată este foarte variată. Multiple linii consangvinizate care întrunesc caractere agronomice importante au fost obținute în numeroase centre publice de ameliorare din Europa, America de Nord și America de

Sud și apoi distribuite ca surse de gene. J. Miller și T. Gulya [171] au înregistrat liniile HA 335, HA 336, HA 337, HA 338, HA 339 și HA 340, rezistente la rasele 2, 3 și 4 de mană (*Plasmopara halstedii*). La Fargo, USDA-ARS, SUA au fost obținute 6 linii restauratoare și 4 linii menținătoare cu rezistență la diferiți agenți patogeni [170], iar J. Hanfel și T. Gulya [124] au creat două linii de floarea-soarelui pentru ulei, rezistente la atacul păsărilor.

**Speciile sălbatice și germoplasma interspecifică.** Variabilitatea genetică la floarea-soarelui poate fi sporită prin utilizarea speciilor sălbatice ale genului și a hibridărilor interspecifice [128]. Speciile sălbatice reprezintă un grup de resurse genetice cu o mare valoare potențială în ameliorare [23, 237]. Numeroase lucrări de specialitate ne demonstrează, că speciile sălbatice ale genului *Helianthus* prezintă sursa genetică de bază în ce privește caracterele morfologice și agronomice, a rezistenței la boli și dăunători, a toleranței la secetă, a calității uleiului, a sterilității citoplasmatică și restaurare a fertilității [30, 97, 142, 179, 180, 211].

Se consideră că speciile sălbatice ale genului *Helianthus* reprezintă o sursă continuă de însușiri agronomice dorite. Acest grup de germoplasmă mai include și numeroase populații hibride interspecifice, naturale sau artificiale și linii consangvinizate derivate din acestea. Speciile sălbatice au intrat în practica curentă a ameliorării la floarea-soarelui, prin furnizarea primei surse de androsterilitate citoplasmatică, rezultată din încrucișarea speciei sălbatice *Helianthus petiolaris* cu specia cultivată *H. annuus*. Mai târziu, au fost descoperite și alte surse de androsterilitate citoplasmatică, la alte specii sălbatice [85, 88]. La fel, în speciile sălbatice de floarea-soarelui și în sursele genetice derivate din acestea au fost identificate gene (*Rf*) de restaurare a fertilității [151, 219].

Este cunoscut faptul că speciile sălbatice de floarea-soarelui prezintă inclusiv surse importante de gene pentru rezistența la boli. Astfel, rezistența la multiple boli a fost găsită la următoarele specii sălbatice anuale: *H. niveus*, *H. neglectus*, *H. habilis*, *H. praecox*, *H. petiolaris*, *H. argophyllus* [237]. Surse furnizoare de gene de rezistență la rugină (*Puccinia helianthi*) sunt speciile *H. annuus*, *H. petiolaris*, *H. argophyllus* [239, 252], iar la mană (*Plasmopara halstedii*), speciile sălbatice *H. tuberosus*, *H. annuus*, *H. maximiliani*, *H. nuttallii* etc. [235].

Rezistența la ofilirea verticiliană (*Verticillium dahliae*) este larg răspândită în cadrul speciilor sălbatice de *Heliantus*, aceasta fiind, în primul rând, talia plantei în: *H. tomentosus*, *H. grosserratus*, *H. divaricatus*, *H. occidentalis*, *H. pauciflorus*, *H. tuberosus*, dar și alte caractere cantitative. Mai puțin întâlnită în cadrul speciilor sălbatice este rezistența la pătarea frunzelor, produsă de *Alternaria helianthi*, or Morris și colab. [173], testând mai multe specii sălbatice perene, au depistat trei din acestea ca fiind moderat rezistente la patogen, și anume: *H. hirsutus*, *H. pauciflorus* și *H. tuberosus*. Sujatha și colab. [230] și Korell și colab [153] au menționat că

specia sălbatică diploidă *H. divaricatus* este o sursă importantă de rezistență la *Alternaria helianthi*, *Diaporthe helianthi* și *Plasmopara helianthi*. Un spectru larg de gene de rezistență la patogenul *Sclerotinia sclerotiorum* a fost detectat în speciile sălbatice de floarea-soarelui [211, 216]. În urma testărilor efectuate de mai mulți cercetători s-a constatat însă că doar câteva specii sălbatice ale genului *Helianthus* prezintă grad moderat de rezistență, ca: *H. nuttalli*, *H. mollis*, *H. resinosus*, *H. maximiliani*, *H. salicifolius*, *H. divaricatus* [81, 216, 223].

Pentru patogenul *Phomopsis helianthi*, câteva specii sălbatice anuale - *H. annuus*, *H. argophyllus*, *H. debilis* și perene - *H. resinosus*, *H. salicifolius* și *H. tuberosus*, pot constitui posibile surse de rezistență: *H. annuus*, *H. argophyllus*, *H. debilis* [105, 218, 237].

De asemenea la speciile sălbatice au fost identificate și gene de rezistență la parazitul lupoaia (*Orobanche cumana* Wallr.) [66, 210]. Astfel, primele surse de rezistență au fost create prin încrucișarea speciei *H. tuberosus* cu specia cultivată de *Helianthus annuus* [52].

Speciile sălbatice posedă variabilitate considerabilă în privința calității semințelor și a multor caracteristici agronomice și economice. De menționat însă că deși, posedă o variabilitate ridicată a conținutului de ulei, la speciile sălbatice acesta este mai scăzut decât la floarea-soarelui cultivată. Conținut sporit de acid linoleic s-a depistat la speciile *H. porteri*, *H. debilis* și *H. exilis*. Concentrații mai mari în acid oleic le-au înregistrat speciile: *H. argophyllus*, *H. atrorubens*, *H. hirsutus*. Unele specii sălbatice (*H. paradoxus*, *H. argophyllus*) sunt foarte tolerante la salinitate [82, 211].

Două specii sălbatice, *H. argophyllus* și *H. niveus* s-au evidențiat prin rezistență la secetă [209, 211, 217]. Recent, cercetările privind combaterea buruienilor din cultura de floarea-soarelui au demonstrat că speciile sălbatice ale genului *Helianthus* prezintă gene de rezistență la ierbicidele care conțin sulfoniluree și imidazolin [145]. Astfel, B. Olson [178] și colaboratorii au constatat rezistență la sulfoniluree la 57% din populațiile speciilor sălbatice *H. annuus* și *H. petiolaris* colectate în SUA și Canada.

Numeroase surse de germoplasmă, ce au contribuit la diversificarea surselor genetice de floarea-soarelui, au fost obținute prin hibridare interspecifică. Includerea speciilor sălbatice în programele de ameliorare constituie un proces complex și de durată. Deosebiri în privința numărului de cromozomi, distanța genetică, incompatibilitatea, au determinat dificultăți în hibridarea între diferite specii de *Helianthus*, aceste obstacole fiind depășite, ulterior, prin utilizarea tehnicilor moleculare.

**Mutageneza indusă** constituie o tehnologie complementară de ameliorare, tot mai frecvent folosită pentru diversificarea surselor genetice [23]. Mulți savanți au folosit mutageneza

indusă în ameliorare la floarea-soarelui [86, 95, 148] obținând mutații cu caracteristici agronomice modificate.

**Populații sintetice.** Populațiile sintetice de floarea-soarelui prezintă o concentrație de gene obținută în urma încrucișării a mai multor linii cu capacitate combinativă sporită și însușiri agronomice, morfologice și biochimice valoroase, urmată de selecția recurentă.

Astfel de populații, în dependență de programele de ameliorare, sunt create pentru sporirea productivității, rezistenței la boli și factorii de stres, îmbunătățirea calității uleiului. Unele populații sunt create pentru ameliorarea unor caractere speciale, cum ar fi: autofertilitatea, ramificarea recesivă, talia joasă a plantelor, precocitate sau pentru alte obiective. Pentru sporirea producției de semințe a hibridilor, este necesar să se amelioreze valoarea combinativă a liniilor parentale. De aceea, sunt necesare populații de ameliorare diferite pentru liniile maternelle și paternelle. Miller și Fick [169] și Miller și Roath [172] au creat populații, atât menținătoare (B) cât și restauratoare (R), utilizând ameliorarea în cadrul populației și între populații. Jonson și Lay [144] au efectuat selecția în masă pentru majorarea conținutului de ulei, în cadrul populației restauratoare SDHAR 1, confirmând eficacitatea acestei metode, numai pentru primele cicluri de selecție. Shabana, în anul 1990 [212], a obținut o populație sintetică prin utilizarea germoplasmei locale din Egipt și a unor soiuri străine, pentru a combina conținutul ridicat de ulei, talia joasă a plantelor și precocitatea germoplasmei străine cu potențialul sporit de producție și adaptabilitatea germoplasmei locale.

După primul ciclu de selecție recurentă în cadrul unei populații sintetice Obydalo [46, 47] a obținut populația sintetică îmbunătățită. Acesta depășea populația inițială, în ce privește numărul și recolta de semințe, avea masa mai mică a 1000 boabe, iar conținutul uleiului în semințe era la același nivel.

Volgin și colab. [26, 27], aplicând selecția recurentă după fenotip a obținut populații sintetice, care la rândul lor depășeau populațiile inițiale după productivitate, numărul de semințe, dar, însușirile pozitive obținute erau însoțite de micșorarea greutateii semințelor.

### **1.3. Metode de ameliorare la floarea-soarelui hibridă**

La etapa actuală, conform cerințelor și necesităților pieții și a condițiilor pedo-climatice, agrotehnice, cât și ținând cont de apariția raselor tot mai virulente a patogenilor, care parazitează floarea-soarelui se cer a fi îndeplinite acțiuni de valorificare și obținere a diversității genetice în cadrul germoplasmei pentru obținerea de hibridi comerciali competitivi [25]. În acest sens, pentru îmbogățirea diversității germoplasmei, se utilizează metode clasice, precum și tehnici moderne. Metodele de ameliorare, care se utilizează cel mai frecvent în ameliorare la floarea-

soarelui sunt selecția, hibridarea intraspecifică și interspecifică, mutageneza indusă, poliploidia, consangvinizarea, androsterilitatea citoplasmatică, ameliorarea la heterozis, cultura *in vitro* și metodele de inginerie genetică.

**Selecția recurentă.** Ca metodă de ameliorare, selecția recurentă a început a fi utilizată la porumb în anii 40 ai secolului trecut [228]. Selecția recurentă constă din mai multe cicluri de selectări și încrucișări în scopul creșterii concentrației de gene sau a combinațiilor de gene favorabile în materialul de ameliorare. În funcție de procedeele de selecție și acțiunea genelor, aceasta poate fi fenotipică, genotipică și reciprocă.

Selecția recurentă este utilizată și în ameliorarea genotipurilor hibride de floarea-soarelui. Aplicarea acestei metode are ca scop crearea de noi surse genetice pentru rezolvarea diferitor obiective ale procesului de ameliorare. Un ciclu de selecție recurentă pentru producția ridicată, cu evaluarea descendențelor, poate spori producția de semințe cu 6% în raport cu cultivarul original. Metoda selecției recurente, propusă de G. Pustovoiț, fără implicarea consangvinizării a condus la îmbunătățirea substanțială, atât a producției de semințe, cât și a conținutului de ulei în semințe. Selecția recurentă a mai fost folosită și pentru ameliorarea altor caractere la floarea-soarelui, așa ca rezistența la boli și dăunători, a incompatibilității și capacității combinative, ramificației tulpinii etc. G. Pustovoiț și S. Borodin, folosind hibridii interspecifici *H. tuberosus* x *H. annuus* și selecția recurentă, au creat o populație rezistentă la *Macrophomina phaseoli* [25, 52]. J. Hoes și colaboratorii [132], aplicând selecția recurentă au confirmat posibilitatea măririi gradului de rezistență la *Sclerotinia sclerotiorum*, iar G. Pustovoiț și V. Hatneanskii [51] au menționat importanța selecției recurente pentru obținerea materialului inițial rezistent la lupoaie.

**Selecția în masă.** Selecția în masă la floarea-soarelui se realizează în scopul menținerii purității cultivarelor existente. Selecția în masă se folosește pe larg la producerea semințelor, ca o metodă de menținere a caracterelor morfologice și însușirilor economico-biologice a materialului folosit.

**Selecția individuală.** Esența selecției individuale constă în alegerea, selectarea unor plante corespunzătoare, descendenții cărora sunt înmulțiți separat.

**Hibridarea intraspecifică.** În cadrul speciei *H. annuus*, hibridarea intraspecifică, în prezent, este utilizată pe larg pentru crearea materialului inițial de ameliorare valoros. Prin această metodă într-un singur organism nou se întrunesc însușirile și caracterele a două sau mai multe genotipuri din aceeași specie.

Obținerea materialului de selecție prin hibridării intraspecifice este utilizată pe larg, datorită accesibilității și în același timp a eficacității acestei metode [25]. Cultivarurile productive, rezistente la complexul de boli și dăunători de diferită grupă de maturitate, create

până în prezent, sunt surse a multor caractere agronomice. Hibridările între aceste cultivaruri asigură posibilitatea obținerii combinațiilor noi ce întrunesc în sine caractere agronomice valoroase. Utilizarea acestor surse în programa de ameliorare la floarea-soarelui ne permite obținerea hibrizilor competitivi cu potențial înalt de producere. Prin metoda hibridării intraspecifice se formează un material inițial nou și se mărește diversitatea acestuia, necesară pentru crearea hibrizilor de floarea-soarelui. Hibrizii diferitelor variante de combinare, de cele mai multe ori, are o vitalitate mai înaltă decât formele parentale din care sunt creați [23].

**Hibridarea interspecifică.** Metoda prevede hibridări între diferite specii ale genului. Descoperirea genelor de interes la speciile sălbatice ale genului *Helianthus* și încorporarea acestora în genotipurile de floarea-soarelui cultivată deține un loc special în ameliorarea la floarea-soarelui [224]. Hibridarea interspecifică constituie o tehnică complementară în ameliorare, care poate fi folosită cu succes pentru crearea de surse noi de variabilitate genetică [19]. Cu toate dificultățile care pot apărea datorită diferențelor în privința garniturii de cromozomi (2x, 4x, 6x) și a incompatibilității de încrucișare, hibridarea interspecifică este considerată a fi o cale accesibilă de încorporare a germoplasmei sălbatice în floarea-soarelui de cultură, în special pentru ameliorarea rezistenței la factorii abiotici de stres (arșiță și secetă), a calității uleiului și proteinelor, a rezistenței la boli, pentru identificarea a noi surse de androsterilitate citoplasmatică și restaurare a fertilității polenului și chiar pentru selecția unor caractere morfologice și fiziologice utile din punct de vedere agronomic [19, 72, 73, 116, 138, 181, 207].

În baza hibridării între floarea-soarelui cultivată și formele sălbatice anuale au fost obținute surse de sterilitate citoplasmatică [84, 87] și create linii rezistente la boli [30, 72, 142, 170].

Formele de floarea-soarelui cu conținut sporit de ulei în semințe s-au obținut prin încrucișarea diferitor specii sălbatice de *Heliantus* cu floarea-soarelui cultivată [86, 135, 136].

Contribuție semnificativă în ameliorare la floarea-soarelui prin metoda hibridării interspecifice au prezentat lucrările efectuate de către Galina Pustovoit la VNIIMK din Krasnodar. G. Pustovoit, pentru prima dată, a obținut hibrizi interspecifici între floarea-soarelui cultivată și *H. tuberosus*, *H. tomentosus*, *H. subcanescens*, *H. scaberimus*, *H. mollis* [52]. Hibrizii interspecifici creați erau anuali, autofertili, diploizi, cu caracteristică fenotipică intermediară, dar manifestau rezistență la patogeni, moștenită de la speciile sălbatice.

În Europa, interesul pentru folosirea hibridărilor interspecifice în ameliorarea la floarea-soarelui a fost relansat prin descoperirea androsterilității citoplasmatică în descendențele *backcross* ale hibridului *H. petiolaris* x *H. annuus*. În România, au fost obținute descendențe interspecifice *H. agrophyllus* x *H. annuus* utilizate în ameliorarea rezistenței la secetă [18]. Până



în prezent, în diferite țări, prin hibridarea surselor genetice, soiurilor cultivate cu speciile sălbatice multi anuale s-a obținut un material inițial de ameliorare a rezistenței la *Sclerotinia* [205], la *Alternaria* [231] și la secetă [209].

Hibridarea interspecifică a fost aplicată pentru sporirea rezistenței la lupoaie. Acest proces implică descoperirea genelor de interes (*Or*) în speciile sălbatice ale genului *Helianthus*, apoi încorporarea lor în genotipurile de floarea-soarelui cultivată. *H. deserticola* este o specie sălbatică anuală adaptată la condițiile de creștere în deșert și este rezistentă la secetă, paralel posedă gene de rezistență și la lupoaie [128].

**Mutageneza indusă.** Mutageneza experimentală, prin aplicarea mutagenilor chimici sau fizici, deschide largi posibilități de creare a materialului inițial de ameliorare valoros. Prin utilizarea acestei metode, în ultimii ani, au fost create cultivaruri valoroase și material inițial de ameliorare nou aproape la toate culturile agricole [41]. În general, floarea-soarelui a beneficiat mai puțin de aportul mutațiilor induse pentru diversificarea surselor de germoplasmă. Totuși, o realizare deosebită, care s-a soldat cu obținerea unui nou tip de ulei de floarea-soarelui, a fost obținută în Rusia, la Krasnodar, de către Soldatov, prin mutageneza chimică. Prin tratarea semințelor din soiul VNIIMK 8931 cu o soluție de dimetilsulfat în concentrație de 5%, a fost identificată în  $M_3$  o plantă cu conținut ridicat de acid oleic. Prin selectări ulterioare, conținutul de acid oleic a crescut în unele genotipuri până la 80-90%. În baza acestui material, Soldatov a creat soiul Pervenet, cu ulei foarte bogat în acid oleic. Prin autofecundare în cadrul soiului Pervenet, au fost obținute mai multe surse de gene, pentru acest caracter în diferite centre de cercetare din lume. Jan [141] a înregistrat 4 linii cu androsterilitate nucleară, toate derivând din semințele liniei HA 89 tratată cu mitomicina C. Aceste linii mutante, furnizează marcheri genetici, facilitează hibridarea, elimină demasculinizarea. Jambhulkar și Joshua [140] au menționat, ca razele gamma în doza de 200 Gy, prezintă un mijloc foarte eficient de obținere a mutațiilor morfologice și clorofilene a acestei culturi. La fel, în urma tratării liniei de floarea-soarelui 3629 cu soluție de nitrometil uree, Usatov și colab. [242] au obținut un șir de mutații la nivel de clorofilă.

Prin aplicarea mutagenilor chimici și fizici s-a încercat de a induce rezistența la patogenul *Alternaria*. Astfel, în generația  $M_3$  căpătată în urma tratării semințelor de floarea-soarelui cu etil-metil-sulfonat s-au evidențiat 300 plante ce nu au fost atacate de acest patogen [177]. Prin tratarea semințelor soiului Peredovik cu soluție de etil-metil-sulfonat B. Perez-Vich și colab. [188] au obținut genotipuri noi de floarea-soarelui cu conținut sporit de acid palmitic. E.Nehnevajova și colab. [175], prin utilizarea agenților mutageni de natură chimică, au căpătat forme noi la care nivelul de absorbție al metalelor grele este de 3-5 ori mai mare decât la formele

obișnuite. Prin urmare, utilizarea acestor mutații, pot servi la remedierea solurilor poluate. Inducerea formelor de floarea-soarelui cu caractere morfologice și biochimice noi, rezistente la diferiți patogeni, este posibilă prin supunerea germenilor acesteia acțiunii ultrasunetului sau radiației gamma [108]. V. Encheva și colab. [109], prin supunerea embrionilor imaturi acțiunii ultrasunetului au creat linii de floarea-soarelui rezistente la lupoaie. Aceste lucrări confirmă faptul, că metoda mutagenzei induse prezintă o sursă eficientă de sporire a variabilității genetice a florii-soarelui.

**Consangvinizarea** prezintă polenizarea autogamă forțată a plantelor alogame sau *inbreeding*-ul, sau încrucișarea între indivizi înrudiți la animale și om. Efectul major al consangvinizării constă în obținerea de genotipuri noi, homozigote, ca urmare a segregării populației inițiale în genotipurile componente. În rezultatul segregării apar genotipuri noi, unele din acestea foarte valoroase [4, 15, 16,], care până atunci, fiind recesive, nu se manifestau. Astfel, consangvinizarea reprezintă o sursă importantă de variabilitate genetică. Descendențele unei plante alogame, reprodusă prin autofecundare forțată timp de mai multe generații succesive poartă denumirea de linie consangvinizată. Lucrările de ameliorare la floarea-soarelui prin consangvinizare a fost inițiată în Rusia, în anul 1919, la Stațiunea Experimentală din Saratov [50]. La aceste lucrări au contribuit, apoi, Morozov și colab. [44]. În perioada anilor 1921-1928 metoda consangvinizării a fost utilizată la Stațiunea Experimentală Voronej, iar între anii 1925-1937 la Kruglik, Krasnodar și apoi la VNIIMK [61].

Pe parcursul lucrărilor de creare și evaluare a liniilor consangvinizate au apărut și au fost identificate diferite forme cu androsterilitate nucleară care au stimulat interesul pentru crearea hibridilor comerciali [23]. În general, cu cât este mai redus numărul de gene ce participă la formarea caracterelor cu atât depresiunea de consangvinizare va fi mai mică, deci cu atât mai mare va fi eficacitatea selecției directe a liniilor consangvinizate în privința acestor caractere. În toate generațiile de consangvinizare se efectuează selecția pentru principalele caractere și însușiri, eliminând diferite anomalii recesive puse în evidență de consangvinizare, în special în primele generații, precum și plantele cu caractere agronomice necorespunzătoare. Actualmente, se realizează crearea, evaluarea, precum și selectarea liniilor consangvinizate cu conținut sporit de ulei, cu capitul mare, cu semințe compacte și greutate mare, cu zona centrală fertilă, cât și pentru rezistența la boli și factorii abiotici de stres, la erbicide.

**Fenomenul heterozis.** Una din cele mai promițătoare modalități de sporire a productivității și adaptabilității culturilor constă în utilizarea fenomenului heterozis. După academicianul A.A. Jucenko [34], descoperirea efectului heterozis este cea mai importantă realizare practică a geneticii veacului XX. Heterozisul se exprimă prin creșterea considerabilă a

vitalității, vigurozității, adaptabilității și productivității la hibridii din generația  $F_1$  și se utilizează cu succes la multe specii de plante, cum ar fi porumbul, sorgul, sfecla de zahăr, tomate, castraveți, secară și floarea-soarelui. Deci, prin heterozis se înțelege superioritatea hibridilor din prima generație în privința uneia sau mai multor caracteristici în comparație cu părinții homozigoți [26, 27, 39].

Efectul heterozis maxim sau vigoarea hibridă se manifestă numai în  $F_1$  și nu se transmite în descendență. Alături de acest heterozis labil, unele studii pun în evidență și heterozisul transmisibil, care se fixează în sistemele genetice ale organismului și prezintă o importanță deosebită în evoluție. Astfel, la planta aromatică *Salvia sclarea* L. s-au creat hibridi care își păstrează în  $F_2$ - $F_n$  heterozisul în raport cu ambele forme parentale, constatându-se că din formă instabilă acesta a devenit transmisibil, fixat, constant, fiind manifestat în generațiile următoare [13, 14].

Descoperirea sursei de androsterilitate citoplasmatică [157] și de restaurare a fertilității [151] a creat toate condițiile necesare pentru obținerea hibridilor de floarea-soarelui. Studii sistematice și ample în privința obținerii heterozisului la floarea-soarelui prin încrucișarea liniilor consangvinizate, realizate de Iagodkin (1937) au relevat unele combinații hibride care au depășit linia maternă după producția de semințe aproape de opt ori. În experiențele sale V. C. Morozov [44] a obținut hibridi de floarea-soarelui, cu productivitate mai ridicată decât soiul standard Saratovskii 169 cu 17-22%, iar după randament (capacitatea de realizare a producției de ulei pe unitatea de suprafață), cu 28-41%. Conținut de ulei în semințe este moștenit, de obicei, de la părintele care are un conținut de ulei în semințe mai ridicat.

Manifestarea heterozisului pentru însușirile agronomice valoroase prezintă o premisă importantă pentru obținerea hibridilor înalt productivi [224, p. 16]. Heterozisul la floarea-soarelui a fost reliefat de numeroși autori care au comunicat exprimarea intensă a heterozisului la caracterele: producția de semințe, conținutul de ulei în semințe, înălțimea plantelor, diametrul calatidiului, numărul de semințe în capitul, mărimea și greutatea acestora [26, 39, 131]. Totodată, heterozisul nu apare în toate combinațiile hibride. Efectele heterotice sunt diferite pentru diferite caractere [131].

#### **1.4. Selecția asistată de marcheri moleculari**

Cerințele pieții actuale de semințe impune crearea hibridilor de floarea-soarelui înalt productivi, cu conținut sporit de ulei de calitate superioară, rezistenți la factorii biotici și abiotici. Procesul de creare însă, studierea și introducerea pe piață a unui hibrid este anevoioasă și de lungă durată. Utilizarea metodelor clasice de ameliorare nu sunt suficiente pentru micșorarea

acestei perioade. Din aceste considerente este utilă combinarea metodelor clasice de ameliorare cu selecția asistată de markerii moleculari. Deci, utilizarea markerilor moleculari permit reducerea semnificativă a procesului de ameliorare [43, 54, 56, 59]. Totodată, cu introducerea markerilor moleculari în cercetările biologice, au apărut noi oportunități în studierea diversității genetice, estimarea distanțelor genetice [31, 103]. Actualmente, studiile de genetică moleculară în ameliorare la floarea-soarelui sunt îndreptate spre identificarea markerilor moleculari (RAPD și SSR) asociați cu diferite gene de interes: rezistența la lupoai, rezistența la mană și pentru însușirea de ramificare a tulpinii [91, 139].

Tehnicile de analiza moleculară cu un nivel înalt de rezoluție facilitează elaborarea unor markeri de perspectivă pentru a identifica eficient amprenta genetică a plantelor de cultură, oferind siguranță și calitate în realizarea procedurilor de certificare a soiurilor și liniilor noi, precum și selecția în masă a caracterelor importante economic în stadiile de ameliorare timpurii.

**Utilizarea markerilor moleculari în genotipare.** Unul din obiectivele importante pentru amelioratori, constă în îmbunătățirea soiurilor existente prin încrucișarea acestora cu linii ce posedă caracterele agronomice dorite. Procedurile tradiționale de ameliorare sunt destul de laborioase determinate de efectuarea mai multor încrucișări și generații urmate de selecția minuțioasă a fenotipului solicitat. Aceste eforturi deseori sunt periclitare de faptul că locii de interes sunt strâns linați cu cei pentru caracterele nedorite. Aceste impedimente ar putea fi înlăturate prin aplicarea ingineriei genice, dar și în acest caz există unele limitări, cum ar fi: numărul insuficient de gene clonate, lipsa protocoalelor de transformare standardizate pentru majoritatea plantelor de cultură. Mai mult ca atât, caracterele poligenice sunt greu manipulate prin acest tip de tehnici. Evoluarea performanței tehnice de marcă moleculară bazată pe diversitatea genetică (polimorfism), accesibilitatea markerilor ADN în elaborarea unor strategii de ameliorare pun la dispoziția geneticienilor și amelioratorilor instrumente utile pentru soluționarea diferitor probleme asociate selecției tradiționale.

**Polimorfismul genetic** poate fi rezultatul unor mutații consecutive ale unei gene dintr-un anumit locus, determinând apariția mai multor alele cu o expresie diferită a caracterului respectiv. Astfel, se realizează inclusiv o heterogenitate a caracterelor utile în cadrul unei populații. S-a stabilit, că unele caracteristici ale genomului de exemplu, secvențele repetitive, de asemenea favorizează apariția polimorfismului [113].

În prezent, studiul diversității genetice în populații se bazează pe următoarele metode: studiul indicatorilor morfologici, anatomici și fiziologici înregistrați în populații naturale sau în culturi comparative după proveniență. Volumul markerilor informativi de acest tip este limitat. În afară de aceasta, proprietățile morfologice pot avea un caracter complicat de moștenire și,

deseori, depind de condițiile mediului ambiant. Acești indicatori sunt supuși influențelor de mediu într-un grad foarte ridicat, știut fiind faptul că realizarea fenotipului presupune interacțiunea dintre genotip și mediu (relația  $F = G + M$ ). Din această cauză, variabilitatea genetică estimată în baza acestor parametri este dificil de realizat. Deseori, caracterele morfologice identice pot fi generate de gene diferite, care se expresează similar într-un anumit mediu, alteori, gene identice pot genera fenotipuri diferite sub acțiunea unui mediu specific.

**Marcare moleculară.** Termenul de *marker* este subînțeles în biochimie ca fiind un factor de identificare, iar în genetică o genă sau un locus de o anumită lungime sau o localizare cunoscută. Marcherii moleculari prezintă o serie de avantaje față de marcherii fenotipici tradiționali în cazul în care corespund următoarelor cerințe:

- estimarea specificității genotipice trebuie să nu depindă de condițiile în care sunt crescute plantele;
- să fie caracterizați printr-o rezoluție și reproductibilitate înaltă;
- posibilitatea de identificare a genotipurilor homo- de cele heterozigote după mai mulți loci etc.

Dezvoltarea metodelor moleculare de cercetare a permis crearea noilor sisteme – test, care permit analizarea diversității genetice la nivelul proteinelor - ca produse de expresiei a genelor (polimorfismul proteic sau biochimic) și a secvențelor de nucleotide (polimorfismul ADN) [233, 234].

*Marcherii biochimici* sunt reprezentați prin proteine, ce pot fi separate cu ajutorul electroforezei pentru identificarea alelelor. Cel mai des în calitate de marcheri proteici sunt utilizate *izoenzimele* - diferite forme ale unei enzime [165]. Izoenzimele reprezintă compuși primari ai activității genelor și au un control alelic simplu, bialelic sau codominant. Cu toate acestea, utilizarea lor este limitată datorită numărului redus de marcheri proteici accesibili pentru orice specie de cultură și, de asemenea, de realizarea modificărilor post-tranlaționale [154]. O altă categorie de marcheri biochimici includ *terpenele*, care reprezintă produși secundari ai activității genelor (pentru sinteza lor intervin numeroase enzime), ceea ce face ca acești marcheri să aibă un control genetic mai greu de estimat.

Cei mai efectivi marcheri electroforetici sunt reprezentați de proteinele de rezervă din semințe. Marcherii fracției sumare a proteinelor permit de a controla cu succes puritatea genetică, omogenitatea semințelor liniilor homozigote și a celor hibride. În calitate de markeri proteici frecvent sunt utilizate proteinele de rezervă 2S, 7S, 11S, prolamine, deoarece sunt cele mai polimorfe și sunt localizate în țesuturi uniforme din punct de vedere genetic (endosperm și cotiledoane). În decursul cercetărilor s-au elucidat și limitele de utilizare a acestui tip de marker: permite analiza polimorfismului doar a succesiunilor codificatoare de proteine și doar la cele

care se expresează la o anumită etapă ontogenetică. Posibilitățile metodei indicate sunt limitate de asemenea și de nivelul scăzut al polimorfismului proteic în populațiile animalelor, păsărilor, plantelor de cultură, limitele selectării materialului biologic și timpului de recoltare [229].

Mult mai de perspectivă se prezintă utilizarea în calitate de sisteme - marcheri succesiunile nucleotidice polimorfe de ADN, care permit testarea polimorfismului genetic nemijlocit la nivelul genelor și nu la nivelul produsului de expresie al lor.

*Marcherii ADN* pot fi utilizați în analiză oricărui tip de țesut și organ, indiferent de stadiul de dezvoltare al organismului și au un șir de avantaje (identificarea exactă a locilor; depistarea mutațiilor mici, invizibile din punct de vedere morfologic; moștenirea codominantă, utilizare în analize genetice și filogenetice etc.) față de alte tipuri de marcheri. Acești marcheri relevă fidel variabilitatea genetică, nefiind supuși influențelor mediului.

*Tehnicile moleculare de analiză* a polimorfismului ADN au evoluat în funcție de scopul urmărit de cercetător și de tendințele de automatizare a analizelor. Așa tehnici ca: RAPD (*Random Amplified Polymorphic DNA*), RFLP (*Restriction Fragment Length Polymorphisms*), SCAR (*Sequence Characterized Amplified Regions*), STS (*Sequence Tagged Sites*), AFLP (*Amplified Fragment Length Polymorphism*) etc., devin din ce în ce mai pe larg utilizate de diferite laboratoare. Tehnicile cele mai avansate în selecția asistată de marcheri pentru anumite caractere de interes implică o serie de metode cu utilizarea enzimelor de restricție, amplificare sau mixtă:

- *utilizarea enzimelor de restricție* (RFLP - polimorfismul lungimii fragmentelor de restricție; VNTR - număr variabil de repetiții în tandem);
- *tehnici de amplificare cu primeri arbitrari sau semiarbitrari sau cu profiluri multilocus* (RAPD - ADN polimorf amplificat arbitrar; AFLP- polimorfismul lungimii fragmentelor amplificate; DAMD- regiuni minisatelit de ADN; SAMPL- folosirea microsateleților împreună cu AFLP etc.);
- *tehnici PCR cu site-uri țintă* (CAPS- secvență amplificată polimorf urmată de digestie STMS- microsateleți ai secvențelor țintă, etc.).

Marcherii ADN pot fi clasificați în două categorii, în funcție de modul în care polimorfismul de secvență este identificat: heterogenitate relevată prin hibridare sau amplificare PCR. Polimorfismele bazate pe hibridare includ RFLP și loci VNTR (variable number tandem repeats) [74, 164]. Aceste tehnici utilizează pentru hibridare pe filtre care conțin ADN digerat cu enzime de restricție, diferite sonde ca: clone aleatoare genomice, ADNc și secvențe microsateleți și mini-sateleți. În cazul analizei VNTR polimorfismele sunt determinate de diferența în numărul de repetări, spre deosebire de RFLP unde acestea sunt generate de mutațiile punctiforme,

inversii, deleții sau translocații. Electroforeza în gel cu gradient denaturant (DGGE) este o alternativă pentru analiza RFLP, deoarece permite identificarea polimorfismelor ADN între două fragmente de dimensiuni egale cu diferența într-o singură pereche de bază [158].

În reacția PCR, o pereche de primeri oligonucleotidici sunt folosiți pentru a copia fiecare catena a matricii ADN cu ajutorul unei enzime – polimeraza, care adaugă nucleotide începând de la capătul 3' al primerilor aliniați la secvența complementară a ADN-ului. Această metodă poate fi aplicată pentru determinarea variabilității genomului utilizând oligonucleotide în calitate de primeri. În cazul în care dorim să amplificăm o anumită genă, este necesar să cunoaștem secvența nucleotidică cel puțin al unui mic fragment din molecula de ADN supusă cercetării. Numărul de fragmente amplificate depinde de: complexitatea genomului; selectivitatea primerilor; compoziția și numărul nucleotidelor în primeri; numărul de cicluri [149].

Diverse modificări ale metodei PCR au stat la baza creării mai multor tipuri de marcarea moleculară în funcție de tipul de primeri utilizați (specifci și arbitrari), stringența/precizie condițiilor PCR, precum și metoda de separare și detecție a fragmentelor. Astfel, de tehnici ca MAAP (multiple arbitrary amplicon profiling), RAPD [250], PCR cu primeri arbitrari (AP-PCR) [249] și amprentarea prin amplificarea ADNului (DAF, DNA Amplification Fingerprinting) [80] generează marcheri randomizați PCR. Toate aceste trei strategii folosesc unul sau mai multe oligonucleotide arbitrare ca primeri, care se leagă de ADN complementar în diferite site-uri. Strategiile respective diferă prin lungimea primerilor utilizați, stringența/precizie amplificării, și procedura utilizată pentru a rezolva și de a detecta patternele obținute. AP-PCR utilizează, de obicei, primeri de lungimea 18-24 bp, și produsele de amplificare sunt detectate pe geluri de agaroză, după colorare cu bromură de etidiu. RAPD utilizează primeri de 9 sau 10 nucleotide în lungime și produsele de amplificare sunt separate pe geluri de agaroză și vizualizate după colorare cu bromură de etidiu. Aceste geluri permit detectarea numai a produselor de amplificare majore. DAF utilizează primeri foarte scurți, de obicei 8 pb, deși primeri mai scurți de 5 pb pot fi de asemenea utilizați, iar produsele de amplificare sunt separate pe gel de poliacrilamidă ce conține 7 M uree și sunt detectate cu argint, făcând posibil vizualizarea unui număr mai mare de fragmente polimorfe și monomorfe de 2 - 3 ori [75, 80]. În reacția de amplificare DAF se folosește un raport molar de concentrație primer / ADN mai mare. În toate cele trei tehnici de MAAP descrise mai sus, un primer permite amplificarea mai multor loci care corespund mai multor benzi pe gel. Numărul de primeri care pot fi folosiți este practic nelimitat, aceștea pot acoperi potențial întregul genomul. Cu toate acestea, un dezavantaj al acestor markeri este faptul, că acestea sunt în general, dominanți și nu permit diferențierea heterozigoților de homozigoți.

Amplificarea secvențelor repetitive inter-simple (ISSR) polimorfism [96] este încă un instrument puternic pentru analiza genomului. Pentru crearea markerilor ISSR se utilizează primeri, complementari repetițiilor microsatelitice (4-12 unități de repetiție) și care poartă la unul din capete o secvență din două-patru nucleotide arbitrare (numită “ancoră”). Astfel, de primeri permit amplificarea fragmentelor de ADN, care se află între două secvențe microsatelitice situate destul de aproape (de regulă, acesta este ADN unical). În rezultat se amplifică un număr mare de fragmente care sunt prezentate pe electroforegramă sub formă de fâșii discrete (întrerupte) (ISSR-fingerprinting). Markerii ISSR de asemenea se referă la markerii cu moștenire dominantă, la care polimorfismul se testează după prezența/absența zonei. La fel ca și în cazul RAPD pentru crearea markerilor ISSR nu sunt necesare cunoștințe preventive despre secvența de nucleotide a ADN-ului cercetat.

Pentru cercetarea variabilității genomului integral mai poate fi folosită metoda analizei AFLP. Această metodă, similar, nu necesită clonarea și nici secvențierea preventivă a ADN-ului. Particularitățile acestei abordări constau în utilizarea în calitate de matriță a fragmentelor de ADN restricționate, legate cu adaptorii specifici oligonucleotidici, și realizarea amplificării selective cu primeri special elaborați. Primerii - reprezintă secvențe complementare adaptorului și saitului de restricție al endonucleazei (~15 nucleotide) inclusiv un fragment scurt (la capătul 3') cu succesiune arbitrară a nucleotidelor (2-4 nucleotide). Cu fiecare pereche de primeri se amplifică 75-100 de fragmente (AFLP- fingerprinting), care se separă în gel de agaroză sau de poliacrilamidă. Deoarece fiecare fragment reprezintă un sait unical, cantitatea de locusuri, analizați în același timp cu fiecare combinație de primer, este cu mult mai mare, ca în oricare altă tehnică de analiză a polimorfismului ADN. Acest tip de polimorfism are un tip dominant de moștenire. Markerii AFLP deseori se moștenesc ca clustere puternic fixate în regiunea centromerilor sau telomerilor cromozomilor, dar se observă și repartizarea întâmplătoare a markerilor în afara clusterilor, fapt ce permite de a utiliza această metodă pentru generarea rapidă a sutelor de markeri înalt reproductivi. Analiza AFLP are capacitatea de a detecta mii de loci independenți cu un minim cost și timp. Primeri AFLP pot fi ușor distribuiți între laboratoare prin publicarea secvenței lor. Toate aceste caracteristici unice, fac ca analiza AFLP să reprezinte o metodă excelentă pentru detectarea și studiul polimorfismului genetic la diferite specii de plante [187].

Markerii PCR specifici sunt derivați din secvențe cunoscute, care sunt de obicei 18-24 pb lungi și amplificarea se efectuează la o temperatură de aliniere a primerilor de 50-70°C. Primeri *desing*-ul cărora este elaborat astfel încât secvența lor să fie complementară cu secvența nucleotidică de la capetele unui fragment RFLP sunt numiți STS (*sequence tagged site*). STSs



pot fi priviți ca marcheri ADN monomorfi, întrucât ei sunt utilizați în experimentele, unde prezența polimorfismului nu este neapărată, de exemplu, în astfel de experimente, ca construirea hărților fizice ale genomului sau evidențierea secvențelor testate în clonele de recombinare sau a plantelor modificate genetic. Au fost create baze de date pentru marcherii STS ceea ce a contribuit la o cooperare mai bună dintre diferite laboratoare, rezultând construirea hărților fizice fine ale cromozomilor și secvențierea genomului la un șir de specii de plante și animale (NCBI, <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>), Genethon ([carbon.wi.mit.edu:8000/cgi-bin/contig/phys\\_map](http://carbon.wi.mit.edu:8000/cgi-bin/contig/phys_map)), CEPH-Genethon ([www.cephb.fr/bio/ceph-genethon-map.html](http://www.cephb.fr/bio/ceph-genethon-map.html)), Genome Data Base (<http://www.gdb.org/ş.a.>).

Există cazuri când fragmentul amplificat nu indică polimorfismul de lungime. În aceste tehnici se recurge la clivarea ampliconului cu o enzima de restricție potrivită pentru a genera un polimorfism, fragmentele rezultate fiind numite CAPS (secvența clivată amplificată polimorf) [152]. Primeri pot fi sintetizați pe baza secvenței capetelor fragmentelor RAPD pentru a genera primeri PCR care pot fi utilizați pentru amplificare, generând marcherii PCR specifici, numite regiuni amplificate cu secvența caracterizată (SCAR) [190]. Polimorfismul este detectat direct sau după clivarea cu o enzima de restricție.

Alt tip de marcheri PCR specifici sunt STM (secvența de tag-uri microsateliți) în care primeri sunt complementari secvenței unice flancante și generează polimorfism datorită numărului diferit de repetiții [125].

**Caracteristica marcherilor SSR.** În cazul unor motive suprapuse și cele complementare există 501 posibilități de a forma repetări neredundante de la cele mono- până la cele hexamerice, în special 2 monomerică, 4 dimerică, 10 trimerică, 33 tetramerice, 102 pentamerice și 350 pattern-uri hexamerice. Cele mai abundente motive în genomurile mamiferilor sunt  $(A)_n$  și  $(CA)_n$  și cei complementari la acestea. La plante, cele mai frecvente motive repetitive sunt  $(A)_n$ ,  $(AT)_n$ ,  $(GA)_n$  și  $(GAA)_n$  [241].

Repetări mononucleotidice ce conțin A/T sunt răspândite în genomurile cloroplastelor. Poli(A/T) repetări este singurul tip de microsatelit, prezent în mod regulat în genomul cloroplastelor, preponderent în introni și regiunile intergenice. Unii microsateliți ai cloroplastelor pot fi asociați cu așa numite „puncte fierbinți” a mutațiilor în molecula ADN-ului cloroplastelor. De exemplu, în regiunea *spacer* între genele *rpl2* și *rps19*, Goulding et al. (1996) [121] a identificat repetarea poli(A) polimorfă în ADNc-ul de tutun.

Microsateliți sunt rar întâlniți în ADN mitochondrial la plante, cu un raport explicit unic despre o repetare  $(G)_n$  de la mai multe specii de conifere [227]. Microsateliții compuși din repetări tri-, tetra- și pentanucleotidice în general sunt mai rar întâlniți comparativ cu cei mono-

și dinucleotidici. Markerii sunt extrem de variabili, depind de motivul studiat, localizarea lui în genom (introni/ exoni/ 5'- și 3'- regiuni netranslate/ regiuni intergenice) și speciile incluse în cercetare [241].

De regulă, repetările trinucleotidice predomină în exoni, în schimb repetările de una, două, patru și cinci perechi de baze în gene se întâlnesc rar [241]. Acest fapt nu este surprinzător, deoarece omiterea unei sau mai multor unități trinucleotidice nu afectează periodicitatea tripleților impusă de cadrul de citire, întrucât mutațiile ce pot apărea din cauza inserțiilor/delețiilor de alte tipuri de repetări, vor duce la schimbarea completă a secvenței aminoacizilor în aval de site-ul mutant.

Un alt criteriu de caracterizare a microsateliților se referă la gradul de perfecțiune a repetărilor. Weber [248] a pus în evidență 3 clase:

1. Repetări perfecte - reprezintă repetările întregi neîntrerupte ale unui motiv;
2. Repetări imperfecte - reprezintă repetările întrerupte de una sau mai multe baze;
3. Repetări compuse - conțin repetările neîntrerupte și întrerupte.

De asemenea, Weber a demonstrat că nivelul de polimorfism obținut prin tehnica PCR pentru microsateliți  $(CA)_n$  la oameni corelează pozitiv cu numărul de repetări perfecte neîntrerupte în locusul respectiv. Aceste descoperiri au fost confirmate mai târziu prin mai multe studii la animale și plante.

**Localizare cromozomială și asocierea cu alte repetări.** Proiectele ample de cartare genetică la oameni, animale și pun în evidență faptul că repetările scurte (mai mici de 100 pb) sunt destul de uniform dispersate pe întreg genomul, chiar dacă o parte pot forma clustere individuale.

Distribuția clusterelor la plante, evident, depinde de specii. Astfel, Temnykh și colab. a observat o distribuție relativ uniformă a markerilor microsateliți la orez, în timp ce Ramsay și Li au găsit clustere dense ale markerilor microsateliți în jurul regiunilor centromerice la orz [202, 238]. Asociere predominantă cu centromeri a fost, de asemenea, raportată pentru microsateliții deosebit de lungi (de exemplu, repetări compuse din mai mult de 20 de unități de GA, AT, CA, și / sau GATA) clonate la tomate. Microsateliții clonați din secvențe de ADN supuse metilării, probabil cu un număr mic de copii la tomate a arătat același tip de asociere, în timp ce microsateliți derivați din baze de date EST sunt cartate în regiuni eucromatinice [69].

Gruparea pericentromerică a markerilor pe hărți genetice poate fi explicată prin ratele de recombinare scăzute în regiunile heterocromatinice. Acest lucru este evident în cazul cromozomilor 2A, 2B, 2D la grâu și în cazul în care markerii microsateliți sunt clusterizați în jurul centromerului pe o hartă genetică, dar au fost distribuiți uniform pe hartă fizică [204]. Cu

toate acestea, cu ajutorul hibridării fluorescente *in situ* pe cromozomi metafazici și datelor referitor la secvențe moleculare s-a demonstrat că repetările lungi (> 1 kb) de microsateliți există într-adevăr și că unele dintre acestea sunt grupate în regiuni centromerice și altele în cele heterocromatinice.

O asociere restrânsă între microsateliți și retroelemente a fost, de asemenea, raportată la plante [202], demonstrând o istorie a evoluției comune a ambelor tipuri de repetări. De exemplu, Ramsay și colab. [202] au constatat că 41% din cele 290 de clone la care este confirmată prezența secvențelor microsatelit din bibliotecile genomice a orzului îmbogățite pentru repetări dinucleotidice, de asemenea, au alte elemente repetitive a ADN-ului. La orez, microsateliții AT-bogate sunt frecvent asociați cu un transpozon din superfamilia MITE [63].

Asemănarea în aspect fizic a cel puțin unor microsateliți și retroelemente a fost demonstrată printr-o serie de tehnici de marker, folosind PCR cu combinații de perechi de primeri specifici pentru aceste două clase de repetări, de exemplu, COPIA-SSR și REMAP [208].

**Capacitatea mutațională și de evoluție a secvențelor microsatelite.** Studiile proceselor de apariție a mutațiilor în cadrul microsateliților pot fi împărțite în trei categorii [192]:

- (1) modelarea teoretică în cadrul diferitelor ipoteze;
- (2) analiza directă și caracterizarea mutațiilor *de novo* în liniile germinale;
- (3) analiza indirectă a mutațiilor cunoscute prin secvențierea comparativă a alelelor de la

loci ortologi, atât în cadrul unei specii, cât și între specii cu relații filogenetice cunoscute.

S-a dovedit, că ratele de mutații a microsateliților variază considerabil în funcție de locus, lungimea motivului ce se repetă, organism, și, uneori, alela. Valorile raportate pentru oameni, diverse animale, păsări, pești și musculițe variază de la  $5 \cdot 10^{-6}$  până la  $1,5 \cdot 10^{-2}$  mutații per locus/gamet/generație. La plante, sunt cunoscute puține date privind analiza ratelor de mutații în microsateliți. Diwan și Cregan [101] au raportat formarea de alele noi la soia, populație utilizată pentru cartare cu rată de  $2 \cdot 10^{-4}$ . Thuillet și colab. [240] a determinat aceeași rată medie  $2 \cdot 10^{-4}$  pentru 10 loci microsateliți din grâul dur, dar ratele la loci individuali au variat între zero și  $10^{-3}$ . Ratele mai mari au fost raportate pentru repetări lungi de  $(TAA)_n$  (cu  $n = 19-51$ ), în populațiile consangvinizate de năut.

Y. Vigouroux și colab. [245] a investigat ratele și *pattern*-urile mutațiilor la un număr mare de loci microsateliți în șase linii consangvinizate de porumb. O rată medie de  $7,7 \cdot 10^{-4}$  mutații per generație a fost stabilită pentru locii compuși din repetări dinucleotidice, întrucât nici o mutație directă n-a fost detectată în microsateliți cu repetări mai lungi de 2 pb.

În cadrul speciilor, variațiile în lungimea alelelor sunt cel mai des cauzate de modificarea mărimii repetării însuși. Variații la scară mică, în numărul de copii se consideră, în general, că rezultă dintr-un proces de mutații numit alunecarea enzimei de replicare sau alinierea necomplementară cauzată de alunecare [122]. Alunecarea implica alinierea necomplementară lanțului din nou replicat în timpul procesului de replicare și de cele mai multe ori rezultă câștig sau pierdere a unei singuri repetări [245]. Un proces de alunecare independentă de lungime a fost propus ca un mecanism suplimentar pentru a crea microsateliți foarte lungi [99]. Experimentele *in vitro* au arătat, că alunecarea enzimei de replicare poate determina amplificare considerabilă a unui anumit microsatelit [134]. Numărul de repetări, de obicei, este cel mai mare în organism din care repetarea a fost clonată.

Mutațiile numărului de repetări sunt considerabil reduse atunci când secvența repetată este întreruptă de către o mutație punctiformă sau altă repetare [78]. Acest lucru este probabil explicat de o mai mare posibilitate pentru alunecarea enzimei asigurată de repetări mai lungi. Primele studii privind variabilitatea microsateliților [248] au demonstrat o corelație pozitivă între nivelul de polimorfism și mărimea totală a unui microsatelit perfect. În consecință, ratele de mutație a microsateliților sunt, mai degrabă, specifice de alelă decât locus-specifice, cu rate mai mari de mutații observate în repetări mai lungi. Instabilitatea alelelor dependentă de dimensiunile ei este deosebit de pronunțată pentru anumite tipuri de repetări trinucleotidice, cum ar fi  $(CAG)_n$ ,  $(CTG)_n$  și  $(CCG)_n$ , care pot contribui la formarea conformației neobișnuite a ADN-ului în timpul replicării - concept de mutații dinamice [159].

Un număr minim de repetări este necesar pentru a iniția elongarea unei repetări prin alinierea necomplementară cauzată de alunecare. Repetări mai lungi, de asemenea, pot fi create brusc, dacă o substituție de o bază intervine în întreruperea dintre două repetări. Prin analiza unui locus microsatelit într-o pseudogenă a globinei umane, Messier și colab. au identificat o valoare prag pentru așa-numita naștere a unui microsatelit care urmează să fie ~ 5-6 repetări GT. Primmer și Ellegren [192] au arătat că extinderea dimensiunilor în timp evolutiv pot începe deja cu o repetare așa de scurtă ca  $(AG)_2$ . În schimb, așa-numita moarte a unui microsatelit se consideră inițiată de către formarea unei întreruperi.

Insertii, deleții și mutații punctiforme sunt de asemenea frecvente în regiuni ce flanchează microsateliții [62], care este principală cauză pentru transferabilitatea limitată a markerilor microsateliți între specii. Homoplazie a mărimii este un termen universal, adică, alelele cu dimensiunile identice nu neapărat sunt formate dintr-o secvență identică. Homoplazia mărimii a fost de asemenea observată în microsateliții cloroplastelor [123].

*Pattern*-urile de evoluție a microsateliților pot fi diferite între loci, unele repetări fiind relativ stabile și altele foarte instabile [192]. Astfel, procesele de mutagenază, care reglementează evoluția microsateliților sunt foarte complexe și necesită atenție deosebită atunci când markerii microsateliți sunt utilizați în studiul genetic al populației.

**Amprentarea genomică prin intermediul secvențelor microsatelite repetitive.** Microsateliții sau repetările de secvențe simple (SSR) reprezintă secvențe mono-, di-, tri-, tetra- sau penta-nucleotidice repetate în tandem și care sunt distribuite aleatoriu în genomurile eucariote [63]. Polimorfismul este evidențiat prin PCR a ADN-ului genomic total, folosind doi primeri specifici, compuși din oligonucleotide, care delimitează locusul SSR. Produsele de amplificare obținute sunt vizualizate în gel.

La plante, izolarea și clonarea microsateliților a fost pentru prima dată efectuată la câteva specii de arbori tropicali. Metodele standard pentru izolarea SSR implică: crearea unei biblioteci genomice, *screening*-ul bibliotecii prin hibridare, secvențierea ADN-ului clonelor pozitive, design-ul primerilor și analiza PCR a locilor specifici, identificarea polimorfismului. A fost arătat că numărul de microsateliți este de o variabilitate înaltă în cadrul unei specii/subspecii și între specii diferite. Datorită ratei înalte de mutații microsateliții constituie markeri moleculari cu parametrul PIC (*polymorphic information content*) cel mai înalt. Caracteristica această a promovat utilizarea microsateliților în calitate de markeri moleculari pentru amprentarea genomică – *fingerprinting*, cartarea genomului, studiile relațiilor genetice și filogenetice, selecția/ameliorarea asistată de markeri și genetica populațiilor [100, 191, 244]. În afară de polimorfismul înalt și reprezentarea largă în genomuri la eucariote, mai sunt și alte avantaje ale utilizării microsateliților în calitate de markeri moleculari - moștenirea codominantă, modalitatea ușoară de determinare a numărului de alele, accesibilitate. Aceste caracteristici au contribuit la utilizarea pe larg și dezvoltarea tehnicii respective pentru diferite specii de plante, așa ca soia *Glycine max* [76], orez *Oryza sativa* [174], porumb *Zea mays* [200], grâu *Triticum aestivum* L. [114], rapița *Brassica napus* [189], fasole *Phaseolus vulgaris* [160] ș.a.

Elaborarea markerelor SSR în număr de 1089 pentru floarea-soarelui cultivată [117, 236, 251] a contribuit la rezolvarea problemei de lungă durată cauzată de deficitul markerilor de ADN unici pentru acces public și a oferit posibilitatea de a crea harta de referință, unind hărțile genetice de lincaj elaborate independent de diferiți cercetători și de a stabili nomenclatura universală pentru grupele de lincaj. Prima hartă genetică complexă a floarea-soarelui în baza markerilor SSR a fost elaborată de Tang S. și colab. în 2002. Harta a fost elaborată în bază RIL (*recombinant inbred lines*) obținute prin încrucișarea între liniile *Rf* de floarea-soarelui oleaginoasă și cea utilizată în cofetărie (RHA280 x RHA801). Din 1089 markeri SSR descriși

de Tang și colab. (2002) și Yu și colab. (2002) 717 au manifestat polimorfism la liniile consangvinizate de elită și 408 la RHA280 x RHA801. Marcheri SSR polimorfi amplifică de la unu până la 3 loci fiecare și sunt asociați cu 462 loci SSR la RHA280 x RHA801, din care 459 loci sunt repartizați în 17 grupe de lincaj și trei n-au fost lincați. Harta genetică de lincaj a avut lungime 1368.3 cM și densitate medie de 3,1 cM per locus [236, 251].

Din literatura de specialitate sunt cunoscuți marcheri SSR linkați cu diferite gene așa ca: *stearoyl-acyl carrier protein desaturase*, ce determină cantitatea crescută a acidului oleic la floarea-soarelui [133]; *ms9* - determină sterilitatea nucleară [83]; *Tph2*, ce determină conținutul ridicat de  $\gamma$ -tocoferol [98]; *Or5*, ce determină rezistența la parazitul *O. cumana* [243] ș.a.

Deși la floarea-soarelui ambele clase de SSR studiate au fost la fel de polimorfe, coeficientul PIC pentru repetări di- și trinucleotidice a fost identic (0,53), precum și numărul alelelor per locus a fost practic identic (3,67 pentru repetări di- și 3,57 pentru trinucleotidice). Astfel, se conturează tendința de a pune accentul pe izolarea și elaborarea marcherilor SSR trinucleotidici la floarea-soarelui, deoarece cei di- și tetranucleotidici, în general, sunt situați în regiuni necodificatoare, în timp ce repetări trinucleotidice, preponderent motive bogate în GC, sunt frecvent întâlnite în regiuni codificatoare și elemente reglatoare [63, 238]. Mai mult ca atât, repetările trinucleotidice, generează *pattern*-uri mai relevante [79].

**Analiza bazelor de date genomice și selectarea primerilor SSR.** În prezent marcherii SSR sunt considerați ca cei mai eficienți, însă utilizarea acestora rămâne a fi încă limitată, reieșind din dificultatea și etapele îndelungate de elaborare a lor. Sunt două strategii generale de a identifica și elabora marcheri SSR: identificarea secvențelor cu microsateliți în bazele de date disponibile; obținerea și *screening*-ul bibliotecilor genomice cu sonde corespunzătoare secvențelor microsatelite.

Strategia selectării marcherilor SSR în bazele de date - EMBL, GenBank etc. este simplă și relativ rapidă. Este important de menționat, că în activitatea de explorare a datelor privind secvențele expresate, se poate pierde o mare parte din secvențe cu un potențial de generare a polimorfismului, deoarece microsateliții sunt, în general, prezenți în regiunile non-codificatoare ale genomului. Mai mult ca atât, în bazele de date se conține, în special, informația privind plantele de interes economic sau științific. La momentul actual sunt mai multe hărți genetice obținute în baza marcherilor SSR care pot fi accesate din Sunflower CMap Database <http://sunflower.uga.edu/cmap/> (Figura 1.1).

## Sunflower CMap Database



[CMap Home](#) | [Maps](#) | [Map Search](#) | [Feature Search](#) | [Matrix](#) | [Map Sets](#) | [Feature Types](#) | [Map Types](#) | [Evidence Types](#) | [Species](#) | [Help](#) | [Tutorial](#)

Start using CMap with one of the following options.

- [Maps](#) - Use a menu to select your starting maps
- [Map Search](#) - If the map set is quite large, the Map Search page can be quicker than sorting through menus.
- [Feature Search](#) - Search for a specific feature and display it on a map.
- [Matrix](#) - View a table of the number of correspondences between pairs of map sets and maps.
- [References](#)

For an introduction to the basic concepts of CMap, please see the [help pages](#) or the [tutorial](#).

CMap is free software from the [GMOD project](#)

Feel free to email Chris Taylor ([taylor75 at gmail dot com](mailto:taylor75@gmail.com)) with any questions.

Fig. 1.1. Pagina principală a bazei de date (<http://sunflower.uga.edu/cmap/>).

Această bancă de date stochează toate hărțile elaborate pe genomul florii-soarelui, de la cele bazate pe izoenzime și până la hărțile RFLP, AFLP, SSR etc. Totodată, sunt prezente informații și despre alte specii de floarea-soarelui, precum cele sălbatice, studiate pentru identificarea caracterelor valoroase care pot fi transferate la forma cultivată. Există posibilitatea de a selecta un anumit locus definit de careva marker, de ex. SSR, și de a vizualiza alte hărți unde acesta a mai fost identificat. Acest fapt este util în elaborarea setului de markeri, în special atunci când se caută lincajul acestora cu un caracter valoros. Pentru efectuarea căutării unui anumit locus sau QTL la o specie de floarea-soarelui pe prima pagină a bazei de date se accesează link-ul „Feature search” ([http://sunflower.uga.edu/cgi-bin/cmap/feature\\_search](http://sunflower.uga.edu/cgi-bin/cmap/feature_search)). Ulterior, în fereastra ce apare pot fi selectate setările căutării după denumirea, specie, locus sau QTL (Figura 1.2).

[CMap Home](#) | [Maps](#) | [Map Search](#) | **[Feature Search](#)** | [Matrix](#) | [Map Sets](#) | [Feature Types](#) | [Map Types](#) | [Evidence Types](#) | [Species](#) | [Help](#) | [Tutorial](#)

### Feature Search

A **feature** in CMap is any element that can be placed on a map, either as a point or an interval.

Feature names\*:

Restrict species:

Restrict feature types:

Search field:

\*Separate multiple names with commas or whitespace. Use "\*" or "%" for wildcards. To find features with spaces in the name, surround the name in double quotes, e.g., "abc 123."

Fig. 1.2. Pagina de căutare în baza de date Sunflower CMap (<http://sunflower.uga.edu/cmap/>).

După alegerea setărilor corespunzătoare se activează „Submit” și se deschide pagina cu rezultatele căutării (Figura 1.3). Rezultatele respective afișează toate seturile de hărți ce conțin locusul inclus în căutare.

**Feature Search**

A feature in CMap is any element that can be placed on a map, either as a point or an interval.

Feature names: tocs78    Restrict species: Common Sunflower    Restrict feature types: LOCUS    Search field: Name

Submit    Reset

\*Separate multiple names with commas or whitespace. Use "" or "" for wildcards. To find features with spaces in the name, surround the name in double quotes, e.g., "abc 123".

Feature Name	Feature Type	Species	Map Set	Map Name	Position	Aliases
ORS78	LOCUS	Common Sunflower	CMSH89 x ANN1298_F3_unpublished	10	14.00 cM	[View on Map] [Feature Details]
ORS78	LOCUS	Common Sunflower	Composite_Burke et al. 2004	10	20.40 cM	[View on Map] [Feature Details]
ORS78	LOCUS	Common Sunflower	Composite_Lai et al. 2005a	10	20.40 cM	[View on Map] [Feature Details]
ORS78	LOCUS	Common Sunflower	Composite_Tang et al. 2003b	10	60.70 cM	[View on Map] [Feature Details]
ORS78	LOCUS	Common Sunflower	HA370 x HA372_F2_Yu et al. 2003	10	79.30 cM	[View on Map] [Feature Details]
ORS78	LOCUS	Common Sunflower	HA370 x HA372_F2_unpublished	10	48.10 cM	[View on Map] [Feature Details]
ORS78	LOCUS	Common Sunflower	PAC2 x RHA286_RIL_Ah-Chaarani et al. 2004	10	240.70 cM	[View on Map] [Feature Details]
ORS78	LOCUS	Common Sunflower	PAC2 x RHA286_RIL_Ah-Chaarani et al. 2005	10	240.70 cM	[View on Map] [Feature Details]
ORS78	LOCUS	Common Sunflower	PAC2 x RHA286_RIL_Ah-Chaarani et al. 2007	10	99.90 cM	[View on Map] [Feature Details]
ORS78	LOCUS	Common Sunflower	PAC2 x RHA286_RIL_Kiani et al. 2007b	10	99.90 cM	[View on Map] [Feature Details]
ORS78	LOCUS	Common Sunflower	PHA x PHE_RIL_Yu et al. 2003	10	35.10 cM	[View on Map] [Feature Details]
ORS78	LOCUS	Common Sunflower	RHA280 x RHA801_RIL_(in press)	10	48.10 cM	[View on Map] [Feature Details]
ORS78	LOCUS	Common Sunflower	RHA280 x RHA801_RIL_Tang et al. 2002	10	65.90 cM	[View on Map] [Feature Details]
ORS78	LOCUS	Common Sunflower	RHA280 x RHA801_RIL_Tang et al. 2006b	10	60.60 cM	[View on Map] [Feature Details]
ORS78	LOCUS	Common Sunflower	RHA280 x RHA801_RIL_Yu et al. 2003	10	60.70 cM	[View on Map] [Feature Details]

Fig. 1.3. Rezultatele căutării în baza de date (<http://sunflower.uga.edu/cmap/>).

Sunt două opțiuni pentru vizualizarea locusului respectiv (Figura 1.4): vizualizarea unui locus căutat pe cromozom, precum și vizualizarea comparativă a hărților cu locusul analizat (se accesează link-ul „Feature Details”), după ce apare un tabel de date în care se accesează link-ul „Comparative View”.

**Reference Common Sunflower**  
RHA280 x RHA801\_RIL\_Tang et al. 2002

**Reference Common Sunflower**  
RHA280 x RHA801\_RIL\_Tang et al. 2002

**Comparative Common Sunflower**  
RHA280 x RHA801\_RIL\_Tang et al. 2006b

Feature Types:  
 QTL  
 LOCUS  
 Features in red have correspondences

Evidence Types:  
 Gene density  
 Marker name-based

Menu Symbols:

Fig. 1.4. Modalități de vizualizare a locusului căutat

În așa mod se compară localizarea unui marker SSR pe hărțile cromozomiale. O altă sursă de marcheri SSR este COMPOSITdb (<http://compositdb.ucdavis.edu/>)



<database/sungen/index.php>), care oferă oportunitatea de a realiza căutarea după denumirea markerului. Sunt prezenți cca. 200 de marcheri SSR notați prin ORSX și două modalități de căutare: după Genotip sau secvența Forward și Revers a markerului; după denumirea markerului și genotipul respectiv. Informația rezultată reprezintă un tabel cu nouă coloane: Denumirea markerului, Genotipul, Lungimea alelei, Denumirea auxiliară, Motivul repetat și lungimea, Lungimea alelei de referință, PIC și Temperatura de aliniere. În dreptul fiecărui marker identificat se află linkul, care deschide pagina cu informația despre marker.

### **1.5. Concluzii la capitolul I**

Generalizând rezultatele primului capitol menționăm că floarea-soarelui este cultura oleaginoasă de bază din Republica Moldova cu multiple aplicări practice (producerea de ulei, semințe pentru consum direct, nutreț valoros, plantă meliferă, sursă de proteine etc.), țara noastră fiind și unul din exportatorii importanți a acestei culturi în țările europene.

Actualmente suprafețele cultivate cu floarea-soarelui se extind esențial, fapt ce determină exploatarea excesivă a terenurilor, nerespectarea asolamentelor și respectiv, sporirea vulnerabilității culturii față de diverse boli, dăunători și buruiene și, drept consecință, scăderea producției. Cercetările de ultimă oră demonstrează evoluția rapidă a raselor de lupoaie, rugină și mană și extinderea acestora la nivel global, dar și pe terenurile agricole din Republica Moldova, aducând prejudicii economice considerabile.

Mai mult ca atât, în legătura cu schimbările climatice care se constată la nivel global este oportun de creat hibrizi adaptați la aceste condiții, cu perioade de vegetație diferite, care ar asigura evitarea factorilor stresogeni (biotici și abiotici) și ar garanta o productivitate constantă în diverse zone.

În acest context, *problema de cercetare* rezidă în evaluarea germoplasmei autohtone de floarea-soarelui, crearea unui material bogat pentru ameliorare și valorificarea acestuia în hibrizi înalt productivi, adaptați la condițiile factorilor abiotici și rezistenți la boli, prin utilizarea integrativă a unui complex de metode moleculare și tradiționale de ameliorare.

*Direcțiile de soluționare a problemei* trasate se rezumă la:

- crearea și evaluarea liniilor parentale de floarea-soarelui privind unele caractere cantitative de interes pentru obținerea hibrizilor comerciali competitivi;
- evaluarea fazelor fenologice la liniile parentale de interes și hibrizii de floarea-soarelui;
- identificarea polimorfismului genetic cu ajutorul marcherilor SSR;
- *screening*-ul molecular și stabilirea potențialului de rezistență specifică a resurselor genetice;
- crearea, testarea și promovarea hibrizilor valoroși.

## 2. MATERIAL ȘI METODE DE CERCETARE

În contextul constatărilor generalizate în baza literaturii de specialitate, ce vin să argumenteze actualitatea temei investigate, s-a propus valorificarea unor metode clasice și moderne de cercetare în vederea aplicării acestora în selecție și producerea de semințe. Experiențele au fost efectuate în condiții de laborator, seră și câmp.

### 2.1. Obiectul de studiu și condițiile de efectuare a cercetărilor

Investigațiile propriu-zise au fost realizate pe parcursul anilor 2010-2016, cu utilizarea unui set mare de linii de floarea-soarelui restauratoare de fertilitate-*Rf*, linii cu androsterilitate citoplasmatică (ASC), linii menținătoare de sterilitate, linii parentale în sectoarele de reproducere, linii în sectoarele de obținere a  $F_1$ , noi hibrizi experimentali și înregistrați, care au fost creați în cadrul lucrărilor ameliorative în AMG-Agroselect Comerț [10].

Setul de material biologic studiat în lucrare a cuprins 22 linii paterne *Rf* (MS-2440C, MS-2064C, MS-1942C, MS-1944C, MS-1950C, MS-2080C, MS-1985C, MS-1995C, MS-2570C, MS-2275C, MS-3470C, MS-1920C, MS-2555C, MS-2540C, MS-2203C, MS-2583C, MS-2400C, MS-2565C, MS-2005C, MS-2020C, MS-2090C, MS-2550C), 12 linii ASC, de origine diferită, 8 hibrizi  $F_1$  comerciali creați în cadrul companiei AMG-Agroselect (Tabelul 2.1.), precum și 32 combinații hibride noi. În total, în perioada menționată au fost experimentate cca 1500 combinații hibride.

Tabelul 2.1. Genotipurile de floarea-soarelui incluse în experiențe

<b>Originea genetică a liniei</b>	<b>Linii maternelle, ASC</b>	<b>Linii paterne restauratoare de fertilitate, <i>Rf</i></b>	<b>Hibrizi <math>F_1</math></b>
Surse locale	1. MS-2098A 2. MS-2039A	1. MS-2440C 2. MS-2570C	1. Doina 2. Cezar
Surse genetice europene	3. MS-2077A 4. MS-2091A 5. MS-2067A 6. MS-2026A	3. MS-1942C 4. MS-1944C 5. MS-2540C 6. MS-2203C	3. Zimbru 4. Oscar 5. Nistru 6. Talmaz
Surse genetice din colecția VNIIMK	7. MS-2073A 8. MS-2185A 9. MS-2075A 10. MS-1589A	7. MS-1920C 8. MS-2400C	7. Dacia 8. Codru
Surse genetice din colecția VIR	11. MS-2161A 12. MS-2036A	9. MS-1950C 10. MS-1995C	

Genotipurile luate în studiu diferă după grupa de maturitate, înălțimea plantelor, numărul de frunze pe plantă, mărimea calatidiului și după indicii de producție.

### ***Condițiile de cultivare***

*Amplasarea geografică a lotului experimental:* Sectorul agricol cu suprafața de 87,35 ha, din care face parte și asolamentul câmpului experimental (Figura 2.1.), este amplasat în r-nul Soroca, pe primele terase a malului drept al râului Nistru, la altitudinea de 53-77m. Relieful este o pantă cu expoziția Sud – Est, înclinarea 2-5°, întretăiat de două depresiuni mari (vâlcele) formate în rezultatul scurgerilor de apă de pe versant.



Fig. 2.1. Câmpul de selecție al companiei “AMG –Agroselect Comerț” SRL, anul 2013.

*Caracteristica chimică a solului:* Învelișul de sol este prezentat de cernoziomuri carbonatice submoderat humifere cu profil humifer puternic, profund lutoase și luto-nisipoase și de cernoziomuri carbonatice slab și moderat erodate. Reacția pH-ului în stratul arabil a sectorului agricol dat, este slab alcalină și variază de la 7,73 până la 8,02, reacție favorabilă pentru creșterea

culturilor agricole (Tabelul 2.2.). Conținutul de humus în stratul arabil a sectorului agricol variază de la 1,88% (parcele nr.11) până la 2,92% (parcelele nr. 3 și 15) și, conform clasificării, corespunde gradației *scăzut* (între 1,1-2,0%) – 15,4343 ha și *moderat* (între 2,1-3,0%) – 73,8051 ha. Variația humusului în câmp este preponderent determinată de particularitățile naturale de solificare și de gradul de eroziune. Din datele tabelului constatăm, că conținutul de azot nitric în stratul arabil este foarte scăzut (sub 0,5mg/100g sol) pe 18,8461ha și scăzut (între 0,6-1,2mg/100g sol) pe 70,3933 ha constituind 0,3-0,8mg/100g de sol.

Tabelul 2.2. Caracteristica agrochimică a solurilor terenului agricol „Egoreni”, a companiei „AMG – Agroselect Comerț” SRL, anul 2012

Numărul probei	pH	Humus, %	Azot nitric (N-NO <sub>3</sub> )	Fosfor (P <sub>2</sub> O <sub>5</sub> )	Potasiu (K <sub>2</sub> O)	Suprafața, ha
			mg/100g de sol			
1	7,85	2,55	0,38	1,7	25	2,5982
2	7,90	2,89	0,42	1,7	29	6,6144
3	7,87	2,92	0,80	1,8	30	4,2106
4	7,90	2,86	0,76	1,6	28	4,6801
5	7,82	2,82	0,72	1,4	26	5,3367
6	7,78	2,59	0,80	1,8	24	4,8949
7	7,91	2,86	0,52	1,6	29	4,4447
8	7,85	2,79	0,40	1,5	28	3,3507
9	7,89	2,77	0,72	1,6	25	4,3773
10	7,87	1,95	0,76	1,3	23	7,4913
11	8,02	1,88	0,59	0,8	21	7,9430
12	7,80	2,62	0,70	1,8	21	6,3740
13	7,73	2,69	0,30	1,6	24	6,2828
14	7,80	2,77	0,72	3,1	29	8,1526
15	7,84	2,92	0,76	3,4	27	12,4881
<b>Media</b>	<b>7,85</b>	<b>2,66</b>	<b>0,62</b>	<b>1,8</b>	<b>26</b>	<b>89,2394</b>

La momentul investigațiilor conținutul de fosfor mobil în stratul arabil de sol (0-30cm) variază de la 0,8mg (parcele nr.11) până la 3,4mg P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> în 100g sol (parcele nr.15). Conform gradației de asigurare cu fosfor parcelele sectorului agricol pot fi grupate în felul următor: foarte scăzut (sub 1,1mg/100g sol) - 7,9430 ha, scăzut (1,1-1,5mg/100g sol) – 12,8280 ha, moderat (1,6-3,0mg/100g sol) – 47,8277 ha, optimal (3,1- 4,5mg/100g sol) – 20,6407 ha.

Conform datelor statistice solurile din republică sunt bogate în potasiu. Această caracteristică se atribuie și terenului agricol studiat. Conținutul de potasiu schimbabil în stratul arabil a terenului cercetat variază între 21 - 30mg K<sub>2</sub>O în 100g sol. Conform clasificării, aceste

nivele ale potasiului schimbabil se caracterizează ca fiind optimal (20,1-30 mg pe100 g de sol ) pe 85,0288 ha și ridicat (30,1-40mg/100g sol ) pe 4,2106 ha.

*Condiții climatice:* Anul **2012** a fost în mare parte mai cald decât în mod obișnuit și cu deficit semnificativ de precipitații în perioada iunie-septembrie. Aceste condiții au contribuit la menținerea pe parcursul acestei perioade a secetei atmosferice și pedologice foarte puternice. Temperatura medie anuală a aerului a constituit în teritoriu +9,3..+11,7°C, depășind norma climatică cu 1,1-1,8°C. Cantitatea anuală a precipitațiilor căzute pe an a fost în limitele normei și a constituit pe teritoriu 444-704 mm (85-120% din normă), însă acestea au căzut foarte neuniform pe parcursul anului. Primăvara a fost scurtă, foarte caldă și cu precipitații. Vreme anomal de caldă s-a semnalat în decursul decadei a treia a lunii aprilie și în prima decadă a lunii mai. Temperatura maximă a aerului în luna aprilie (decada a treia) a urcat în teritoriu până la +30,6..+32,5°C. La situația din 28 mai, rezervele de umezeală productivă în stratul arabil al solului pe terenurile cu floarea-soarelui în fond au constituit 20-35mm (70-115% din normă), izolat – 5-15mm (15-55% din normă). Vara a fost anomal de caldă și uscată.

Temperatura medie a aerului pentru sezon a fost mai ridicată față de valorile normei cu 3,0-4,5°C și a constituit +21,7..+24,8°C. Cantitatea precipitațiilor pe parcursul perioadei de vară a constituit în țară în fond 70-145mm (35-70% din normă). Toamna a fost anomal de caldă și izolat cu deficit de precipitații. În anul 2012 media recoltei la floarea-soarelui a fost de 1,0 t/ha, cu 0,3 t/ha mai jos de media recoltei din ultimii 10 ani și cu 0,7 t/ha mai jos față de anul 2011.

Anul **2013** a fost cald și cu precipitații în limitele normei. Temperatura medie anuală a aerului a constituit în teritoriu +9,4..+11,5°C. Cantitatea anuală a precipitațiilor căzute a fost în fond în limitele normei și a constituit pe teritoriu 400-750mm (80-120% din normă). Condițiile agrometeorologice din anul 2013 au fost în fond favorabile pentru formarea recoltelor agricole înalte. La floarea-soarelui recolta a fost în medie de 2,0 t/ha, cu 0,7 t/ha mai ridicată față de media recoltei din ultimii 10 ani și cu 1,0 t/ha mai ridicată față de anul 2012.

Temperatura medie anuală a aerului în anul **2014** a constituit în teritoriu +9,3..+11,3°C, depășind norma climatică cu 1,0-1,5°C. Cantitatea anuală a precipitațiilor căzute a fost în fond în limitele normei și a constituit în teritoriu 417-729mm (85-125% din normă). În anul 2014 roada medie pe țară a fost de circa 1,6-1,8 t/ha.

Din punct de vedere meteorologic, primăvara anului **2015** a fost caldă cu precipitații, iar vara – foarte caldă și cu deficit de precipitații. Temperatura medie a aerului a constituit +21,6..+23,8°C, fiind cu 2,2-3,3°C mai ridicată față de normă. Vreme anomal de caldă și cu deficit de precipitații s-a semnalat pe parcursul lunii august. Cantitatea de precipitații pe perioada verii, pe 60% din teritoriu, a constituit 80-160 mm. Vremea anomal de caldă și cu deficit

semnificativ de precipitații, care a fost observată pe teritoriul RM, în cea mai mare parte a verii, a contribuit la seceta pedologică și a celei atmosferice. Recolta medie pe țară, prognozată de Serviciul Hidrometeorologic pentru anul 2015, constituie circa 1,4-1,6 t/ha.

Astfel, conform datelor Serviciului Hidrometeorologic de Stat [7] privind temperaturile și precipitațiile înregistrate în perioada de desfășurare a experiențelor prezentate mai sus, putem concluziona că anii 2012 și 2015 au fost nefavorabili pentru creșterea, dezvoltarea și formarea recoltei la cultura de floarea-soarelui.

**Condiții de cultivare în câmp și metode de evaluare a germoplasmei.** Semănatul lotului experimental s-a efectuat manual câte 2-3 semințe în cuib după schema de 70x25cm. În faza de 2-3 perechi de frunze adevărate s-a realizat răritul plantelor, lăsându-se câte o plantă în cuib. Pentru menținerea câmpului curat de buruiene și dezvoltarea optimă a plantelor s-a efectuat o prașă manuală și două prelucrări mecanizate între rânduri.

Schema de semănat și mărimea parcelelor a variat în dependență de scopul urmărit. Astfel, cultura comparativă a fost semănată în trei repetiții, câte 4 plante la metru liniar, pe parcele cu suprafața de 33,6 m<sup>2</sup> și 22,4 m<sup>2</sup>. Pentru crearea materialului inițial sunt semănată parcele cu suprafața de 3,5 m<sup>2</sup>, 7,0 m<sup>2</sup> și 10,5 m<sup>2</sup>, în funcție de volumul materialului de lucru utilizat și a procedurii aplicat. Pentru crearea hibridilor experimentali liniile parentale sunt semănată pe parcele de 10,5 m<sup>2</sup>, paritatea liniilor fiind de 2 ♀: 1 ♂.

Pe parcursul perioadei de vegetație a plantelor s-au efectuat observații fenologice cu notarea datelor în jurnalul de câmp: semănatul, răsărirea plantelor, începutul înfloritului (10% din plante), 50% de plante sunt înflorite, sfârșitul înfloritului (75%), coacerea fiziologică și deplină. Observațiile asupra dezvoltării bolilor s-au realizat în faza de 5-7 frunze, în perioada de înflorire în masă a plantelor și înainte de recoltare. La fel, s-au efectuat măsurări biometrice ale plantelor, așa ca: înălțimea plantelor, numărul de frunze pe o plantă, diametrul calatidiului, numărul de semințe pline pe calatidiu, masa semințelor a unui calatidiu.

Înălțimea medie a plantelor de floarea-soarelui s-a determinat în câmp, prin măsurarea tulpinii, de la nivelul solului până sub calatidiu, la 10 plante pentru fiecare lot studiat și repetiție. Numărul mediu de frunze pe plantă s-a determinat prin numărarea frunzelor de la 10 plante din fiecare repetiție.

Determinarea valorilor mărimii calatidiului s-a realizat prin măsurarea acestora la câte 10 plante luate în studiu, pentru fiecare genotip și repetiție, cu ajutorul unei rigle gradate. Numărul mediu de semințe pe calatidiu s-a apreciat prin numărarea tuturor semințelor pline din calatidiile a 10 plante, pentru fiecare număr luat în studiu și fiecare repetiție.

Determinarea ramificațiilor la liniile restauratoare de fertilitate s-a realizat prin numărarea ramificărilor la 10 plante, pentru fiecare linie și repetiție.

Determinarea greutateii semințelor a unui calatidiu a rezultat prin cântărirea acestora la balanța analitică CBA-300.

Masa a 1000 de boabe (MMB) s-a determinat în laborator, prin numărarea a două probe de câte 500 semințe și cântărirea acestora la balanța analitică CBA-300, calculul mediei între probe și înmulțirea la doi, pentru fiecare genotip și repetiție. Masa hectolitrică s-a determinat în laborator prin cântărirea a 2 probe a unui volum de un litru de semințe cu ajutorul balanței PH-3 calculând media probelor pentru 10 plante din fiecare lot luat în studiu și fiecare repetiție.

Umiditatea semințelor s-a determinat cu ajutorul higrometrului WILLE 65 prin aprecierea umidității a două probe și calculând media acestora.

Rezistența la *Plasmopara halstedii* și *Puccinia helianthi* a fost evaluată în condiții de infectare naturală în câmp, fără irigare, pe parcursul a doi ani (2013, 2014). Pentru fiecare genotip au fost analizate plantele de pe parcele cu suprafața de 22,4 m<sup>2</sup> semănate în 3 repetiții. Ținând cont de ciclul vital al patogenilor și perioada de manifestare a simptomelor de îmbolnăvire, în cazul manei observațiile au fost realizate la faza de 4-6 perechi de frunze [89], iar în cazul ruginii la faza de înflorire [71]. În cadrul experiențelor a fost înregistrat numărul de plante atacate, cât și procentul (%) de atac corespunzător fiecărei plante, determinat vizual în funcție de ponderea acoperirii suprafeței foliare cu simptomele bolii.

Datele colectate au fost incluse în formule de calcul a frecvenței (F%), intensității (I%) și gradului de atac (G.A%) [12].

**Incidența (frecvența) infecției (%)** a fost apreciată în baza raportului dintre numărul de plante la care s-au identificat simptome ale bolii și numărul total de plante analizate, conform

$$\text{formulei } F(\%) = \frac{N}{N_t} \times 100, \text{ unde} \quad (2.1)$$

N = numărul de plante atacate

N<sub>t</sub> = numărul total de plante analizate.

**Intensitatea atacului (I%)**, care reprezintă valoarea relativă a gradului de acoperire a plantei sau organului (tulpină, frunze etc.) analizat cu simptomele bolii, exprimată în procente (%) din suprafața totală a plantei / organului atacat. Intensitatea s-a notat în % pentru fiecare plantă, valoarea medie s-a calculat respectând relația:

$$I(\%) = \frac{a}{N}, \text{ unde} \quad (2.2)$$

a=suma procentelor de atac de pe toate plantele

N=numărul de plante atacate

**Gradul de atac (G.A. %)** s-a calculat după formula:

$$G.A.(%) = \frac{F(\%) \times I(\%)}{100} \quad (2.3)$$

În cazul în care gradul de atac a fost mai mic decât 1,0, plantele s-au considerat rezistente față de patogen, iar în cazul în care valoarea G.A. a depășit această cifră, plantele au fost considerate sensibile [12].

Pentru a aprecia rezistența la diverse boli (*Phomopsis helianthi*, *Sclerotinia sclerotiorum*), precum și cădere, frângere a fost utilizată scara de notare de la 1 la 9, recomandată de către comisia de testare, după cum urmează: nota 1 (atac/frângere/cădere foarte puternică – 76-100%), nota 3 (atac/frângere/cădere medie – 51-75%), nota 5 (atac/frângere/cădere slabă – 26-50%), nota 7 (atac/frângere/cădere foarte slabă – 11-25%), nota 9 (cazuri unice de atac/frângere/cădere – 0-10%) [24].

**Condițiile de cultivare în seră.** Cultivarea floare-soarelui în seră este utilizată pentru testarea sterilității liniilor androsterile, testarea rezistenței materialului de selecție la lupoai și reducerea procesului de ameliorare, prin obținerea unei generații suplimentare.

În seră semințele de floarea-soarelui sunt semănate în lăzi cu dimensiunea de 60x40 cm umplute cu sol și nisip în raportul de 4:1 (Figura 2.2).







Fig. 2.2. Cultivarea în condiții de seră.â

În dependență de scopul urmărit, în ladă se seamănă un anumit număr de semințe, după o anumită schemă. Regimul de temperatură, lumină și umiditate se stabilește în funcție de perioada de semănat și obiectivul testării.

## 2.2. Metode clasice de ameliorare utilizate în studiu

Metodele de ameliorare reprezintă activități fundamentate științific, care prevăd sporirea calitativă și cantitativă a indicilor economici importanți specifici genotipului. Metodele de selecție a plantelor pot fi clasificate după *modul de apreciere a materialului* de selecție (selecție fenotipică, selecție genotipică), după *modul cum se repetă alegerea* (selecție simplă; selecție repetată; selecție recurentă - alternarea alegerii elitelor cu autopolenizarea), după *modul de studiere a elitelor și descendențelor* acestora (selecția în masă, selecția individuală, selecția liniară, selecția pe familii, selecția pe grupe, selecția mixtă) [20].

În programele de ameliorare la floarea-soarelui pentru obținerea materialului inițial valoros și crearea în baza lui a hibrizilor înalt productivi, cu rezistență sporită la patogeni, plastici la condițiile de mediu și de cultură au fost utilizate majoritatea metodelor specifice plantelor alogame, inclusiv *metode clasice sau convenționale* (selecția, hibridarea, consangvinizarea) și *metode noi sau neconvenționale* (tehnologiile ADN), care au servit atât pentru evaluarea zestrei genetice, cât și pentru diversificarea acesteia.

**Selecția** este o metodă de ameliorare care nu induce diversitate genetică, dar ordonează garnitura ereditară. Această metodă este prezentă în orice program de ameliorare și constă în studierea germoplasmei existente și înmulțirea genotipurilor cu însușiri fenotipice valoroase.

**Selecția recurentă** prezintă o metodă de ameliorare în care alegerea elitelor alternează cu autopolenizarea. Această metodă se aplică cu succes în ameliorarea floarii-soarelui, constă din mai multe cicluri de triere, autopolenizări și încrucișări în scopul creșterii concentrației de gene sau a combinațiilor de gene favorabile în materialul de ameliorare. În funcție de procedeele de selecție și acțiunea genelor, selecția recurentă la floarea-soarelui este fenotipică și genotipică. Aplicarea acestei metode are ca scop crearea de noi surse genetice pentru rezolvarea diferitor obiective ale programului de ameliorare.

**Selecția individuală repetată** sau metoda *pedigree*-ului s-a bazat pe alegerea repetată în mod individual a elitelor în fiecare generație de selecție, în funcție de valoarea descendentelor pentru a extrage linii homozigote cu o bază ereditară cât mai îngustă, care să confere în descendentă o variabilitate mai mare.

**Hibridarea intraspecifică** este o metodă de ameliorare care induce diversitatea genetică și se folosește pe larg în ameliorarea floarii-soarelui pentru diversificarea bazei genetice. Prin încrucișarea plantelor de floarea-soarelui de diferită origine, cu caracteristici valoroase se formează un material inițial nou, respectiv este sporită diversitatea genotipurilor pentru selecție, ceea ce permite obținerea genotipurilor ce întrunesc în sine însușirile valoroase dorite ale genitorilor. Utilizarea pe larg a hibridării intraspecifice în cadrul programelor de ameliorare a floarii-soarelui se datorează simplității și eficacității acestei metode.

**Consangvinizarea** prezintă o metodă de ameliorare aplicată pentru îmbunătățirea genotipurilor de floarea-soarelui și constă în autofecundarea forțată a plantelor mai mulți ani consecutivi. Efectul consangvinizării este dat de obținerea genotipurilor noi, homozigote, ca urmare a segregării populației inițiale în biotipuri constituențe. Prin alegerea și consangvinizarea repetată a plantelor obținem linii consangvinizate de floarea-soarelui cu caractere noi valoroase.

**Heterozisul** reprezintă un fenomen extrem de prețios și benefic ce se folosește în ameliorarea floarii-soarelui pentru sporirea producției. Prin heterozis se înțelege superioritatea hibridilor din prima generație în privința uneia sau mai multor caracteristici în comparație cu părinții homozigoți. Este cea mai efektivă metodă de sporire a productivității, rezistenței și a adaptabilității hibridilor de floarea-soarelui de prima generație obținuți în urma încrucișării liniilor consangvinizate valoroase [5, 6, 17, 20].

**Testul la distinctivitate, uniformitate și stabilitate (DUS)** este realizat obligatoriu în vederea descrierii hibridilor nou creați și care prezintă interes pentru a se solicita admiterea în Catalogul soiurilor de plante. Analiza hibridului candidat și a liniilor parentale se efectuează după metoda UPOV (Uniunea Internațională pentru Protecția Noilor Soiuri), referință Ghiduri

pentru conducerea examinărilor caracterelor de distinctivitate, uniformitate și stabilitate, Document TG/81/6 din 05.04.2000 [166].

### 2.3. Metode moleculare de cercetare

*Purificarea și determinarea calității și cantității ADN-ului.* Extragerea ADN-ului s-a realizat din trei plantule de floarea-soarelui (probe *bulk*) cu folosirea setului de reagenți GeneJET Plant Genomic DNA Purification Mini Kit (*Thermo Scientific*).

Pentru extragerea probelor de ADN individuale din 100 de plantule a liniilor ASC, supuse analizei prezenței genei *orfH522* s-a utilizat metoda de extragere cu reagentul CTAB standart [104] cu unele modificări. Incubarea a fost efectuată la temperatura de 65°C timp de o oră. Pentru purificarea ADN-ului s-au folosit spălări cu soluții de cloroform:alcool isoamilic (24:1), alcool isopropilic și alcool etilic 70%. ADN-ul a fost solubilizat în 30 μl apă sterilă. Probele extrase au fost cuantificate prin electroforeza în gel de agaroză 1% și măsurare spectrofotometrică. Estimarea calității/purității probelor a fost efectuată prin calcularea raportului λ260/λ280, care a fost în limita valorilor 1,6 – 2,0, iar conținutul ADN în probă a variat între 230-800ng/μl.

*Analiza polimorfismului genetic în baza markerilor microsateliți (SSR).* Analiza SSR a fost realizată cu ajutorul a 10 perechi de primeri din seria ORS (ORS31, ORS203, ORS204, ORS240, ORS 254, ORS328, ORS653, ORS805, ORS1035 și ORS1242) (Tabelul 2.3.) [106].

Tabelul 2.3. Particularitățile primerilor incluși în cercetare

Denumirea markerului	L, pb	Tipul de repetare	Secvența nucleotidică sens	Secvența nucleotidică antisens	T <sub>m</sub>
ORS31	286	(AAG) <sub>10</sub>	aattcatgccccaagagatg	cacaattcatgcatttctctgg	52
ORS203	264	(AC) <sub>4</sub> N <sub>11</sub> (CA) <sub>5</sub> N <sub>2</sub> (CA) <sub>5</sub>	gcccaagatgtgaagcgaatg	gtcagaacaggaccgaaccact	52
ORS204	312	(GT) <sub>17</sub>	cgtctggcattatgaaatcgtc	ccgcataacagcaatggtaaac	52
ORS240	259	(GCG) <sub>6</sub>	ggtgatgatggaggagcaactg	cactcaaccattgttctccac	52
ORS254	386	(TACA) <sub>25</sub>	aaatcccacttcatacaaacgt	ccttcagtgtcatgcagtg	51
ORS328	271	(ACAAC) <sub>34</sub>	gacctgtaggccaatatgagactt	ttataccggtgttgcctatcc	57
ORS653	312	(CT) <sub>15</sub>	caccaccaagaaccctaga	ccgatacataccatagccgatt	60
ORS805	276	(AG) <sub>20</sub>	catggattataagaacgggtgtt	aatcccaggggtaaaattgc	57
ORS1035	321	(CT) <sub>13</sub>	caacccaacttctctcataacc	agggetgatattcacttcacaca	59
ORS1242	269	(CT) <sub>14</sub>	gcaatcgttctactctccattc	tggtcgtagaattgtcggcat	59

Amplificarea s-a realizat în amestec de reacție cu următoare componentă: soluție tampon 1x, dNTP 200μM, MgCl<sub>2</sub> 2,5mM, 0,75U DreamTaq Green DNA Polymerase (*Thermo Scientific*), 0,4μM de fiecare primer, ADN 50ng. Volumul reacției a constituit 15μl. Programul

de amplificare Touch-Down PCR a inclus următoarele etape: 95°C – 3 min; 8 cicluri la 95°C – 30 sec, 62°C ↓ 55°C – 30 sec (-1°C/ciclu), 72°C – 45 sec; 30 de cicluri – 95°C – 30 sec, 54°C – 30 sec, 72°C – 45 sec; 72°C – 5 min. Electroforeza produselor de amplificare a fost realizată în gel de PAA (poliacrilamidă) de 6% cu utilizarea markerului Gene Ruler100pb DNA Ladder (#SM0241) în tampon TBE (Tris-borat EDTA).

*Analiza PCR cu primeri specifici. Screening-ul molecular în baza PCR cu primeri specifici a fost efectuat pentru genele orfH522, R1, Pl6. Condițiile de realizare a reacției de amplificare sunt arătate în tabelul 2.4. Ampliconii au fost vizualizați în gel de agaroză de 1% utilizând soluție tampon TAE (Tris-acetat EDTA).*

*Analiza CAPS pentru evidențierea prezenței genei P11. Analiza CAPS a fost realizată în două etape – amplificarea și scindarea enzimatică a ampliconului obținut. Amplificarea a fost efectuată în volum de 20μl a mediului de reacție: tampon 1x, dNTP 200μM, MgCl<sub>2</sub> 2,5mM, 1,0U DreamTaq DNA Polymerase (Thermo Scientific), 0,3μM de fiecare primer și 50ng ADN. Pentru reacția de amplificare a fost utilizat amplificatorul GeneAmp® PCR System 9700 (Applied Biosystems). Fragmentul amplificat a fost supus digestiei cu enzima FastDigest Tsp509I (TasI) (Thermo Scientific) conform recomandărilor producătorului timp de 5 min la temperatura de 65°C. Vizualizarea fragmentelor după digestie s-a efectuat în gel de PAA de 8% în soluție tampon TBE.*

Tabelul 2.4. Condițiile de efectuare a PCR

		Genele incluse în screening		
		<i>orfH522</i>	<i>R1</i>	<i>Pl6</i>
Componența amestecului de reacție	Soluție tampon	1x	1x	1x
	dNTP, mM	0,2	0,2	0,2
	MgCl <sub>2</sub> , mM	2,0	2,5	2,5
	Taq Green DNA Polymerase (Thermo Scientific)	1,0	1,0	1,0
	Primeri, μM	0,5	0,5	0,4
	ADN, ng	50	50	50
	Volumul reacției, μl	15	15	15
Programul de amplificare	Denaturarea inițială	95°C – 3 min	95°C – 4 min	95°C – 3 min
	Denaturarea	95°C – 30s	95°C – 30s	95°C – 20s
	Alinierea primerilor	60°C – 30s	69°C – 30s	59°C – 30s
	Elongarea	72°C – 20s	72°C – 1min	72°C – 2min
	Numărul de cicluri	30 cicluri	35 cicluri	35 cicluri
	Elongarea finală	72°C – 3min	72°C – 3min	72°C – 3min

Analizele moleculare au fost realizate în cadrul Centrului de Genetică Funcțională a Universității Academiei de Științe a Moldovei, sub ghidarea dnei acad. Duca Maria, beneficiind de implicarea și consultanța personalului științific al centrului.

#### **2.4. Metode de analiză statistică a datelor**

Datele obținute în cadrul cercetărilor au fost supuse prelucrării statistice în programul computerizat Excel, în baza calculelor propuse de Dosphehov [32], prin calcularea următorilor parametri: media aritmetică  $\bar{x}$ , varianța  $s^2$ , abaterea medie pătratică  $s$ , coeficientul de variație  $V$ .

#### **2.5. Concluzii la capitolul 2**

A fost prezentat și caracterizat materialul de studiu constituit dintr-o gamă largă de genotipuri de floarea-soarelui: linii restauratoare de fertilitate-*Rf*, linii cu androsterilitate citoplasmatică (ASC), linii menținătoare de sterilitate, linii parentale în sectoarele de reproducere, linii în sectoarele de obținere a  $F_1$  incluse în programele de ameliorare și caracterizate prin caractere de performanță, cât și hibridi experimentali și comerciali.

Pentru descrierea variabilității au fost utilizate metode clasice (hibridare intraspecifică, heterozis, consangvinizare) și moderne de cercetare: spectrofotometria, electroforeza în gel de agaroză și PAA în condiții nednaturante, PCR-ul, digestia enzimatică. *Screening*-ul molecular a genelor utile s-a realizat folosind markerii de tipul SSR, SCAR, CAPS.

### **3. CARACTERISTICA FENOLOGICĂ, MORFOLOGICĂ ȘI AGRONOMICĂ A MATERIALULUI AMELIORATIV**

În programele de ameliorare variabilitatea germoplasmei joacă un rol deosebit. Prin diversificarea bazei genetice a germoplasmei din cadrul programelor de ameliorare la floarea-soarelui pot spori șansele de progres genetic pentru a face față cerințelor crescânde în raport cu productivitatea, calitatea producției și rezistența, precum și schimbările climatice prognozate de specialiștii în domeniu. Pentru cunoașterea caracteristicilor de bază a colecției de floarea-soarelui, a genelor valoroase, precum și a celor care creează dificultăți în procesul de ameliorare, materialul inițial a fost supus unui studiu complex în câmpurile de colecție, care a durat cel puțin 3-4 ani.

Diversificarea germoplasmei de floarea-soarelui și crearea hibrizilor competitivi de importanță majoră s-a axat pe studiul fazelor de dezvoltare și a transformărilor pe care le suferă plantele pe parcursul fiecărei faze, a resurselor de rezistență la boli și dăunători, precum și a indicilor de productivitate.

#### **3.1. Crearea și evaluarea materialului inițial de ameliorare autohton**

Realizarea unor genotipuri performante pentru fiecare din etapele parcurse a fost condiționată de mai mulți factori dintre care un rol primordial l-a avut crearea unei variabilități genetice suficient de ample bazată pe o configurație genetică cât mai diversă. În cadrul programelor de ameliorare a florii-soarelui, aplicate în decursul ultimilor 10 de ani la Agroselect, Soroca principalele obiective au fost axate pe obținerea genotipurilor cu performanțe superioare privind capacitatea de producție, perioada de vegetație, comportamentul față de boli și dăunători etc. Un rol aparte în crearea liniilor de floarea-soarelui l-au avut hibrizii autohtoni și colecția de genotipuri locale, a căror putere de adaptare la condițiile climatice este cunoscută.

Totodată, în crearea liniilor autohtone s-a valorificat germoplasma obținută prin schimb de material biologic cu alte centre științifice și germoplasma hibrizilor străini de performanță, care a avut drept obiectiv incorporarea unor caractere sau însușiri complementare în materialul ameliorativ autohton și obținerea unor linii distanțate genetic.

În lucrare sunt prezentate rezultatele studiului în câmp și laborator a unor linii consangvinizate de perspectivă (linii consangvinizate cu androsterilitate citoplasmatică (linii A), linii consangvinizate, menținătoare de sterilitate (linii B), linii restauratoare de fertilitate (linii Rf)) create în procesul de ameliorare pe parcursul a mai multor ani consecutivi și formate din

diverse surse genetice cu origine diferită în cadrul laboratorului de ameliorare al companiei AMG- Agroselect Comerț SRL, Soroca, cu contribuția autorului.

### **3.1.1. Crearea și evaluarea liniilor materne**

Alegerea materialului de selecție pentru crearea liniilor materne consangvinizate s-a realizat în dependență de scopul propus, de originea materialului și caracteristica însușirilor de producție, de rezistență, morfologice și fiziologice care le îmbină. Astfel, în elaborarea liniilor consangvinizate materne extragerea genelor valoroase s-a efectuat nu doar din sursele autohtone, dar și din materialul unor companii străine prezente pe piața locală.

În urma hibridării formelor alese au fost obținuți hibrizi noi cu o variabilitate genetică largă. Prin autopolenizarea hibrizilor a fost obținută generația segregantă  $F_2$ , care a stat la baza procesului propriu zis de selecție a liniilor consangvinizate. Ulterior, descendențele obținute au fost supuse consangvinizării, urmată de mai multe cicluri de selecție recurentă fenotipică. Selecția s-a realizat atât între descendenți, cât și în cadrul acestora. După 4-5 generații de consangvinizare și selecție liniile au devenit uniforme și stabile. La următoarea fază, după alegerea liniilor distinctive, uniforme și stabile, s-a testat capacitatea lor combinativă, iar acele linii care au prezentat combinații performante au fost înmulțite.

Prin 5-6 cicluri de *backcross*-uri a liniilor materne androfertile performante de floarea-soarelui, selectate anterior, se obțin analogi sterili care sunt utilizați la crearea hibrizilor comerciali valoroși. Pentru grăbirea procesului de ameliorare și obținerea unei generații suplimentare în același an s-a practicat cultivarea în seră.

Se cunoaște că valoarea genetică a liniilor consangvinizate de floarea-soarelui este determinată de sursa de germoplasmă din care sunt extrase, de metodele de selecție aplicate în generațiile succesive de consangvinizare, precum și de capacitatea de combinare exprimată în heterozisul realizat. Din aceste considerente, s-a realizat un studiu comparativ al unor linii consangvinizate extrase din germoplasma autohtonă, europeană, precum și din germoplasma soiurilor VNIIMK și colecția VIR.

Pentru analiza comparativă a influenței provenienței genetice a liniei asupra unor indicatori agronomici importanți, din fiecare sursă de germoplasmă au fost selectate câte 2 linii consangvinizate, care în testările din perioada anilor 2011-2012 s-au dovedit a fi cele mai uniforme și mai de perspectivă pentru zona regiunii Soroca.

Pentru a aprecia rezistența la un șir de factori biotici și abiotici a fost utilizată scara de notare de la 1 la 9 (Tabelul 3.1). Rezultatele demonstrează că liniile materne provenite din surse locale și europene prezintă rezistență la atacul de *Phomopsis* și la frângere, pe când liniile care

provin din resursele genetice ale colecției VNIIMK indică sensibilitate la indicatorii menționați, dar sunt rezistente la atacul putregaiului alb. Șapte linii din cele opt prezente demonstrează plasticitate ecologică sporită, excepție constituind linia MS-2036A, care își are originea din colecția VIR. Liniile MS-2077A și MS-2091A ce provin din resursele genetice europene sunt caracterizate printr-un grad înalt de autofertilitate, ce constituie 75% .

Tabelul 3.1. Caracteristica unor linii ASC cu origine genetică diferită.

Originea genetică a liniei	Linia	Rezistența la <i>Phomopsis helianthi</i> , notă	Rezistența la <i>Sclerotinia sclerotiorum</i> , notă	Rezistența la frângere și cădere, notă	Plasticitatea ecologică, notă	Autofertilitatea, %
Surse locale	MS-2098A	9	9	7	9	60
	MS-2039A	9	7	9	9	70
Surse europene	MS-2077A	9	9	9	9	75
	MS-2091A	9	7	9	9	75
Surse din colecția VNIIMK	MS-2073A	7	9	7	9	60
	MS-2185A	7	9	7	9	60
Surse din colecția VIR	MS-2036A	9	7	9	7	60
	MS-2161A	7	9	9	9	65

Pentru obținerea materialului semincer de calitate superioară, accentul se pune pe valorificarea diversității genetice, dezvoltarea hibridilor cu creștere viguroasă (efect heterozis) folosind sisteme ASC-*Rf* (*androsterilitate citoplasmatică – restaurare de fertilitate*), dezvoltarea și adaptarea culturii de floarea-soarelui.

Implicarea markerilor moleculari în procesul de ameliorare a plantelor permite realizarea eficientă și rapidă a programelor de selecție. În acest context evaluarea gradului de sterilitate la formele maternelor s-a realizat îmbinând tehnicile biologiei moleculare cu testările de câmp (Figura 3.1). Androsterilitatea poate fi evaluată cu succes cu ajutorul tehnicii PCR în baza primerilor specifici datorită prezenței secvenței *orfH522* în genomul mitocondrial, ceea ce permite estimarea gradului de sterilitate în germoplasma de floarea-soarelui (Figura 3.2).

Dat fiind faptul că rezultatul obținut indică doar prezența restructurării în genomul mitocondrial, acesta nu permite diferențierea genotipurilor. Astfel, deoarece materialul genetic citoplasmatic se transmite de la linia maternă, genotipurile hibride trebuie la fel să se caracterizeze prin prezența ampliconului. Testările în câmp au demonstrat un grad de sterilitate între 99,9 și 100 % pentru liniile cercetate (Tabelul 3.2, Figura 3.1).

Conform analizelor moleculare, primerii utilizați generează un amplicon de 321 pb care demonstrează sterilitatea plantei. Datele obținute au pus în evidență ampliconul așteptat la toate



probele analizate. Cinci dintre cele șase linii materne (MS-2077A, MS-2067A, MS-2098A, MS-2039A, MS-1589A) prezintă un nivel maxim (100 %) de sterilitate (Figura 3.2). Datele obținute corelează perfect cu cele din câmp (Tabelul 3.2).



Fig. 3.1. Aspectul exterior al inflorescenței la genotipurile studiate.

Pentru linia MS-2091A, gradul de sterilitate estimat în laborator a constituit 99,0 %, fiind mai mic cu 0,9% comparativ cu cel determinat în câmp. Diferența stabilită nu depășește limita semnificativă a erorilor, astfel, fiind demonstrat că aceste metode pot fi utilizate separat sau complementar pentru estimarea nivelului de sterilitate a genotipurilor.

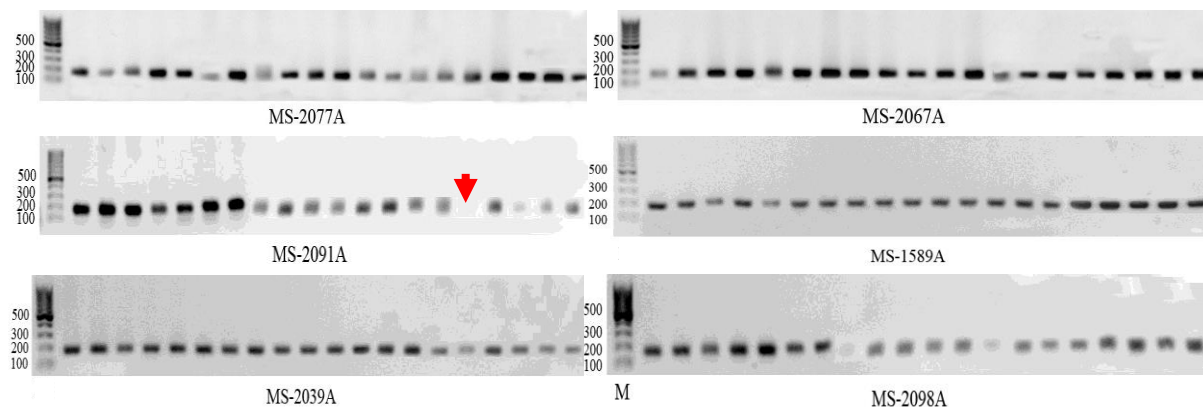


Fig. 3.2. Gradul de sterilitate a liniilor materne evaluat în laborator (se prezintă rezultatele pentru 20 de plante din cele 100 analizate)

Tabelul 3.2. Gradul de sterilitate evaluat în condiții de câmp

Nr.	Genotipul	Gradul de sterilitate evaluat în câmp, %	Gradul de sterilitate evaluat în laborator (100 plantule), %
1.	MS – 2077A	99,9	100
2.	MS – 2067A	100	100
3.	MS – 2091A	99,9	99,0
4.	MS – 1589A	100	100
5.	MS – 2039A	100	100
6.	MS – 2098A	100	100

S-a constatat că primerii specifici implementați pot fi utilizați cu succes în stabilirea prezenței androsterilității citoplasmice la liniile de floarea-soarelui. Reușita aplicării unor astfel de mecanisme de control în programele de selecție asigură utilizarea cu succes a plantelor cu ASC ca un mijloc relativ ieftin de obținere a hibrizilor înalt productivi cu puritate înaltă [21, 94].

### 3.1.2. Crearea și evaluarea liniilor paterne

Crearea liniilor restauratoare de fertilitate a fost o preocupare majoră în procesul de ameliorare. În acest scop am folosit resursele genetice provenite preponderent din liniile restauratoare conservate în colecția VIR, precum și din hibrizii autohtoni și străini, care s-au plasat în condițiile climatice din Republica Moldova.

Obținerea liniilor restauratoare de fertilitate a fost impusă de utilizarea androsterilității citoplasmice în crearea hibrizilor, ce au menirea să restaureze fertilitatea polenului la hibrizii de prima generație. Din aceste considerente liniile *Rf* trebuie să restaureze în proporție de 100% fertilitatea hibrizilor  $F_1$ , să posede o bună capacitate de combinare, să fie rezistenți la boli și condițiile de stres și să asigure polenizarea liniilor materne ASC în sectoarele de hibridare.

La fel ca în cazul liniilor materne, drept obiectiv a servit crearea unui set de linii de restaurare a fertilității valoroase cu capacitate de combinare sporită necesare în obținerea hibrizilor competitivi. Crearea liniilor paterne de floarea-soarelui s-a bazat pe cicluri repetate de autopolenizări și selectare a liniilor *Rf* în cadrul hibrizilor autohtoni și de selecție străină cu utilizarea cultivării în seră în scopul obținerii unor generații suplimentare (Figura 3.3).

Prezența genelor de restaurare a fertilității în germoplasma liniilor selectate s-a testat prin încrucișarea lor cu un test bine cunoscut și verificarea nivelului de restaurare a fertilității prin examinarea și notarea numărului de plante fertile și sterile pe fiecare parcelă. Capacitatea combinativă a liniilor s-a determinat prin *topcross*.



Fig. 3.3. Accelerarea procesului de creare a liniilor restauratoare de fertilitate prin cultivarea în seră.

Întrucât liniile cu genele *Rf* provin din speciile sălbatice de floarea-soarelui, liniile restauratoare pot moșteni concomitent cu aceste gene și factorii ereditari care determină ramificația tulpinii centrale. După descriptorii IBPGR, 1985 [137] ce țin de arhitectonica lor, liniile de floarea-soarelui care conțin genele *Rf* pot avea patru tipuri de ramificare a tulpinii (Figura 3.4).

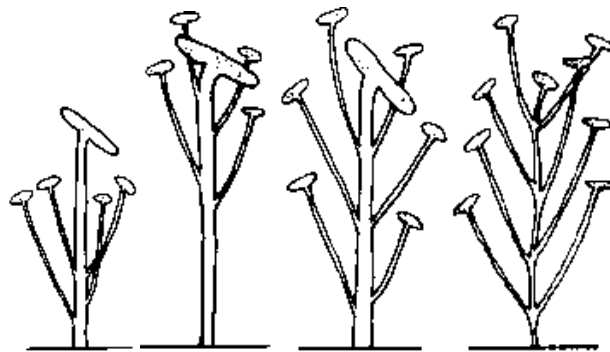


Fig. 3.4. Tipuri de ramificare a tulpinii la floarea-soarelui [137].

1.-Ramificare bazala. 2.-Ramificare apicala. 3.-Ramificare completă cu capitul central.  
4.-Ramificare completă fara capitul central.

Datele din tabelul 3.3. și figura 3.4 demonstrează, ca liniile paterne provenite din sursele locale se caracterizează prin ramificare apicală a tulpinii, iar cele provenite din colecția VNIIMK - prin ramificare completă cu capitul central. Liniile provenite din resurse genetice europene și colecția VIR prezintă două tipuri de ramificare.

Tabelul 3.3. Caracteristica unor linii *Rf* cu origine genetică diferită

Originea genetică a liniei	Linia	Înălțimea plantei, m	Numărul de ramificații per plantă	Tipul de ramificare	Grupa de maturitate
Surse locale	MS-2440C	1,30 – 1,40	7	apicală	medie
	MS-2570C	1,42 – 1,49	14	apicală	semitimpurie
Surse genetice europene	MS-1942C	1,51 – 1,65	15	apicală	medie
	MS-1944C	1,00 – 1,10	13	completă cu capitul central	medie
Surse genetice din colecția VNIIMK	MS-1920C	0,75 – 0,92	15	completă cu capitul central	timpurie
	MS-2400C	1,40 – 1,45	12	completă cu capitul central	tardiva
Surse genetice din colecția VIR	MS-1950C	1,00 – 1,09	10	apicală	semitimpurie
	MS-1995C	1,30 – 1,40	14	bazală	medie

Conform rezultatelor obținute se evidențiază linia MS-1920C (din colecția VNIIMK) cu talia plantei joasă, dar care dezvoltă un număr mare de ramificații și linia MS-2440C (din surse locale) cu talie înaltă și cel mai mic număr de ramificații.

Totodată trebuie de menționat că toate liniile incluse în tabel reprezintă linii paterne de perspectivă, care se utilizează la crearea hibrizilor experimentali și care demonstrează prezența genelor *Rf* în stare homozigotă, fapt dovedit de restaurarea în proporție de 100% a fertilității polenului în generația  $F_1$ .

### 3.1.3. Crearea și evaluarea hibrizilor

Rezultatul final al programelor de ameliorare la floarea-soarelui constă în obținerea hibrizilor cu randament mare de producție, rezistenți la boli, dăunători, lupoaie și condițiile de stres, plastici la condițiile pedologice și de cultură.

Crearea hibrizilor de floarea-soarelui s-a realizat prin încrucișarea liniilor consangvinizate ce au demonstrat însușiri valorase în procesul de ameliorare. Pentru obținerea hibrizilor valoroși se solicită respectarea următoarelor condiții:

- alegerea liniilor parentale valoroase;
- asigurarea coincidenței perioadei de înflorire;
- alegerea plantelor participante la hibridare.

**Alegerea liniilor parentale** de floarea-soarelui se stabilește în funcție de obiectivele urmărite în programul de ameliorare. Pentru obținerea hibrizilor ce întrunesc însușiri valoroase un prim criteriu îl constituie alegerea corectă a formelor parentale care trebuie să posede cât mai multe caractere agronomic valoroase. În acest sens, este nevoie de o cunoaștere detaliată a caracterelor și însușirilor pe care le posedă liniile consangvinizate. Pentru obținerea unor hibrizi

valoroși este necesar să se folosească drept forme parentale linii obținute din surse genetice de diferită origine, genetic distanțate.

**Asigurarea coincidenței de înflorire.** O importanță majoră pentru reușita hibridării o constituie și coincidența perioadei de înflorire a formelor parentale. În funcție de coincidența sau decalajul etapei de înflorire a liniilor consangvinizate se efectuează semănatul concomitent sau decalat al liniilor parentale.

**Alegerea plantelor participante la hibridare.** Pentru hibridare se aleg plantele sănătoase, viguroase cu calatidii bine dezvoltate, care exteriorizează mai bine caracterele și însușirile sale valoroase.

Analizând productivitatea combinațiilor hibride obținute din încrucișarea liniilor provenite din resurse locale, europene și din colecția VNIIMK constatăm, că indicii ce asigură recolta sunt influențați de capacitatea de combinare a liniilor, dar nu de sursa de proveniență a acestora (Tabelul 3.4.). Productivitatea genotipurilor analizate variază între 2,66-3,19 t/ha, cu indici maximali (3,08-3,19 t/ha), ce depășesc martorul cu cca 6-10%, remarcați în cazul combinațiilor *MS-3 x Rf-4*, *MS-4 x Rf-5* și *MS-5 x Rf-5*.

Tabelul 3.4. Productivitatea realizată de combinațiile hibride obținute din încrucișările liniilor consangvinizate din trei surse de germoplasmă

Originea	Combinația hibridă	Proveniența	Recolta medie, t/ha	% față de martor
Resurse locale	<i>MS-2 x Rf-1</i>	R.L. x R.L.	2,93	100,6
	<i>MS-3 x Rf-1</i>	R.L. x R.L.	2,90	99,8
	<i>MS-2 x Rf-4</i>	R.L. x R.L.	2,94	101,2
	<i>MS-3 x Rf-4</i>	R.L. x R.L.	3,08	105,7
Resurse europene	<i>MS-4 x Rf-5</i>	R.E. x R.E.	3,19	109,6
	<i>MS-5 x Rf-5</i>	R.E. x R.E.	3,17	109,0
	<i>MS-6 x Rf-5</i>	R.E. x R.E.	2,87	98,5
	<i>MS-4 x Rf-6</i>	R.E. x R.E.	2,15	74,0
Resurse VNIIMK	<i>MS-1 x Rf-10</i>	VNIIMK x VNIIMK	2,66	91,4
Hibrid local (martor)	Doina	AMG-Agroselect	2,91	100,0

Analiza valorilor privind masa la 1000 de boabe (MMB), realizată de combinațiile hibride pun în evidență două combinații de origine autohtonă (*MS-2 x Rf-1* și *MS-3 x Rf-1*) ce prezintă valori maxime, depășind martorul cu 25-35,6% și două combinații cu valori inferioare probei de referință. Hibrizii obținuți din sursele europene și cei din colecția VNIIMK depășesc martorul după acest caracter cu cca 7,7-23,9%, excepție constituind combinația *MS-4 x Rf-5* cu valori cu 32,4% mai înalte ca martorul (Tabelul 3.5.).

Tabelul 3.5. Masa a 1000 de semințe realizată de combinațiile hibride obținute din încrucișările liniilor consangvinizate din trei surse de germoplasmă

Originea	Combinația hibridă	Proveniența	MMB, g	% față de martor
Resurse locale	MS-2 x <i>Rf</i> -1	R.L. x R.L.	64,9	125,0
	MS-3 x <i>Rf</i> -1	R.L. x R.L.	70,4	135,6
	MS-2 x <i>Rf</i> -4	R.L. x R.L.	50,4	97,1
	MS-3 x <i>Rf</i> -4	R.L. x R.L.	51,6	99,4
Hibridi europeni	MS-4 x <i>Rf</i> -5	R.E. x R.E.	68,7	132,4
	MS-5 x <i>Rf</i> -5	R.E. x R.E.	64,3	123,9
	MS-6 x <i>Rf</i> -5	R.E. x R.E.	61,8	119,1
	MS-4 x <i>Rf</i> -6	R.E. x R.E.	55,9	107,7
Resurse VNIIMK	MS-1 x <i>Rf</i> -10	VNIIMK xVNIIMK	58,2	112,1
Hibrid local (martor)	Doina	AMG-Agroselect	51,9	100

Analiza rezultatelor obținute privind valorile masei hectolitrică (MHI) realizată de combinațiile hibride generate din genitori de origine locală, europeană și cei din colecția VNIIMK demonstrează că, acest caracter nu este influențat de proveniența liniilor consangvinizate, dar de zestrea lor ereditară (Tabelul 3.6.). Circa jumătate din combinațiile obținute prezintă valori echivalente sau care depășesc cu maxim 2-4,0% nivelul probei de referință, indicii superiori remarcându-se în cazul combinației MS-5 x *Rf*-5 provenite din surse europene.

Tabelul 3.6. Masa hectolitrică realizată de combinațiile hibride obținute din încrucișările liniilor consangvinizate din trei surse de germoplasmă

Originea	Combinația hibridă	Proveniența	MHI	% față de martor
Resurse locale	MS-2 x <i>Rf</i> -1	R.L. x R.L.	42,1	102,9
	MS-3 x <i>Rf</i> -1	R.L. x R.L.	37,6	91,9
	MS-2 x <i>Rf</i> -4	R.L. x R.L.	41,2	100,7
	MS-3 x <i>Rf</i> -4	R.L. x R.L.	40,9	100
Hibridi europeni	MS-4 x <i>Rf</i> -5	R.E. x R.E.	41,5	101,5
	MS-5 x <i>Rf</i> -5	R.E. x R.E.	42,5	103,9
	MS-6 x <i>Rf</i> -5	R.E. x R.E.	40,4	98,8
	MS-4 x <i>Rf</i> -6	R.E. x R.E.	38,0	92,9
Resurse VNIIMK	MS-1 x <i>Rf</i> -10	VNIIMK xVNIIMK	38,4	93,9
Hibrid local (martor)	Doina	AMG-Agroselect	40,9	100

În tabelul 3.7 este redat calculul valorii heterozisului reproductiv la combinațiile hibride de floarea-soarelui realizate din încrucișarea liniilor consangvinizate obținute din surse de germoplasmă autohtonă, europeană și din colecția VNIIMK. Constatăm, că valoarea heterozisului la hibridii obținuți din germoplasmă autohtonă variază între 20,3% și 38,3%, la cei

din germoplasma europeană între 5,4% și 27,2%, iar la germoplasma din colecția VNIIMK este de 36,7%.

Tabelul 3.7. Valoarea heterozisului reproductiv realizat de combinațiile hibride obținute din încrucișările liniilor consangvinizate din trei surse de germoplasmă

Originea	Combi-nația hibridă	Proveniența	Numarul de semințe pline/ calatidiu, F <sub>1</sub>	Numarul de semințe pline/ calatidiu, mama	Valoarea heterozisului %
Resurse locale	MS-2 x Rf-1	R.L. x R.L.	1180	952	23,9
	MS-3 x Rf-1	R.L. x R.L.	1041	865	20,3
	MS-2 x Rf-4	R.L. x R.L.	1317	952	38,3
	MS-3 x Rf-4	R.L. x R.L.	1119	865	29,4
Resurse europene	MS-4 x Rf-5	R.E. x R.E.	1097	950	15,5
	MS-5 x Rf-5	R.E. x R.E.	1182	1121	5,4
	MS-6 x Rf-5	R.E. x R.E.	1182	929	27,2
	MS-4 x Rf-6	R.E. x R.E.	1002	950	5,5
Resurse VNIIMK	MS-1 x Rf-10	VNIIMKxVNIIMK	1251	915	36,7

**Notă: valoarea medie a heterozisului (%)** la combinațiile hibride obținute prin încrucișarea liniilor consangvinizate provenite din: resurse locale = 28,0; resurse europene = 12,0; resurse VNIIMK = 36,7

Astfel, generalizând rezultatele selective, expuse în capitolul 3.1 putem menționa că pe parcursul a mai bine de 7 ani de activitate, ce includ și perioada studiilor de doctorat, a fost creată o colecție de germoplasmă, reprezentată de linii maternelle cu ASC, linii menținătoare și linii paternale, restauratoare de fertilitate, adaptate la condițiile agroclimaterice ale Republicii Moldova, care se caracterizează prin indicatori economici valoroși. De remarcat că în baza acestor linii au fost creați hibrizi autohtoni, care se află în testare experimentală (Figura 3.5) sau chiar au fost omologați (Figura 1-7, Anexă).



Fig. 3.5. Hibrizi competitivi, prezenți în cultura comparativă.

În ultimii ani au fost creați, testați și înscriși în Catalogul soiurilor de plante al Republicii Moldova 7 soiuri de floarea-soarelui cu caractere valoroase (Figura A.1-7).

### 3.2. Ontogeneza și fenologia colecției de germoplasmă

Cunoașterea fazelor de dezvoltare și a transformărilor prin care trec plantele pe parcursul fiecărei faze are o importanță majoră în procesul de selecție. Doar astfel este posibil de a crea un material inițial valoros cu precocitate diferită. În realizarea ciclului evolutiv, floarea-soarelui parcurge mai multe stadii de creștere și dezvoltare, numite faze fenologice sau faze de vegetație. Durata fazelor de vegetație este specifică genotipului, dar este influențată și de factorii abiotici și biotici ai agroecosistemului. Perioada de creștere și dezvoltare poate fi evaluată la general - de la răsărire la maturitate [3-5]. Aceasta, la rândul său, se poate împărți în două compartimente fundamentale, prima fiind perioada de la răsărire la înflorire, iar a doua de la înflorire până la maturitate. Sub acest aspect au fost testate linii parentale create din diferite resurse genetice și combinațiile hibride obținute prin încrucișarea lor.

#### 3.2.1. Caracteristica fenologică a liniilor materne

Datele prezente în tabel reflectă ontogeneza a 12 linii materne selectate în procesul de ameliorare din surse autohtone, europene, din colecția VNIIMK și VIR.

Tabelul 3.8. Ontogeneza genotipurilor materne de floarea-soarelui

Originea liniei	Genotipul	Durata perioadei de: (zile)			Grupa de maturitate
		răsărire-începutul înfloririi	înflorit - maturitate	răsărire - maturitate	
Resurse locale	MS-2098A	56	49	105	timpurie
	MS-2039A	65	58	122	tardivă
Hibridi europeni	MS-2091A	55	40	95	ultratimpurie
	MS-2077A	61	44	105	timpurie
	MS-2067A	58	47	105	timpurie
	MS-2026A	56	49	105	timpurie
Resurse VNIIMK	MS-2075A	50	52	102	timpurie
	MS-2185A	58	50	108	semitimpurie
	MS-2073A	58	50	108	semitimpurie
	MS-1589A	65	60	125	tardivă
Resurse VIR	MS-2161A	57	48	105	timpurie
	MS-2036A	50	52	102	timpurie
V.max		65	42	125	
V.min		50	30	95	
Media		57,4	49,9	107,3	



Analiza datelor fenologice permite să constatăm ca perioada de creștere și dezvoltare a liniilor materne variază în limitele de 95 și 125 zile, ultratimpurie fiind linia MS-2091A creată din hibrizi europeni, iar tardive – liniile MS-2039A și MS-1589A obținute din resurse autohtone și resurse din colecția VNIIMK, corespunzător. La fel, în dependență de genotip, variază durata de creștere în faza de răsărire-începutul înfloritului și înflorit-maturare [92].

Datele prezentate în figura 3.6 reflectă creșterea și dezvoltarea liniilor consangvinizate de floarea-soarelui în subfazele perioadei vegetative și reproductive.

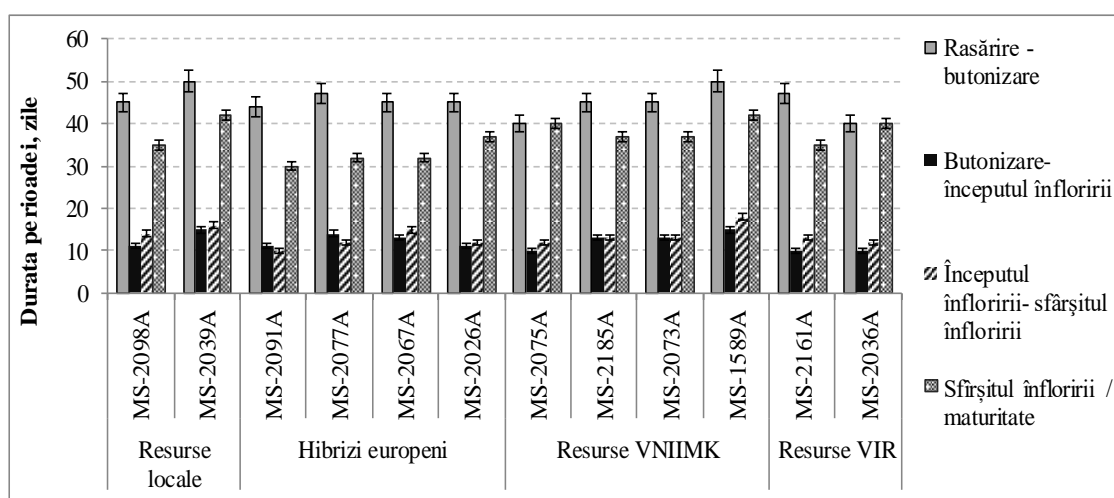


Fig. 3.6. Durata medie a principalelor fenofaze parcurse de liniile materne

Analizând constatăm că toate genotipurile studiate au o durată mai lungă a perioadei de răsărire - butonizare, valorile acestora încadrându-se în limitele de 40 și 50 zile. Aceasta se explică prin faptul că în subfază menționată se decide vigoarea plantelor, se formează rădăcinile, primordiile foliare și florale.

Faza de butonizare – înflorire este faza în care se realizează cel mai intens ritm de creștere și prezintă trecerea de la faza vegetativă la faza reproductivă. Această perioadă, în studiul nostru a fost cuprinsă între 10-15 zile. Printr-un ritm mai lung de creștere se disting liniile consangvinizate MS-2039A și MS-1589A selectate din resurse locale și, respectiv, din surse provenite din colecția VNIIMK.

Similar, pentru diferite linii este diferită și perioada de înflorire, aceasta variind între 10 și 18 zile, în funcție de genotip. Cea mai scurtă perioadă de înflorire a înregistrat-o linia ultratimpurie MS-2091A care provine din hibrizi europeni, iar cea mai lungă perioadă (18 zile) a avut-o linia MS-1589A ce provine din colecția VNIIMK.

În etapa de maturare are loc umplerea și coacerea achenelor. Maturitatea a fost determinată după metoda clasică, când partea dorsală a capitulului este brun marmorată, bracteele brunificate, iar tulpina începe să se usuce. În dependență de genotip, liniile maternelle studiate au avut nevoie de 30–42 zile pentru a ajunge de la faza de înflorire până la faza de maturitate.

Generalizând rezultatele expuse la acest compartiment putem menționa că durata fazelor de creștere și dezvoltare a liniilor maternelle de floarea-soarelui depinde de însușirile liniilor și nu reprezintă o caracteristică generală specifică unui grup de linii cu origine comună. Astfel că, liniile originare din resurse genetice similare se disting prin durate ale diferitor perioade de dezvoltare foarte variate.

### 3.2.2. Caracteristica fenologică a liniilor paternelle

Evaluarea fazelor de creștere și dezvoltare a fost realizată sub același aspect și pentru 7 linii restauratoare de fertilitate (Tabelul 3.10). Analizând ontogeneza liniilor paternelle constatăm, că aceste linii se împart în genotipuri timpurii, semitimpurii, medii și tardive. Pentru parcurgerea perioadei de răsărire - începutul înfloritului aceste linii au nevoie de 56-65 zile, iar de la înflorit la maturitate de 49-60 zile. De menționat că durata fazelor menționate este practic identică pentru fiecare genotip.

Tabelul 3.9. Ontogeneza genotipurilor paternelle de floarea-soarelui

Originea	Genotipul	Durata perioadei de: (zile)			Grupa de maturitate
		răsărire-înflorit	înflorit-maturitate	răsărire-maturitate	
Resurse locale	MS-2570C	57	57	114	medie
	MS-2440C	59	57	116	medie
Hibridi europeni	MS-1942C	58	57	115	medie
	MS-1944C	58	56	114	medie
	MS-2203C	59	51	110	semitimpurie
	MS-2540C	65	60	125	tardivă
Resurse VNIIMK	MS-1920C	56	49	105	timpurie
V.max		65	60	125	
V.min		56	49	105	
Media		58,9	55,3	114,1	

Figura 3.7 include datele privind creșterea și dezvoltarea liniilor de floarea-soarelui în subfazele perioadei vegetative și reproductive.

Analiza datelor fazei de răsărire - butonizare pune în evidență linia MS-2203C cu cea mai scurtă perioadă (38 zile) și linia MS-2540C cu cea mai lungă durată de 52 zile, ambele fiind obținute din hibridi europeni. Este important de remarcat linia MS-2203C care parcurge perioada

de butonizare - începutul înfloritului timp de 21 zile comparativ cu perioada de 10-13 zile relevată în cazul celorlalte linii.

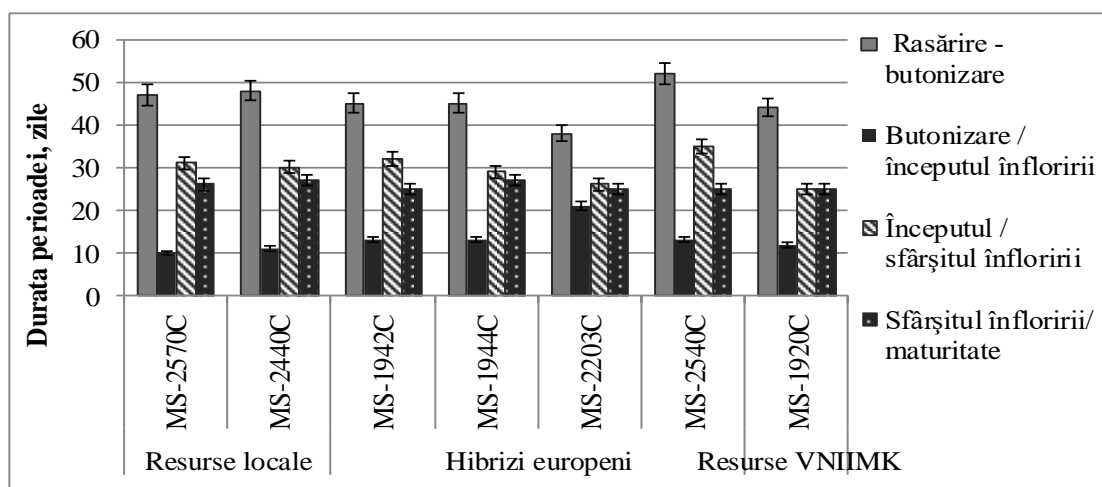


Fig. 3.7. Durata medie a principalelor fenofaze parcurse de liniile paterne

Perioada de înflorire a durat în mediu pe cultură - 25–35 zile, cea mai mare perioadă de înflorire fiind dezvoltată de linia tardivă MS-2540C selectată din resurse europene și linia MS-2540C, selectată din resursele colecției VNIIMK.

### 3.2.3. Caracteristica fenologică a hibridilor

La următoarea etapă a cercetărilor ne-am propus să analizăm ontogeneza a 32 hibridi din cultura comparativă, părți componente ale cărora sunt liniile parentale studiate. Estimarea duratei perioadei de răsărire - maturitate a acestor hibridi a arătat, că în mediu pe patru ani, se include în 100-123 zile. Evaluările fenologice demonstrează, că în dependență de valoarea genotipului faza vegetativă a durat de la 54 până la 67 zile.

Similar liniilor materne și paterne, expuse mai sus perioada de vegetație a hibridilor nu a constituit o trăsătură de grup specifică genotipurilor cu origine comună. Astfel, combinațiile MS-3 x Rf-5 și MS-4 x Rf-5 au avut nevoie doar de 54 de zile pentru a parcurge această fază, iar combinațiile hibride MS-2 x Rf-4, MS-2 x Rf-5, desfășoară o activitate mai lentă de creștere și dezvoltare și au avut nevoie de 67 de zile. Durata perioadei de la înflorire până la maturare durează în mediu pe experiență 40-61 zile (Tabelul 3.10).

De menționat că hibridii studiați dau dovadă de un ritm de creștere diferit pe tot parcursul de vegetație fiind influențați atât de factori genetici, cât și cei de mediu (Tabelul 3.11).

Tabelul 3.10. Ontogeneza combinațiilor hibride de floarea-soarelui

Combinatia hibridă	Proveniența	Durata perioadei de: (zile)			Grupa de maturitate
		Răsărire – începutul înfloririi	Înflorit-maturitate	Răsărire - maturitate	
MS-1 x Rf-1	VNIIMK x R.L.	66	49	115	medie
MS-2 x Rf-1	R.L. x R.L.	65	49	114	medie
MS-3 x Rf-1	R.L. x R.L.	63	48	111	semitimpurie
MS-4 x Rf-1	R.E. x R.L.	60	40	100	timpurie
MS-5 x Rf-1	R.E. x R.L.	63	46	109	semitimpurie
MS-6 x Rf-1	R.E. x R.L.	65	47	112	semitimpurie
MS-7 x Rf-1	VIR x R.L.	63	45	108	timpurie
MS-1 x Rf-4	VNIIMK xR.L.	64	59	123	tardivă
MS-2 x Rf-4	R.L. x R.L.	67	46	123	tardivă
MS-3 x Rf-4	R.L. x R.L.	66	53	119	semitardivă
MS-4 x Rf-4	R.E. x R.L.	63	46	109	semitimpurie
MS-5 x Rf-4	R.E. x R.L.	63	53	116	medie
MS-6 x Rf-4	R.E. x R.L.	63	54	117	medie
MS-7 x Rf-4	VIR x R.L.	64	52	116	medie
MS-1 x Rf-5	VNIIMK xR.E.	66	56	122	tardivă
MS-2 x Rf-5	R.L. x R.E.	67	55	122	tardivă
MS-3 x Rf-5	R.L.x R.E.	54	61	115	medie
MS-4 x Rf-5	R.E. x R.E.	54	59	113	medie
MS-5 x Rf-5	R.E. x R.E.	62	52	114	medie
MS-6 x Rf-5	R.E. x R.E.	64	53	117	semitardivă
MS-7 x Rf-5	VIR x R.E.	63	47	110	semitimpurie
MS-1 x Rf-6	VNIIMK xR.E.	65	57	122	tardivă
MS-2 x Rf-6	R.L. x R.E.	65	55	120	semitardivă
MS-3 x Rf-6	R.L. x R.E.	64	50	114	medie
MS-4 x Rf-6	R.E. x R.E.	58	43	101	timpurie
MS-1 x Rf-10	VNIIMK x VNIIMK	65	55	120	semitardivă
MS-2 x Rf-10	R.L. x VNIIMK	65	54	119	semitardivă
MS-3 x Rf-10	R.L. x VNIIMK	64	49	113	medie
MS-4 x Rf-10	R.E. x VNIIMK	59	42	101	timpurie
MS-5 x Rf-10	R.E. x VNIIMK	59	52	111	semitimpurie
MS-6 x Rf-10	R.E. x VNIIMK	62	49	111	semitimpurie
MS-7 x Rf-10	VIR x VNIIMK	63	48	111	semitimpurie
V.max		67	61	123	
V.min		54	40	100	
Media		62,9	50,8	114,0	

Tabelul 3.11. Durata medie a principalelor fenofaze a combinațiilor hibride

Combi-nația hibridă	Proveniența	Durata perioadei de: (zile)			
		rasărit- butonizare	butonizare - începutul înfloririi	începutul - sfârșitul înfloririi	sfârșitul înfloririi- maturitate
MS-1 x Rf-1	VNIIMK x R.L.	52	14	12	37
MS-2 x Rf-1	R.L. x R.L.	50	15	13	36
MS-3 x Rf-1	R.L. x R.L.	50	13	16	32
MS-4 x Rf-1	R.E. x R.L.	48	12	10	30
MS-5 x Rf-1	R.E. x R.L.	49	14	10	36
MS-6 x Rf-1	R.E. x R.L.	50	15	13	34
MS-7 x Rf-1	VIR x R.L.	50	13	13	32
MS-1 x Rf-4	VNIIMK xR.L.	49	15	15	44
MS-2 x Rf-4	R.L. x R.L.	51	16	14	42
MS-3 x Rf-4	R.L. x R.L.	51	15	15	38
MS-4 x Rf-4	R.E. x R.L.	48	15	13	33
MS-5 x Rf-4	R.E. x R.L.	48	15	14	39
MS-6 x Rf-4	R.E. x R.L.	48	15	15	39
MS-7 x Rf-4	VIR x R.L.	49	15	14	38
MS-1 x Rf-5	VNIIMK xR.E.	52	14	14	42
MS-2 x Rf-5	R.L. x R.E.	52	15	13	42
MS-3 x Rf-5	R.L. x R.E.	50	14	14	37
MS-4 x Rf-5	R.E. x R.E.	50	14	13	36
MS-5 x Rf-5	R.E. x R.E.	49	13	12	40
MS-6 x Rf-5	R.E. x R.E.	50	14	15	38
MS-7 x Rf-5	VIR x R.E.	50	13	11	36
MS-1 x Rf-6	VNIIMK xR.E.	38	27	14	43
MS-2 x Rf-6	R.L. x R.E.	39	26	14	41
MS-3 x Rf-6	R.L. x R.E.	38	26	13	37
MS-4 x Rf-6	R.E. x R.E.	35	23	11	32
MS-1 x Rf-10	VNIIMKxVNIIMK	51	14	12	43
MS-2 x Rf-10	R.L. xVNIIMK	52	13	13	41
MS-3 x Rf-10	R.L. xVNIIMK	48	16	12	37
MS-4 x Rf-10	R.E. xVNIIMK	44	15	12	30
MS-5 x Rf-10	R.E. xVNIIMK	44	15	14	38
MS-6 x Rf-10	R.E. xVNIIMK	49	13	12	37
MS-7 x Rf-10	VIR xVNIIMK	49	14	13	35
V.max		52	27	16	44
V.min		35	12	10	30
Media		47,9	15,7	13,1	37,3

Astfel, numărul de zile de la răsărire la butonizare la combinațiile hibride studiate a fost cuprins între 35-52 zile. Cu cea mai scurtă durată a fenofazei s-au evidențiat combinațiile MS-4 x Rf-6, MS-3 x Rf-6, MS-1 x Rf-6, obținute în urma încrucișării liniilor materne MS-4, MS-3 și

MS-1 cu linia paternă *Rf*-6. Cea mai lungă durată de creștere și dezvoltare (52 zile) în această perioadă au dezvoltat-o combinațiile MS-1 x *Rf*-1, MS-1 x *Rf*-5, MS-2 x *Rf*-5 și MS-2 x *Rf*-10. Durata perioadei de butonizare-începutul înfloritului a fost cuprinsă între 12 și 27 zile, în limitele date încadrându-se combinațiile MS-4 x *Rf*-1 și MS-1 x *Rf*-6. Iar, cea mai mare parte din hibridii incluși în studiu parcurg această fază în 14-15 zile.

De la începutul înfloririi și până la înflorirea calatidiilor în proporție de 100% a fost nevoie de o perioadă cuprinsă între 10 și 16 zile, în funcție de hibrid. Într-un timp scurt au înflorit combinațiile hibride MS-4 x *Rf*-1 și MS-5 x *Rf*-1, câte 10 zile, cea mai lungă perioadă fiind înregistrată la combinația MS-3 x *Rf*-1.

Este important de menționat că durata acestei faze este influențată de factorul genetic matern, deoarece la obținerea hibridilor au fost încrucișate trei linii materne diferite cu aceeași linie paternă. Perioada de maturare a hibridilor este diferită în dependență de genotip, fiind cuprinsă între 30 și 44 zile. Cea mai scurtă perioadă de maturare o are combinația MS-4 x *Rf*-1, iar cea mai lungă - combinația MS-1 x *Rf*-4.

Un aspect aparte în cercetările noastre a constatat în analiza hibridilor obținuți prin încrucișarea liniilor parentale cu viteză de creștere diferită pentru a stabili modul de moștenire a indicilor fenologici și a determina ponderea cărui factor (matern, patern sau interacțiunea lor) este mai importantă în crearea diferitor tipuri de hibridi (Tabelul 3.12).

Generalizând rezultatele obținute privind estimarea ponderii liniilor parentale în moștenirea perioadei de vegetație, combinațiile hibride au fost repartizate în 5 grupe (Tabelul 3.13), după cum urmează [92]:

- hibridi derivați de la forme paterne cu perioadă de vegetație similară, moștenită și de descendenți – 2 combinații;
- au moștenit perioada de vegetație după forma maternă - 4 combinații;
- au moștenit perioada de vegetație după forma paternă - 6 combinații;
- au moștenit perioada de vegetație intermediară - 14 combinații;
- au format genotipuri noi după perioada de vegetație - 6 combinații.

Tabel 3.12. Modul de moștenire a perioadei de vegetație de către combinațiile hibride nou create

Combi-nația hibridă		Originea	Grupa de maturitate a liniei	Grupa de maturitate a combinației hibride	Moștenirea perioadei de vegetație
1	2	3	4	5	6
MS-1 x Rf-1	♀	VNIIMK	tardivă	medie	+
	♂	Resurse locale	medie		
MS-2 x Rf-1	♀	Resurse locale	tardivă	medie	+
	♂	Resurse locale	medie		
MS-3 x Rf-1	♀	Resurse locale	timpurie	semitimpurie	intermediar
	♂	Resurse locale	medie		
MS-4 x Rf-1	♀	Hibrizi europeni	ultratimpurie	timpurie	intermediar
	♂	Resurse locale	medie		
MS-5 x Rf-1	♀	Hibrizi europeni	timpurie	semitimpurie	intermediar
	♂	Resurse locale	medie		
MS-6 x Rf-1	♀	Hibrizi europeni	timpurie	semitimpurie	intermediar
	♂	Resurse locale	medie		
MS-7 x Rf-1	♀	Resurse VIR	timpurie	timpurie	+
	♂	Resurse locale	medie		
MS-1 x Rf-4	♀	Resurse VNIIMK	tardivă	tardivă	+
	♂	Resurse locale	medie		
MS-2 x Rf-4	♀	Resurse locale	tardivă	tardivă	+
	♂	Resurse locale	medie		
MS-3 x Rf-4	♀	Resurse locale	timpurie	semitardivă	
	♂	Resurse locale	medie		
MS-4 x Rf-4	♀	Hibrizi europeni	ultratimpurie	semitimpurie	intermediar
	♂	Resurse locale	medie		
MS-5 x Rf-4	♀	Hibrizi europeni	timpurie	medie	+
	♂	Resurse locale	medie		
MS-6 x Rf-4	♀	Hibrizi europeni	timpurie	medie	+
	♂	Resurse locale	medie		
MS-7 x Rf-4	♀	Resurse VIR	timpurie	medie	+
	♂	Resurse locale	medie		
MS-1 x Rf-5	♀	Resurse VNIIMK	tardivă	tardivă	+
	♂	Hibrizi europeni	tardivă		
MS-2 x Rf-5	♀	Resurse locale	tardivă	tardivă	+
	♂	Hibrizi europeni	tardivă		
MS-3 x Rf-5	♀	Resurse locale	timpurie	medie	intermediar
	♂	Hibrizi europeni	tardivă		
MS-4 x Rf-5	♀	Hibrizi europeni	ultratimpurie	medie	intermediar
	♂	Hibrizi europeni	tardivă		
MS-5 x Rf-5	♀	Hibrizi europeni	timpurie	medie	intermediar
	♂	Hibrizi europeni	tardivă		
MS-6 x Rf-5	♀	Hibrizi europeni	timpurie	semitardivă	intermediar
	♂	Hibrizi europeni	tardivă		
MS-7 x Rf-5	♀	Resurse VIR	timpurie	semitimpurie	intermediar
	♂	Hibrizi europeni	tardivă		
MS-1 x Rf-6	♀	Resurse VNIIMK	tardivă	tardivă	+
	♂	Hibrizi europeni	Semitimpurie		

1	2	3	4	5	6
MS-2 x Rf-6	♀	Resurse locale	tardivă	semitardivă	intermediar
	♂	Hibrizi europeni	semitimpurie		
MS-3 x Rf-6	♀	Resurse locale	timpurie	medie	
	♂	Hibrizi europeni	semitimpurie		
MS-4 x Rf-6	♀	Hibrizi europeni	ultratimpurie	timpurie	intermediar
	♂	Hibrizi europeni	semitimpurie		
MS-1 x Rf-10	♀	Resurse VNIIMK	tardivă	semitardivă	intermediar
	♂	Resurse VNIIMK	timpurie		
MS-2 x Rf-10	♀	Resurse locale	tardivă	semitardivă	intermediar
	♂	Resurse VNIIMK	timpurie		
MS-3 x Rf-10	♀	Resurse locale	timpurie	medie	
	♂	Resurse VNIIMK	timpurie		
MS-4 x Rf-10	♀	Hibrizi europeni	ultratimpurie	timpurie	
	♂	Resurse VNIIMK	timpurie		
MS-5 x Rf-10	♀	Hibrizi europeni	timpurie	semitimpurie	
	♂	Resurse VNIIMK	timpurie		
MS-6 x Rf-10	♀	Hibrizi europeni	timpurie	semitimpurie	
	♂	Resurse VNIIMK	timpurie		
MS-7 x Rf-10	♀	Resurse VIR	timpurie	semitimpurie	
	♂	Resurse VNIIMK	timpurie		

Tabelul 3.13. Repartizarea combinațiilor hibride după moștenirea perioadei de vegetație

Ambii părinți	Linia maternă	Linia paternă	Intermediar	Genotipuri noi
MS-1 x Rf-5 MS-2 x Rf-5	MS-7 x Rf-1 MS-1 x Rf-4 MS-2 x Rf-4 MS-1 x Rf-6	MS-1 x Rf-1 MS-2 x Rf-1 MS-5 x Rf-4 MS-6 x Rf-4 MS-7 x Rf-4 MS-4 x MS-10	MS-3 x Rf-1 MS-4 x Rf-1 MS-5 x Rf-1 MS-6 x Rf-1 MS-4 x Rf-4 MS-3 x Rf-5 MS-4 x Rf-5 MS-5 x Rf-5 MS-6 x Rf-5 MS-7 x Rf-5 MS-2 x Rf-6 MS-4 x Rf-6 MS-1 x Rf-10 MS-2 x Rf-10	MS-3 x Rf-4 MS-3 x Rf-6 MS-3 x Rf-10 MS-5 x Rf-10 MS-6 x Rf-10 MS-7 x Rf-10
2	4	6	14	6

Astfel, putem constata că genotipurile maternelle și paternale care reprezintă germoplasma autohtonă de floarea-soarelui conține genotipuri cu perioada de vegetație de la 95 până la 125 zile și se caracterizează prin iregularitatea procesului de creștere și dezvoltare, care depinde de genotip [8].



### **3.3. Caracteristica germoplasmei privind productivitatea**

Capacitatea de producție este o însușire ereditară însă aceasta este puternic influențată și de condițiile de mediu, reprezentând un rezultat al interacțiunii dintre zestrea ereditară și condițiile de cultură. Productivitatea este determinată de fertilitatea plantei și de capacitatea de exploatare a fertilității. Cunoașterea elementelor ce determină productivitatea și interacțiunea lor permite de a obține combinații hibride valoroase, care este rezultatul final al procesului de ameliorare.

După A. Vrânceanu [23] cunoștințele privind componentele de producție stau la baza ameliorării științifice a tuturor plantelor indiferent de metodele de ameliorare folosite. Din aceste considerente studiile au fost focusate pe analiza caracteristicilor morfologice și de producție a liniilor consangvinizare de floarea-soarelui.

Elementele de productivitate la floarea-soarelui sunt reprezentate de: diametrul calatidiului, numărul de semințe pline pe capitul și greutatea acestora, masa a 1000 boabe și masa hectolitrică a semințelor. Aceste caractere corelează cu înălțimea plantelor și numărul de frunze per plantă. Cunoașterea însușirilor morfologice și de producție a liniilor materne permite aplicarea eficientă a acestora în crearea hibrizilor productivi ce corespund cerințelor pieții de semințe.

În acest context, ne-am propus să studiem valorile indicilor de productivitate menționați la liniile materne, paterne și la o serie de hibrizi experimentali.

#### ***3.3.1. Evaluarea unor caractere ale productivității liniilor materne***

Evaluarea parametrilor de productivitate s-a realizat la 12 linii consangvinizate materne de floarea-soarelui obținute din diferite surse genetice (Tabelul 3.14) în perioada anilor 2011-2012 pe câmpurile experimentale din or. Soroca, în trei repetiții biologice.

În urma observațiilor efectuate s-a constatat că înălțimea medie a plantelor a variat în cadrul celor 12 linii luate în studiu.

S-au evidențiat două linii MS-2185A și MS-2075A, create din surse provenite din colecția VNIIMK, ce au prezentat cea mai mare și cea mai mică valoare a acestui caracter. Din rezultatele obținute, s-au remarcat 5 linii materne care au înregistrat valori ale înălțimii plantelor mai mici comparativ cu media experienței (1,17 m) și 7 linii – cu indici superiori mediei experienței.

Un număr mare de frunze pe tulpină cu internoduri scurte indică productivitatea mare a acestor genotipuri.

Analizând numărul de frunze per plantă constatăm, că limitele de variație pentru acest caracter au fost cuprinse între 23 și 37. Linia MS-2091A, obținută din hibrizi europeni, a avut 23 de frunze pe tulpină, pe când numărul mediu de frunze pe plantă a liniei MS-2185A, selectată

din sursele colecției VNIIMK a fost de 37. Din cele 12 linii studiate, 5 au demonstrat valori mai mici pentru acest indice în comparație cu media experienței, care a constituit 29,7 frunze pe plantă.

Tabelul 3.14. Principalele caracteristici morfologice ale liniilor androsterile de floarea-soarelui (se prezintă valorile medii obținute în studiile din anii 2011-2012)

Originea	Linia	Înălțimea plantei, m	Numărul de frunze per plantă	Diametrul calatidiului, cm	Numărul de semințe pline per calatidiu	Masa semințelor per calatidiu, g
<b>Resurse locale</b>	MS-2098A	1,12	27	17	865	35,0
	MS-2039A	1,06	24	22	952	37,8
<b>Hibridi europeni</b>	MS-2091A	1,03	23	20	930	49,5
	MS-2077A	1,28	28	20	1121	56,9
	MS-2067A	1,14	35	20	929	43,5
	MS-2026A	1,49	32	20	682	31,4
<b>Resurse VNIIMK</b>	MS-2075A	0,96	25	22	900	46,5
	MS-2185A	1,58	37	21	1225	55,9
	MS-2073A	1,40	34	19	816	47,7
	MS-1589A	1,45	31	18	915	37,9
<b>Resurse VIR</b>	MS-2161A	1,49	30	19	965	50,5
	MS-2036A	1,26	30	21	759	32,1
V.max		1,58	37	22	1225	56,9
V.min		0,96	23	17	682	31,4
Media		1,17	29,7	19,9	922	4,7

Diametrul calatidiului este o trăsătură mai puțin influențată de factorii genetici și mai mult de către condițiile de mediu și perioada de vegetație [162]. În cadrul cercetărilor realizate s-a stabilit că pe parcursul a trei ani diametrul calatidiului la liniile materne a variat între 22,0 și 17,0 cm cu o medie de 19,9 cm.

Un indicator important al potențialului de producție îl constituie și numărul de semințe pline. Prin valori ridicate a semințelor pline s-au remarcat linia provenită din sursele colecției VNIIMK - MS-2185A și linia MS-2077A, selectată din surse europene cu 1225 și 1121 semințe, corespunzător. Cea mai mică valoare după această însușire a prezentat-o linia MS-2026A.

Alt indice important în ameliorare la floarea-soarelui îl constituie masa semințelor unui calatidiu. Valorile ridicate și joase după acest caracter au fost repartizate între două linii obținute din germoplasma hibridilor europeni MS-2077A (56,9 g) și MS-2026A (31,4 g).

Este cunoscut, că caracteristicile de bază, care determină productivitatea sunt numărul florilor și semințelor per calatidiu, masa a 1000 boabe [219]. Ameliorarea pentru creșterea numărului total de semințe per capitul și a masei a 1000 de boabe contribuie semnificativ la sporirea recoltei de semințe.

Numărul total de semințe este condiționat de numărul florilor tubulare formate, atractivitatea față de polenizatori și a factorilor de mediu din timpul înfloririi și polenizării [220]. În scopul de a realiza recolte mari de semințe pe unitate de suprafață este necesar să se mărească numărul de semințe per capitul [130].

Un șir de cercetători au evidențiat o corelație pozitivă între numărul total de semințe pe calatidiu și randamentul de semințe [131, 186, 201].

Revizuirea datelor din tabel constatăm, că valoarea liniilor este determinată de însușirile lor, dar nu de grupa de origine a resurselor din care au fost ameliorate.

### 3.3.2. Evaluarea unor caractere ale productivității liniilor paterne

Capacitatea de producție a liniilor paterne, restauratoare de fertilitate, obținute în cadrul AMG Agroselect, confirmă comportarea surselor de germoplasmă prezentate anterior.

Structura producției liniilor paterne, similar, constă din indicii agronomici sus studiați, la care se adaugă numărul de ramificații capabile să producă mai mult polen (Tabelul 3.15)

Tabelul 3.15. Principalele caracteristici morfologice ale liniilor restauratoare de fertilitate de floarea-soarelui AMG-Agroselect Comerț SRL  
(se prezintă valorile medii obținute în studiile din anii 2011-2012)

Originea	Linia	Înălțimea plantei, m	Numărul de frunze per plantă	Diametrul calatidiului central, cm	Semințe pline per calatidiu central	Masa semințelor per calatidiu central, g	Numărul de ramificații per plantă
<b>Resurse locale</b>	MS-2570C	1,4	33	13	916	27,9	14
	MS-2440C	1,4	28	14	401	17,8	7
<b>Hibridi europeni</b>	MS-1942C	1,6	31	12	842	23,3	15
	MS-1944C	1,1	23	10	252	5,3	13
	MS-2203C	1,3	28	13	419	21,3	14
	MS-2540C	1,5	30	14	517	22,1	12
<b>Resurse VNIIMK</b>	MS-1920C	0,9	27	12	352	22,8	15
V.max		1,6	33	14	916	27,9	15
V.min		0,9	23	10	252	5,3	7
Media		1,3	28,6	12,6	528,4	20,8	12,9

Analizând talia medie a liniilor restauratoare de fertilitate observăm că limitele de variație pentru acest caracter sunt cuprinse între 0,9 și 1,6 cm, prezentate de liniile MS-1942C și MS-1920C, selectate din hibridii europeni și, respectiv, sursele colecției VNIIMK. Liniile parentale create din surse autohtone au aceeași înălțime a tulpinii. S-au remarcat liniile MS-2570C și MS-1944C prin cel mai mare și cel mai mic număr de frunze pe tulpină, corespunzător, iar media pe experiență constituie 28,6 bucăți.

Diametrul calatidiului central la formele paterne este mai mic în comparație cu formele maternel, deoarece ultimele dezvoltă ramificații mărindu-se, astfel, perioada de înflorire și capacitatea de dezvoltare a polenului, care asigură o polenizare mai bună a liniilor ASC.

Numărul de ramificații variază în cadrul formelor paterne stabilindu-se între 7 ramificații la linia provenită din surse autohtone MS-2440C și 15 ramificații dezvoltate de liniile MS-1942C și MS-1920C. Linia MS-2440C formează mai puține ramificații care, însă, sunt viguroase cu calatidiul central bine dezvoltat. Numărul semințelor pline per calatidiul central este cuprins între 916 și 252 achene, media pe experiență alcătuind 528,4 semințe. Cel mai mare număr de semințe a fost constatat la linia provenită din surse locale MS-2570C, iar cel mai mic – la linia creată din resurse europene MS-1944C, care se distinge prin calatidiul central mic.

Analizând caracteristicile morfologice a liniilor restauratoare de fertilitate și originea resurselor din care s-au ameliorat observăm o variație largă. Deci, ca și în cazul liniilor maternel s-a constatat că caracteristicile importante de care dau dovadă liniile parentale prezintă însușiri genetice individuale și nu corelează cu sursele de proveniență.

### ***3.3.3. Evaluarea unor caractere ale productivității hibrizilor experimentali***

În acest subcapitol s-a analizat capacitatea de producție a hibrizilor nou creați prin încrucișarea liniilor consangvinizate de floarea-soarelui. Testarea indicilor morfologici și de producție ai hibrizilor s-a efectuat în cultura comparativă de concurs (CCC) pe parcele de câte 6 rânduri cu suprafața de 33,6 m<sup>2</sup> în trei repetiții.

Analizând valorile principalelor caracteristici morfologice ale combinațiilor hibride cercetate, create din încrucișarea liniilor parentale de floarea-soarelui ameliorate din diferite surse genetice, constatăm valori diferite a variației, situate între:

- înălțimea medie a plantei - 1,25 și 1,74 m;
- numărul de frunze per tulpină – 28,0 și 36,0 bucăți;
- diametrul calatidiului – 17,0 și 20,0 cm;
- numărul de semințe pline per calatidiu – 971 și 1469 semințe;
- masa semințelor pline per calatidiu - 49,2 și 84,5 g.

Analiza caracteristicilor agronomice a scos în evidență următoarele combinații hibride de floarea-soarelui MS-7 x Rf-1 (VIR x R.L.), MS-2 x Rf-4 (R.L. x R.L.), MS-1 x Rf-5 (VNIIMK x R.E.), MS-3 x Rf-5 (R.L. x R.E.), MS-6 x Rf-5 (R.E. x R.E.), MS-7 x Rf-5 (VIR x R.E.), MS-2 x Rf-10 (R.L. x VNIIMK), care se caracterizează prin indici agronomici valoroși.

Combinațiile evidențiate s-au marcat prin înălțime optimă a plantelor adaptată la recoltarea mecanizată, care a variat în limitele de la 1,37 (minimă) până la 1,63m (maximă).

Tabelul 3.16. Principalele caracteristici morfologice ale combinațiilor hibride noi de floarea-soarelui AMG-Agroselect Comerț SRL  
(se prezintă valorile medii obținute în studiile din anii 2013-2015)

Combinația hibridă	Originea	Înălțimea plantei, m	Numărul de frunze	Diametrul calatidiului, cm	Numărul de semințe pline per calatidiu	Masa semințelor per calatidiu, g
MS-1 x Rf-1	VNIIMK x R.L.	1,67	31	19	1103	73,3
MS-2 x Rf-1	R.L. x R.L.	1,59	29	19	1180	75,4
MS-3 x Rf-1	R.L. x R.L.	1,69	29	17	1041	76,1
MS-4 x Rf-1	R.E. x R.L.	1,47	29	18	1084	71,5
MS-5 x Rf-1	R.E. x R.L.	1,70	32	19	997	72,9
MS-6 x Rf-1	R.E. x R.L.	1,74	36	17	1031	65,5
MS-7 x Rf-1	VIR x R.L.	1,63	32	18	1236	80,5
MS-1 x Rf-4	VNIIMK x R.L.	1,65	33	19	998	72,1
MS-2 x Rf-4	R.L. x R.L.	1,52	32	18	1317	73,7
MS-3 x Rf-4	R.L. x R.L.	1,57	34	19	1119	75,2
MS-4 x Rf-4	R.E. x R.L.	1,66	32	17	1008	70,1
MS-5 x Rf-4	R.E. x R.L.	1,69	33	20	1012	80,4
MS-6 x Rf-4	R.E. x R.L.	1,70	34	18	1297	77,9
MS-7 x Rf-4	VIR x R.L.	1,72	34	19	1050	69,8
MS-1 x Rf-5	VNIIMK x R.E.	1,55	30	19	1469	84,5
MS-2 x Rf-5	R.L. x R.E.	1,48	28	19	1218	72,8
MS-3 x Rf-5	R.L. x R.E.	1,55	29	18	1229	83,5
MS-4 x Rf-5	R.E. x R.E.	1,31	30	19	1097	78,1
MS-5 x Rf-5	R.E. x R.E.	1,42	30	18	1182	69,3
MS-6 x Rf-5	R.E. x R.E.	1,48	33	20	1182	83,2
MS-7 x Rf-5	VIR x R.E.	1,42	29	18	1370	74,7
MS-1 x Rf-6	VNIIMK x R.E.	1,63	32	19	1039	73,2
MS-2 x Rf-6	R.L. x R.E.	1,49	29	18	1115	66,5
MS-3 x Rf-6	R.L. x R.E.	1,59	30	18	1093	74,3
MS-4 x Rf-6	R.E. x R.E.	1,25	29	19	1002	69,5
MS-1 x Rf-10	VNIIMK x VNIIMK	1,56	35	17	1251	75,5
MS-2 x Rf-10	R.L. x VNIIMK	1,37	31	18	1334	74,3
MS-3 x Rf-10	R.L. x VNIIMK	1,46	30	18	1196	67,4
MS-4 x Rf-10	R.E. x VNIIMK	1,27	32	18	1220	78,1
MS-5 x Rf-10	R.E. x VNIIMK	1,42	31	17	1187	67,6
MS-6 x Rf-10	R.E. x VNIIMK	1,45	34	18	1218	71,0
MS-7 x Rf-10	VIR x VNIIMK	1,45	32	18	971	49,2
V.max		1.74	36	20	1469	84,5
V.min		1.25	28	17	971	49,2
Media		1,54	31,4	18,3	1151,4	73,3

Conform datelor din literatura de specialitate înălțimea plantelor reprezintă grupa trăsăturilor importante în ameliorarea florii-soarelui. Hibridii actuali prezintă variabilitate mare după înălțimea plantelor. Pentru obținerea recoltelor înalte și sporirea rezistenței la cădere este necesar de a crea hibridi cu înălțimea de 120-150 cm, iar plantele cu talie mai joasă sunt bine adaptate la recoltarea mecanizată [90].

Aceste combinații, obținute prin încrucișarea liniilor parentale selectate din resursele genetice autohtone, europene și din resursele colecțiilor VNIIMK și VIR au pus în evidență un număr mare de frunze pe tulpină, valori sporite a numărului de semințe pline pe calatidiu (Figura 3.8), adică cu acoperire bună a capitolului și autofertilizare sporită, cât și masă mare a semințelor de pe calatidiu.

De menționat că majoritatea hibrizii enunțați dețin în calitate de formă paternă linia restauratoare de fertilitate - *Rf-5*, obținută din hibrizi europeni și frecvent întâlnită în combinațiile hibride valoroase, aceasta datorându-se capacității ei combinate înalte.

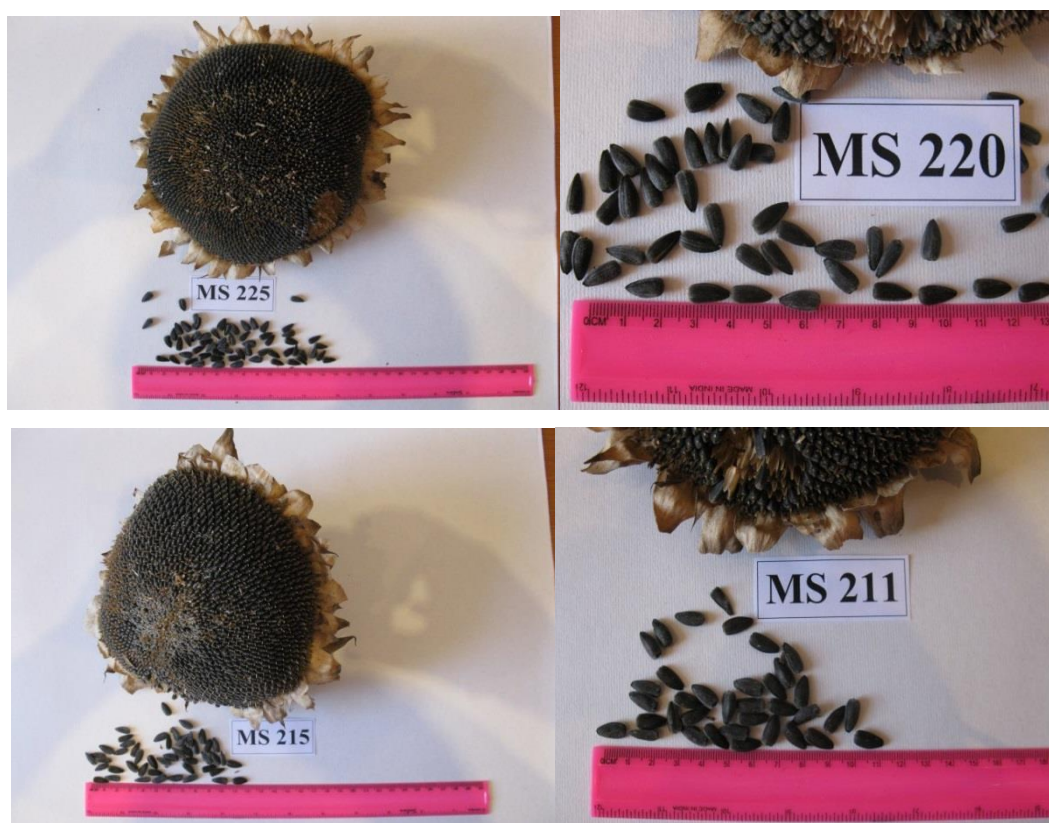


Fig. 3.8. Unii indici de productivitate evaluați în cadrul studiului.

Productivitatea la floarea-soarelui este o însușire complexă, poligenică și în mare măsură influențată de mediu [143]. Testarea productivității combinațiilor hibrizilor s-a efectuat în CCC pe parcele de câte 6 rânduri randomizate la întâmplare. Ca martori au servit hibridul Doina al companiei AMG-Agroselect Comerț și hibridul de selecție străină P63LL06 al companiei Pioneer (tabelul 3.17)

Tabelul 3.17. Recolta medie a combinațiilor hibride de floarea-soarelui nou create  
(se prezintă valorile medii obținute în studiile din anii 2013-2015)

Combinăția hibridă	Proveniența	Recolta medie, t/ha	%, în raport cu martorul 1	%, în raport cu martorul 2
MS-1 x Rf-1	VNIIMK x R.L.	2.97	102,1	100,7
MS-2 x Rf-1	R.L. x R.L.	2.93	100,7	99,3
MS-3 x Rf-1	R.L. x R.L.	2.90	99,7	98,3
MS-4 x Rf-1	R.E. x R.L.	2.72	93,5	92,2
MS-5 x Rf-1	R.E. x R.L.	2.71	93,1	91,9
MS-6 x Rf-1	R.E. x R.L.	2.93	100,7	99,3
MS-7 x Rf-1	VIR x R.L.	2.75	94,5	93,2
MS-1 x Rf-4	VNIIMK x R.L.	2.72	93,5	92,2
MS-2 x Rf-4	R.L. x R.L.	2.94	101,0	99,7
MS-3 x Rf-4	R.L. x R.L.	3.07	105,5	104,1
MS-4 x Rf-4	R.E. x R.L.	2.69	92,4	91,2
MS-5 x Rf-4	R.E. x R.L.	2.91	100,0	98,6
MS-6 x Rf-4	R.E. x R.L.	2.52	86,6	85,4
MS-7 x Rf-4	VIR x R.L.	2.64	90,7	89,5
MS-1 x Rf-5	VNIIMK x R.E.	3.23	111,0	109,5
MS-2 x Rf-5	R.L. x R.E.	3.27	112,4	110,8
MS-3 x Rf-5	R.L. x R.E.	3.13	107,6	106,1
MS-4 x Rf-5	R.E. x R.E.	3.19	109,6	108,1
MS-5 x Rf-5	R.E. x R.E.	3.17	108,9	107,4
MS-6 x Rf-5	R.E. x R.E.	2.87	98,6	97,3
MS-7 x Rf-5	VIR x R.E.	2.84	97,0	96,3
MS-1 x Rf-6	VNIIMK x R.E.	2.24	77,0	75,9
MS-2 x Rf-6	R.L. x R.E.	2.34	80,4	79,3
MS-3 x Rf-6	R.L. x R.E.	2.39	82,1	81,0
MS-4 x Rf-6	R.E. x R.E.	2.15	73,9	72,9
MS-1 x Rf-10	VNIIMK x VNIIMK	2.66	91,4	90,2
MS-2 x Rf-10	R.L. x VNIIMK	2.64	90,7	89,5
MS-3 x Rf-10	R.L. x VNIIMK	2.72	93,5	92,2
MS-4 x Rf-10	R.E. x VNIIMK	2.78	95,5	94,2
MS-5 x Rf-10	R.E. x VNIIMK	2.75	94,5	93,2
MS-6 x Rf-10	R.E. x VNIIMK	2.61	89,7	88,5
MS-7 x Rf-10	VIR x VNIIMK	2.55	87,6	86,4
Martorul 1, Doina	AMG-Agroselect Comerț	2.91	100	98,6
Martorul 2, P63LL06	Pioneer	2.95	101,4	100
DL <sub>05</sub>		0.13		

Zece combinații testate, depășesc producția de semințe la ambii sau cel puțin la unul din martorii dați. Combinațiile hibride MS-1 x Rf-1(VNIIMK x R.L.), MS-3 x Rf-4(R.L. x R.L.), MS-1 x Rf-5(VNIIMK x R.E.), MS-2 x Rf-5(R.L. x R.E.), MS-3 x Rf-5(R.L. x R.E.), MS-4 x Rf-

5 (R.E. x R.E.), MS-5 x Rf-5(R.E. x R.E.) depășesc ambii martori după recolta medie la hectar. Combinațiile MS-2 x Rf-1(R.L. x R.L.), MS-6 x Rf-1(R.E. x R.L. Și MS-2 x Rf-4(R.L. x R.L.) depășesc hibridul Doina, iar combinația MS-5 x Rf-4(R.E. x R.L.) prezintă valori identice cu cele ale martorului Doina. Prin urmare, constatăm că din liniile selectate din germoplasma autohtonă sau în combinație cu liniile provenite din germoplasma europeană se pot realiza hibridi cu o bună capacitate de producție. Iarăși, evidențiem linia restauratoare de fertilitate - Rf-5, obținută din hibridi europeni care în combinație cu mai multe linii materne prezintă valori înalte ale producției. După indicii de productivitate se remarcă combinațiile hibride obținute cu forma paternă Rf-5 (MS-1 x Rf-5(VNIIMK x R.E.), MS-2 x Rf-5(R.L. x R.E.), MS-3 x Rf-5 (R.L. x R.E.), MS-4 x Rf-5 (R.E. x R.E.), MS-5 x Rf-5(R.E. x R.E.)), care prezintă valori superioare ambilor probe de referință – hibridul Doina, creat în cadrul companiei AMG-Agroselect Comerț și P63LL06 creat de compania Pioneer. Astfel, recolta medie în cazul formelor menționate variază între 3,13-3,23 t/ha, depășind martorii cu cca 6-12,0%.

Un element de bază în aprecierea calității boabelor este prezentat de masa hectolitrică valorile ridicate ale acestora indicând o sămânță de calitate. Rezultatele privind indicele se reflectă în tabelul 3.18.

Tabelul 3.18. Valoarea masei hectolitrică a semințelor de floarea-soarelui prezentată de combinațiile hibride nou create (*se prezintă valorile medii obținute în studiile din anii 2013-2015*)

<b>Combinația hibridă</b>	<b>Proveniența</b>	<b>Masa hectolitrică, kg/hl</b>	<b>%, în raport cu martorul 1</b>	<b>%, în raport cu martorul 2</b>
<i>1</i>	<i>2</i>	<i>3</i>	<i>4</i>	<i>5</i>
MS-1 x Rf-1	VNIIMK x R.L.	38.3	93,6	89,9
MS-2 x Rf-1	R.L. x R.L.	42.1	102,9	98,8
MS-3 x Rf-1	R.L. x R.L.	37.6	91,9	88,3
MS-4 x Rf-1	R.E. x R.L.	37.3	91,2	87,6
MS-5 x Rf-1	R.E. x R.L.	39.7	97,1	93,2
MS-6 x Rf-1	R.E. x R.L.	38.2	93,4	89,7
MS-7 x Rf-1	VIR x R.L.	40.8	99,8	95,8
MS-1 x Rf-4	VNIIMK x R.L.	40.9	100	96,0
MS-2 x Rf-4	R.L. x R.L.	41.2	100,7	96,7
MS-3 x Rf-4	R.L. x R.L.	40.9	100	96,0
MS-4 x Rf-4	R.E. x R.L.	40.9	100	96,0
MS-5 x Rf-4	R.E. x R.L.	40.9	100	96,0
MS-6 x Rf-4	R.E. x R.L.	39.7	97,1	93,2
MS-7 x Rf-4	VIR x R.L.	42.8	104,6	100,5
MS-1 x Rf-5	VNIIMK x R.E.	41.5	101,5	97,4
MS-2 x Rf-5	R.L. x R.E.	43.1	105,4	101,2
MS-3 x Rf-5	R.L. x R.E.	34.2	83,6	80,3
MS-4 x Rf-5	R.E. x R.E.	41.5	101,5	97,4
MS-5 x Rf-5	R.E. x R.E.	42.5	103,9	99,8
MS-6 x Rf-5	R.E. x R.E.	40.4	98,8	94,8
MS-7 x Rf-5	VIR x R.E.	40.3	98,5	94,6



1	2	3	4	5
MS-1 x <i>Rf</i> -6	VNIIMK x R.E.	38.5	94,1	90,4
MS-2 x <i>Rf</i> -6	R.L x R.E.	39.2	97,6	92,0
MS-3 x <i>Rf</i> -6	R.L x R.E.	37.9	92,7	89,0
MS-4 x <i>Rf</i> -6	R.E. x R.E.	38.0	92,9	89,2
MS-1 x <i>Rf</i> -10	VNIIMK x VNIIMK	38.2	93,4	89,7
MS-2 x <i>Rf</i> -10	R.L x VNIIMK	40.1	98,0	94,1
MS-3 x <i>Rf</i> -10	R.L x VNIIMK	39.6	96,8	93,0
MS-4 x <i>Rf</i> -10	R.E. x VNIIMK	39.2	95,8	92,0
MS-5 x <i>Rf</i> -10	R.E. x VNIIMK	38.9	97,0	91,3
MS-6 x <i>Rf</i> -10	R.E. x VNIIMK	38.9	97,0	91,3
MS-7 x <i>Rf</i> -10	VIR x VNIIMK	38.4	93,9	90,1
Martorul 1, Doina	AMG- Agroselect comerț	40,9	100	96,0
Martorul 2, P63LL06	Pioneer	42,6	104,1	100
DL <sub>05</sub>		0,94		

Analiza valorilor masei hectolitrică prezentate de combinațiile hibride în raport cu a hibridilor martori scot în evidență 2 combinații hibride MS-7 x *Rf*-4 (VIR x R.L.) și MS-2 x *Rf*-5 (R.L. x R.E.), care depășesc valoarea masei hectolitrică a ambilor martori. S-au remarcat cu valori mai mari ca a hibridului Doina combinațiile hibride de floarea-soarelui MS-2 x *Rf*-1 (R.L. x R.L.), MS-2 x *Rf*-4 (R.L. x R.L.), MS-1 x *Rf*-5 (VNIIMK x R.E.), MS-4 x *Rf*-5 (R.E. x R.E.) și MS-5 x *Rf*-5 (R.E. x R.E.). Revizuirea rezultatelor obținute mărcăm, că liniile create din germoplasma autohtonă la fel ca și cele create din germoplasma europeană sunt des întâlnite în combinațiile hibride de valoare, deci au o capacitate bună de combinare. Similar cu rezultatele anterioare, constatăm că linia paternă - *Rf*-5 se combină bine cu liniile selectate din toate sursele de germoplasma utilizate în procesul de ameliorare.

Masa 1000 de boabe este o însușire foarte variabilă și este influențată de factori genetici și de mediu [146]. Valoarea acestui caracter variază atât între diferite genotipuri în aceeași locație, cât și într-un singur genotip în locații diferite [163]. Greutatea a 1000 boabe, în mare măsură, este influențată de densitatea plantelor, temperatura și umiditatea aerului, starea solului și altele [131, 162]. Masa a 1000 de semințe este o caracteristică a cultivarului ce indică gradul de umplere a semințelor [163]. Semințele ce posedă masă mare sunt binevenite în producerea de semințe. Masa lor indică faptul, că astfel de semințe au rezerve de nutriție suficiente și embrion bine dezvoltat. Plantulele răsărite din așa semințe cresc rapid chiar și în condiții nefavorabile de mediu și de sol [163].

În cazul analizei masei a 1000 de boabe prezentate de combinații hibride în raport cu martorii (Tabelul 3.19), important este faptul că 11 combinații depășesc valoarea masei a 1000 boabe a ambilor hibridi de referință, 14 combinații depășesc, valoarea hibridului Doina și o combinație prezintă valoare egală cu a acestui martor. Prin urmare, analizând capacitatea de producție a combinațiilor hibride noi create remarcăm că din germoplasma autohtonă la fel ca și din cea

europăeană se pot selecta linii parentale valoroase prin încrucișarea cărora obținem hibrizi cu o bună capacitate de producție.

Tabelul 3.19. Valoarea masei a 1000 semințe prezentată de combinațiile hibride nou create  
(se prezintă valorile medii obținute în studiile din anii 2013-2015)

Combinația hibridă	Proveniența	MMB, g	%, în raport cu martorul 1	%, în raport cu martorul 2
MS-1 x Rf-1	VNIIMK x R.L.	71.2	137,2	112,1
MS-2 x Rf-1	R.L. x R.L.	64.9	125,0	102,4
MS-3 x Rf-1	R.L. x R.L.	70.4	135,6	110,9
MS-4 x Rf-1	R.E. x R.L.	69.0	132,9	108,7
MS-5 x Rf-1	R.E. x R.L.	70.1	135,1	110,4
MS-6 x Rf-1	R.E. x R.L.	66.5	125,1	104,7
MS-7 x Rf-1	VIR x R.L.	70.7	136,2	111,3
MS-1 x Rf-4	VNIIMK x R.L.	53.8	103,7	84,7
MS-2 x Rf-4	R.L. x R.L.	50.4	97,1	79,4
MS-3 x Rf-4	R.L. x R.L.	51.6	99,4	81,3
MS-4 x Rf-4	R.E. x R.L.	51.8	99,8	81,4
MS-5 x Rf-4	R.E. x R.L.	51.9	100	81,7
MS-6 x Rf-4	R.E. x R.L.	51.6	99,4	81,3
MS-7 x Rf-4	VIR x R.L.	49.1	94,6	77,3
MS-1 x Rf-5	VNIIMK x R.E.	61.3	118,1	96,5
MS-2 x Rf-5	R.L. x R.E.	63.2	121,8	99,5
MS-3 x Rf-5	R.L. x R.E.	67.4	129,8	106,1
MS-4 x Rf-5	R.E. x R.E.	68.7	132,4	108,2
MS-5 x Rf-5	R.E. x R.E.	64.3	123,9	101,3
MS-6 x Rf-5	R.E. x R.E.	61.8	119,1	97,3
MS-7 x Rf-5	VIR x R.E.	58.3	112,3	91,8
MS-1 x Rf-6	VNIIMK x R.E.	55.2	106,4	86,9
MS-2 x Rf-6	R.L. x R.E.	57.1	110,0	89,9
MS-3 x Rf-6	R.L. x R.E.	60.3	116,2	95,0
MS-4 x Rf-6	R.E. x R.E.	55.9	107,7	88,0
MS-1 x Rf-10	VNIIMK x VNIIMK	59.8	115,2	94,2
MS-2 x Rf-10	R.L. x VNIIMK	59.8	115,2	94,2
MS-3 x Rf-10	R.L. x VNIIMK	59.6	114,8	93,9
MS-4 x Rf-10	R.E. x VNIIMK	67.1	129,3	105,7
MS-5 x Rf-10	R.E. x VNIIMK	60.6	116,8	95,4
MS-6 x Rf-10	R.E. x VNIIMK	58.5	112,7	92,1
MS-7 x Rf-10	VIR x VNIIMK	58.2	112,1	91,7
Martorul 1, Doina	AMG- Agroselect Comerț	51,9	100	81,7
Martorul 2, P63LL06	Pioneer	63,5	122,4	100
DL05		3,28		

Și în cazul indicatorului dat, se evidențiază linia paternă *Rf-5* creată din germoplasma hibrizilor europeni care prezintă capacitate de combinare bună cu toate liniile maternelle și linia MS-2, selectată din surse autohtone, care manifestă capacitate bună de combinare cu toate liniile paternelle.

### 3.4. Concluzii la capitolul 3

În baza resurselor genetice de floarea-soarelui autohtone, europene, VNIIMK și VIR disponibile, a fost creată o colecție de germoplasmă, reprezentată de linii maternelle (ASC), linii menținătoare, linii paternelle (*Rf*) și combinații hibride, adaptate la condițiile agroclimaterice ale Republicii Moldova și caracterizate prin indicatori economici valoroși (productivitatea înaltă și rezistență la boli). S-a constatat eficacitatea utilizării tehnicilor de analiză moleculară cu primeri specifici bazate pe *screening*-ul secvenței *orfH522* în genomul mitocondrial, în scopul stabilirii androsterilității citoplasmice la liniile maternelle de floarea-soarelui.

Analiza datelor fenologice, morfologice și a elementelor de productivitate la 20 de linii parentale cu origine diferită (surse autohtone, europene, colecții VNIIMK și VIR) și 32 combinații hibride, denotă faptul că procesul de creștere și dezvoltare variază în funcție de genotip și nu reprezintă o trăsătură de grup caracteristică genotipurilor cu proveniență genetică comună. În funcție de modul de moștenire a perioadei de vegetație de către combinațiile hibride acestea se repartizează în 5 grupe, după cum urmează: 2 combinații - la care ambii părinți au aceeași perioadă de maturizare, 4 combinații - moștenesc perioada de vegetație după forma maternă, 6 combinații - moștenesc perioada de vegetație după forma paternă, 14 combinații - moștenesc perioada de vegetație intermediară, 6 combinații - au format genotipuri cu perioade de vegetație noi. Prin evaluarea indicilor de productivitate la liniile parentale cu origine diferită și combinațiile hibride, au fost puse în evidență linii parentale valoroase atât provenite din germoplasma europeană, cât și cea autohtonă prin încrucișarea cărora obținem hibrizi cu o bună capacitate de producție. Se remarcă în special linia paternă *Rf-5* creată din germoplasma hibrizilor europeni caracterizată printr-o bună capacitate de combinare cu toate liniile maternelle.

Au fost creați și testați 32 hibrizi de floarea-soarelui și au fost puse în evidență 12 combinații hibride de perspectivă, majoritatea dintre care se caracterizează prin indicatori superiori de productivitate: MS-1 x *Rf-1*(VNIIMK x R.L.), MS-2 x *Rf-1*(R.L. x R.L.), MS-6 x *Rf-1*(R.E. x R.L.), MS-2 x *Rf-4*(R.L. x R.L.), MS-3 x *Rf-4*(R.L. x R.L.), MS-5 x *Rf-4*(R.E. x R.L.), MS-7 x *Rf-4* (VIR x R.L.), MS-1 x *Rf-5*(VNIIMK x R.E.), MS-2 x *Rf-5*(R.L. x R.E.), MS-3 x *Rf-5* (R.L. x R.E.), MS-4 x *Rf-5* (R.E. x R.E.), MS-5 x *Rf-5*(R.E. x R.E.). Combinațiile hibride obținute cu forma paternă *Rf-5* prezintă valori ale recoltei medii cuprinse între 3,13-3,23 t/ha, depășind ambele probe de referință (hibridul Doina, AMG-Agroselect Comerț și P63LL06, Pioneer) cu cca 6-12,0%.

#### **4. POLIMORFISMUL GENETIC AL GERMOPLASMEI DE FLOAREA-SOARELUI**

Mobilizarea eficientă a resurselor genetice în programele de ameliorare și crearea hibridilor cu productivitate înaltă în baza androsterilității citoplasmatică și restaurării fertilității polenului, cu utilizarea efectului heterozis, continuă a fi una dintre cele mai importante și actuale preocupări ale amelioratorilor și savanților biologi.

În acest aspect cercetarea variabilității caracterelor, ce determină polimorfismul, poate contribui la elucidarea limitelor de potențial a genofondului în scopul valorificării acestuia în crearea hibridilor competitivi

Polimorfismul materialului utilizat în ameliorare poate fi identificat la diverse nivele de organizare a plantelor prin analiza caracterelor morfologice, fiziologice, biochimice, citogenetice, moleculare etc.

Un subiect atractiv pentru identificarea varietății genetice și studiul germoplasmei, în scopul valorificării rezultatelor în programele de ameliorare a floarii-soarelui a devenit utilizarea metodelor moleculare, inclusiv PCR-RAPD și SSR.

##### **4.1. Analiza SSR privind polimorfismul genetic al materialului semincer**

Pentru genotiparea liniilor de floarea-soarelui din Republica Moldova s-au utilizat 10 perechi de primeri SSR din seria ORS, selectați în baza informației din literatura de specialitate, conform nivelului de polimorfism. Cinci dintre cele zece perechi de primeri investigați reprezintă repetări dinucleotidice, două – trinucleotidice, câte una – repetări din patru și cinci nucleotide și o repetare complexă. Marcherii utilizați au manifestat un nivel diferit de polimorfism (Tabelul 4.1).

Astfel, valoarea indicelui PIC, calculat după J. Anderson și colab. [65], variază de la 0,5 pentru ORS795 până la 0,92 pentru ORS495, în medie constituind 0,77.

În total au fost identificate un număr de 179 alele SSR. Numărul de alele per locus a variat între 4 (ORS240) și 27 (ORS328), cu o valoare medie de 18 alele per locus. Cei 10 perechi de primeri SSR au fost clasați în grupele de linkage (LG, Linkage Group) descrise la floarea-soarelui [236]. Au fost identificați câte 1 locus pentru LG1, LG4, L8, LG10, LG12, LG14, LG15, și LG16, câte 2 locusuri pentru LG11 și LG13 și 3 locusuri pentru LG9 (Tabelul 4.1).

Markerul ORS1035 s-a caracterizat prin prezența a 23 alele în regiunea de la 296 pb până la 484 pb în cadrul genotipurilor investigate și indicele PIC de 0,86. Cu excepția genotipului MS-2077A, care s-a caracterizat prin profil din șase benzi, *pattern*-urile generate pentru celelalte genotipuri au conținut cinci benzi. Polimorfismul s-a manifestat la nivelul prezenței/absenței benzii 296 pb, în regiunea 300-400 pb, unde au fost detectate 10 alele: 303, 320, 328, 334, 343,

355, 358, 376, 380 și 393 pb și în regiunea 400-500 pb, unde au fost observate 12 alele: 405, 407, 409, 412, 421, 424, 434, 440, 452, 462, 473 și 484 pb (Figura 4.1).

Tabelul 4.1. Caracteristica locilor microsateliți investigați

Locus	Repetiția	Grup de lincaj	Lungimea, pb	Numărul alelelor	PIC
ORS31	(AAG) <sub>10</sub>	5/16/17	291/296/300/306/312/314/321/324/333/338/343/351/376/398/412/416/427/459	18	0,90
ORS203	(AC) <sub>4</sub> N <sub>11</sub> (CA) <sub>5</sub> N <sub>2</sub> (CA) <sub>5</sub>	2/17	226/245/252/254/265/291/297/305/313/512/540/773/809	13	0,86
ORS204	(GT) <sub>17</sub>	17	277/286/301/313/327/331/345/368/376/389/406/427	12	0,89
ORS240	(GCG) <sub>6</sub>	5	239/242/258/268	4	0,67
ORS254	(TACA) <sub>25</sub>	15	507/543/547/552/553/556/564/573/579/582/591/603/615/626/632/647/668	17	0,90
ORS328	(ACAAC) <sub>34</sub>	7/8	96/102/115/185/194/198/200/202/205/215/223/230/246/260/280/292/298/312/339/352/371/395/408/416/523/540/647	27	0,92
ORS653	(CT) <sub>15</sub>	2	190/224/243/258/272/277/279/282/294/296/299/314/319/333/334/338/353/382/398/416/420/454/462/484	24	0,95
ORS805	(AG) <sub>20</sub>	9	195/246/254/268/276/283/286/302/346/351/356/365/370/380/402/410/417/444/455/468/486/601/621	23	0,93
ORS1035	(CT) <sub>13</sub>	2	296/303/320/328/334/343/355/358/376/380/393/405/407/409/412/421/424/434/440/452/462/473/484	23	0,93
ORS1242	(CT) <sub>14</sub>	15	239/253/261/266/275/285/311/322/328/336/353/359/362/378/398/402/421/426	18	0,92

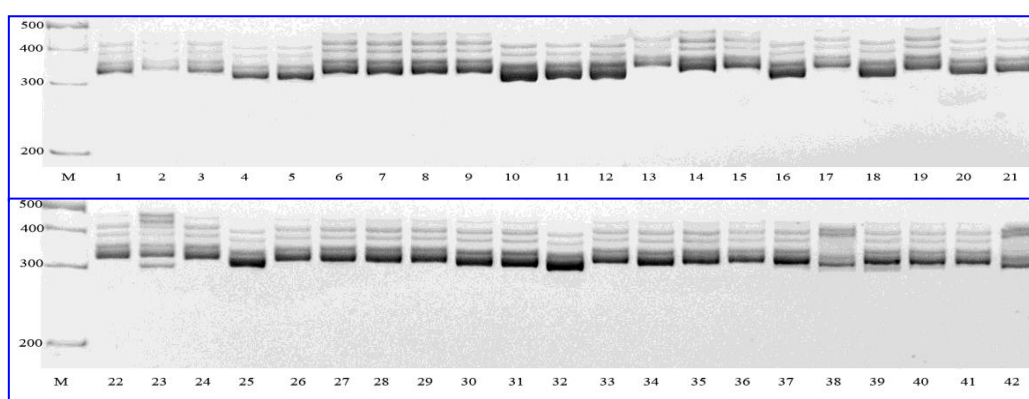


Fig. 4.1. Electroforegramele produsilor de amplificare a primerilor ORS1035 în gel de PPA (6%).

M – markerul masei moleculare, 1 – MS-2440C, 2 – MS-2064C, 3 – MS-1924C, 4 – MS-1944C, 5 – MS-1950C, 6 – MS-2080C, 7 – MS-1985C, 8 – MS-1995C, 9 – MS-2570C, 10 – MS-2275C, 11 – MS-3470C, 12 – MS-1920C, 13 – MS-2555C, 14 – MS-2540C, 15 – MS-2203C, 16 – MS-2583C, 17 – MS-2400C, 18 – MS-2565C, 19 – MS-2005C, 20 – MS-2020C, 21 – MS-2090C, 22 – MS-2550C, 23 – MS-2077A, 24 – MS-2067A, 25 – MS-2091A, 26 – MS-1589A, 27 – MS-2039A, 28 – MS-2098A, 29 – MS-2161A, 30 – MS-2073A, 31 – MS-2185A, 32 – MS-2075A, 33 – MS-2036A, 34 – MS-2026A, 35 – Codru, 36 – Dacia, 37 – Nistru, 38 – Zimbru, 39 – Talmaz, 40 – Doina, 41 – Cezar, 42 – Oscar.

Pentru markerul ORS240 au fost determinate 4 alele (239, 242, 258 și 268pb) și indicele PIC 0,8. Patru genotipuri (MS-2064C, MS-1950C, MS-2039A și MS-2185A) din cele 42 investigate nu au prezentat fragmente amplificate cu primeri ORS240, astfel, caracterizându-se prin prezența alelei nule. Cu excepția a unei linii materne MS-2077A și trei hibridi – Codru, Cezar și Oscar, care au demonstrat trei benzi, celelalte genotipuri s-au caracterizat printr-un singur fragment de amplificare (Figura 4.2).

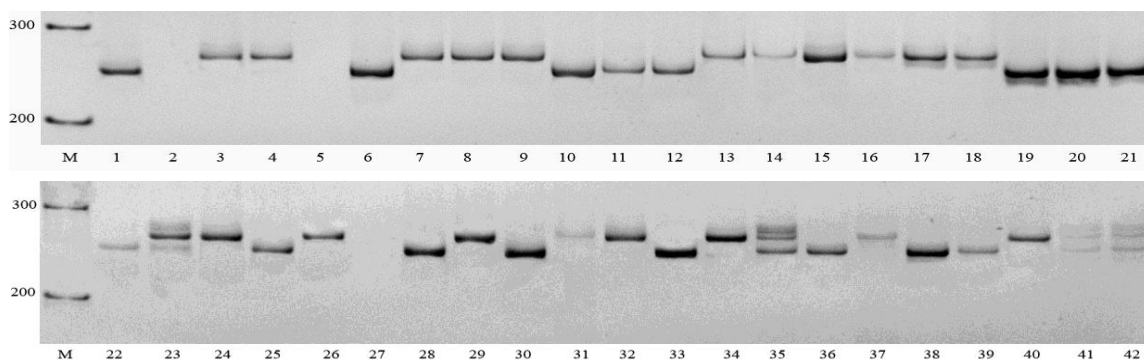


Fig. 4.2. Electroforegramele produșilor de amplificare a primerilor ORS240 în gel de PPA de 6%.

M – markerul masei moleculare, 1 – MS-2440C, 2 – MS-2064C, 3 – MS-1924C, 4 – MS-1944C, 5 – MS-1950C, 6 – MS-2080C, 7 – MS-1985C, 8 – MS-1995C, 9 – MS-2570C, 10 – MS-2275C, 11 – MS-3470C, 12 – MS-1920C, 13 – MS-2555C, 14 – MS-2540C, 15 – MS-2203C, 16 – MS-2583C, 17 – MS-2400C, 18 – MS-2565C, 19 – MS-2005C, 20 – MS-2020C, 21 – MS-2090C, 22 – MS-2550C, 23 – MS-2077A, 24 – MS-2067A, 25 – MS-2091A, 26 – MS-1589A, 27 – MS-2039A, 28 – MS-2098A, 29 – MS-2161A, 30 – MS-2073A, 31 – MS-2185A, 32 – MS-2075A, 33 – MS-2036A, 34 – MS-2026A, 35 – Codru, 36 – Dacia, 37 – Nistru, 38 – Zimbru, 39 – Talmaz, 40 – Doina, 41 – Cezar, 42 – Oscar.

Pentru markerul ORS203 a fost caracteristică prezența a 14 alele cuprinse între 226 și 809pb și indicele PIC a constituit 0,87. Polimorfismul a fost detectat în regiunile 226-265pb (cinci alele: 226, 245, 252, 254 și 265pb), 291-313pb (patru alele: 291, 297, 305 și 313pb) și 497-809pb (cinci alele: 497, 512, 540, 773 și 809pb), care a fost observat numai la șapte genotipuri – MS-2090C, MS-2550C, MS-2091A, MS-2098A, MS-2161A, MS-2185A și MS-2075A. *Pattern*-urile generate pentru fiecare genotip au conținut de la una (Dacia și Talmaz) până la patru benzi (formele hibride) (Figura 4.3).

Pentru markerul ORS328 a fost detectat cel mai mare număr de alele – 27, cuprinse între 96 și 647pb, indicele PIC constituind 0,92. Fiecare profil a fost format din 4-9 benzi. Astfel, polimorfismul a fost observat la nivelul prezenței/absenței benzii 96pb, în regiunea 102-198pb (cinci alele: 102, 115, 185, 194 și 198pb), în regiunea 200-298pb (11 alele: 200, 202, 205, 215, 223, 230, 246, 260, 280, 292 și 298pb), în regiunea 312-395pb (cinci alele: 312, 339, 352, 371 și 395pb), la nivelul alelelor 408/416pb, 532/540pb și prezenței/absenței alelei 647pb. În analiză nu au fost incluse benzile minore în regiunea 70-150pb.

Markerul analizat are un nivel de polimorfism înalt, însă profilurile generate au fost destul de încărcate, fapt care generează dificultăți în analiza gelurilor (Figura 4.4)

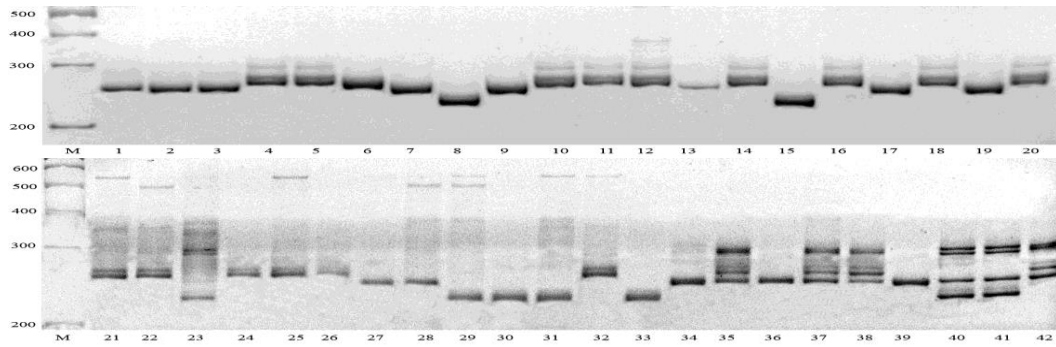


Fig. 4.3. Electroforegramele produșilor de amplificare a primerilor ORS203 în gel de PPA de 6%.

M – markerul masei moleculare, 1 – MS-2440C, 2 – MS-2064C, 3 – MS-1924C, 4 – MS-1944C, 5 – MS-1950C, 6 – MS-2080C, 7 – MS-1985C, 8 – MS-1995C, 9 – MS-2570C, 10 – MS-2275C, 11 – MS-3470C, 12 – MS-1920C, 13 – MS-2555C, 14 – MS-2540C, 15 – MS-2203C, 16 – MS-2583C, 17 – MS-2400C, 18 – MS-2565C, 19 – MS-2005C, 20 – MS-2020C, 21 – MS-2090C, 22 – MS-2550C, 23 – MS-2077A, 24 – MS-2067A, 25 – MS-2091A, 26 – MS-1589A, 27 – MS-2039A, 28 – MS-2098A, 29 – MS-2161A, 30 – MS-2073A, 31 – MS-2185A, 32 – MS-2075A, 33 – MS-2036A, 34 – MS-2026A, 35 – Codru, 36 – Dacia, 37 – Nistru, 38 – Zimbru, 39 – Talmaz, 40 – Doina, 41 – Cezar, 42 – Oscar.

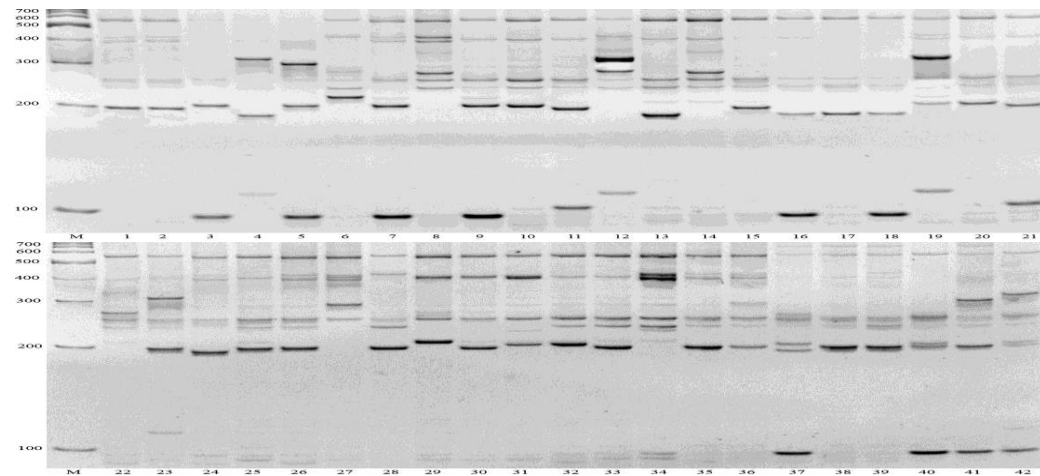


Fig. 4.4. Electroforegramele produșilor de amplificare a primerilor ORS328 în gel de PPA de 6%.

M – markerul masei moleculare, 1 – MS-2440C, 2 – MS-2064C, 3 – MS-1924C, 4 – MS-1944C, 5 – MS-1950C, 6 – MS-2080C, 7 – MS-1985C, 8 – MS-1995C, 9 – MS-2570C, 10 – MS-2275C, 11 – MS-3470C, 12 – MS-1920C, 13 – MS-2555C, 14 – MS-2540C, 15 – MS-2203C, 16 – MS-2583C, 17 – MS-2400C, 18 – MS-2565C, 19 – MS-2005C, 20 – MS-2020C, 21 – MS-2090C, 22 – MS-2550C, 23 – MS-2077A, 24 – MS-2067A, 25 – MS-2091A, 26 – MS-1589A, 27 – MS-2039A, 28 – MS-2098A, 29 – MS-2161A, 30 – MS-2073A, 31 – MS-2185A, 32 – MS-2075A, 33 – MS-2036A, 34 – MS-2026A, 35 – Codru, 36 – Dacia, 37 – Nistru, 38 – Zimbru, 39 – Talmaz, 40 – Doina, 41 – Cezar, 42 – Oscar.

Pentru markerul ORS31 au fost detectate 18 alele cuprinse între 291 și 459pb și indicele PIC a constituit 0,92. Profilul fiecărui genotip a inclus de la una până la 6 alele (MS-2555C, MS-2583C și MS-2565C). Polimorfismul s-a manifestat în regiunile benzilor 291/296pb, 300-398pb (12 alele: 300, 306, 312, 314, 321, 324, 333, 343, 351, 376 și 398pb) și 412-459pb (patru alele: 412, 416, 427 și 459pb) (Figura 4.5).

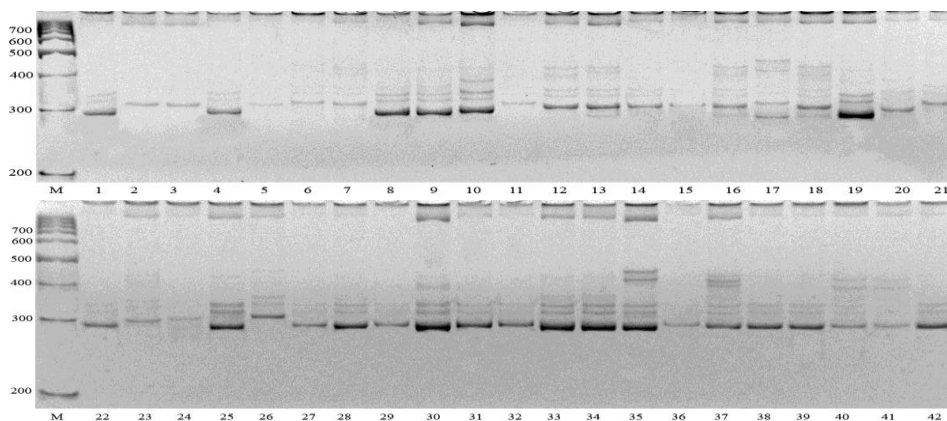


Fig. 4.5. Electroforegramele produșilor de amplificare a primerilor ORS31 în gel de PPA de 6%.

M – markerul masei moleculare, 1 – MS-2440C, 2 – MS-2064C, 3 – MS-1924C, 4 – MS-1944C, 5 – MS-1950C, 6 – MS-2080C, 7 – MS-1985C, 8 – MS-1995C, 9 – MS-2570C, 10 – MS-2275C, 11 – MS-3470C, 12 – MS-1920C, 13 – MS-2555C, 14 – MS-2540C, 15 – MS-2203C, 16 – MS-2583C, 17 – MS-2400C, 18 – MS-2565C, 19 – MS-2005C, 20 – MS-2020C, 21 – MS-2090C, 22 – MS-2550C, 23 – MS-2077A, 24 – MS-2067A, 25 – MS-2091A, 26 – MS-1589A, 27 – MS-2039A, 28 – MS-2098A, 29 – MS-2161A, 30 – MS-2073A, 31 – MS-2185A, 32 – MS-2075A, 33 – MS-2036A, 34 – MS-2026A, 35 – Codru, 36 – Dacia, 37 – Nistru, 38 – Zimbru, 39 – Talmaz, 40 – Doina, 41 – Cezar, 42 – Oscar.

Markerul ORS653 s-a caracterizat prin prezența a 24 alele cuprinse între 190 și 484pb și indicele PIC 0,75. Polimorfismul a fost detectat la nivelul prezenței/absenței benzii de 190 pb și în regiunile 224-296 pb (zece alele: 224, 243, 258, 272, 277, 279, 282, 294, 296 și 299 pb), 314-398 (opt alele: 314, 319, 333, 334, 338, 353, 382 și 398 pb) și 416-484 pb (cinci alele: 416, 420, 454, 462 și 484 pb). *Pattern*-urile generate pentru fiecare genotip au conținut de la patru (MS-3470C, MS-1920C, MS-2090C, MS-2026A și hibridul Doina) până la zece benzi (MS-2570C și MS2073A) (Figura 4.6).

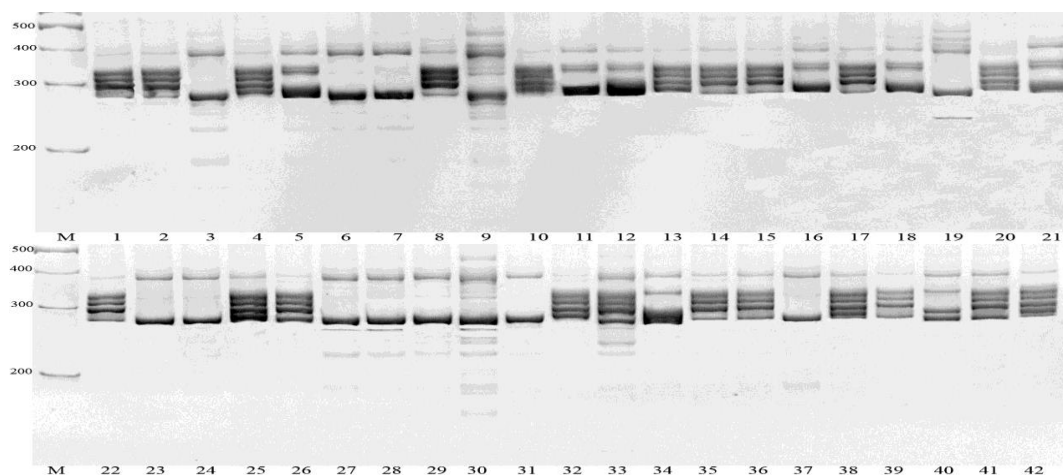


Fig. 4.6. Electroforegramele produșilor de amplificare a primerilor ORS653 în gel de PPA de 6%.

M – markerul masei moleculare, 1 – MS-2440C, 2 – MS-2064C, 3 – MS-1924C, 4 – MS-1944C, 5 – MS-1950C, 6 – MS-2080C, 7 – MS-1985C, 8 – MS-1995C, 9 – MS-2570C, 10 – MS-2275C, 11 – MS-3470C, 12 – MS-1920C, 13 – MS-2555C, 14 – MS-2540C, 15 – MS-2203C, 16 – MS-2583C, 17 – MS-2400C, 18 – MS-2565C, 19 – MS-2005C, 20 – MS-2020C, 21 – MS-2090C, 22 – MS-2550C, 23 – MS-2077A, 24 – MS-2067A, 25 – MS-2091A, 26 – MS-1589A, 27 – MS-2039A, 28 – MS-2098A, 29 – MS-2161A, 30 – MS-2073A, 31 – MS-2185A, 32 – MS-2075A, 33 – MS-2036A, 34 – MS-2026A, 35 – Codru, 36 – Dacia, 37 – Nistru, 38 – Zimbru, 39 – Talmaz, 40 – Doina, 41 – Cezar, 42 – Oscar.



Pentru markerul ORS254 au fost determinate 17 alele (507, 543, 547, 552, 553, 556, 564, 573, 579, 582, 591, 603, 615, 626, 632, 647 și 668 pb) și indicele PIC 0,8. Două genotipuri (MS-2064C și MS-2026A) din cele 42 investigate nu au prezentat fragmente amplificate cu primeri ORS254, astfel, caracterizându-se prin prezența alelei nule. Celelalte genotipuri s-au caracterizat prin prezența a trei benzi polimorfe (Figura 4.7).

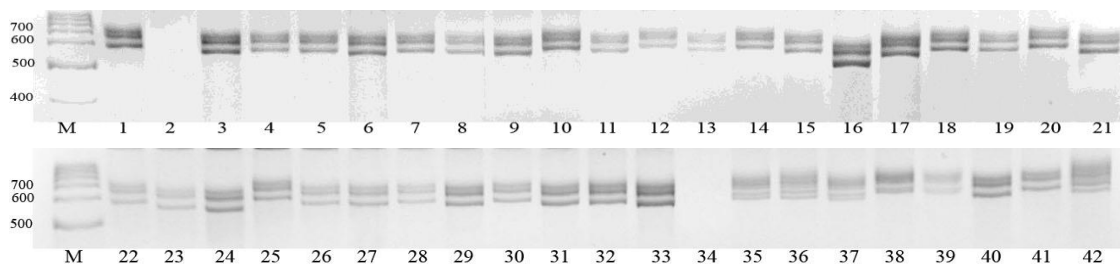


Fig. 4.7. Electroforegramele produsilor de amplificare a primerilor ORS254 în gel de PPA de 6%. m – markerul masei moleculare, 1 – MS-2440C, 2 – MS-2064C, 3 – MS-1924C, 4 – MS-1944C, 5 – MS-1950C, 6 – MS-2080C, 7 – MS-1985C, 8 – MS-1995C, 9 – MS-2570C, 10 – MS-2275C, 11 – MS-3470C, 12 – MS-1920C, 13 – MS-2555C, 14 – MS-2540C, 15 – MS-2203C, 16 – MS-2583C, 17 – MS-2400C, 18 – MS-2565C, 19 – MS-2005C, 20 – MS-2020C, 21 – MS-2090C, 22 – MS-2550C, 23 – MS-2077A, 24 – MS-2067A, 25 – MS-2091A, 26 – MS-1589A, 27 – MS-2039A, 28 – MS-2098A, 29 – MS-2161A, 30 – MS-2073A, 31 – MS-2185A, 32 – MS-2075A, 33 – MS-2036A, 34 – MS-2026A, 35 – Codru, 36 – Dacia, 37 – Nistru, 38 – Zimbru, 39 – Talmaz, 40 – Doina, 41 – Cezar, 42 – Oscar.

Pentru markerul ORS204 au fost detectate 12 alele (277, 286, 301, 313, 327, 331, 345, 368, 376, 389, 406 și 427 pb) și indicele PIC 0,8. *Pattern*-urile generate pentru fiecare genotip au conținut de la una (o linie paternă MS-2005C și șapte linii materne – MS-2067A, MS-1589A, MS-2098A, MS-2161A, MS-2073A, MS-2185A și MS-2036A) până la nouă benzi (MS-1944C) (Figura 4.8).

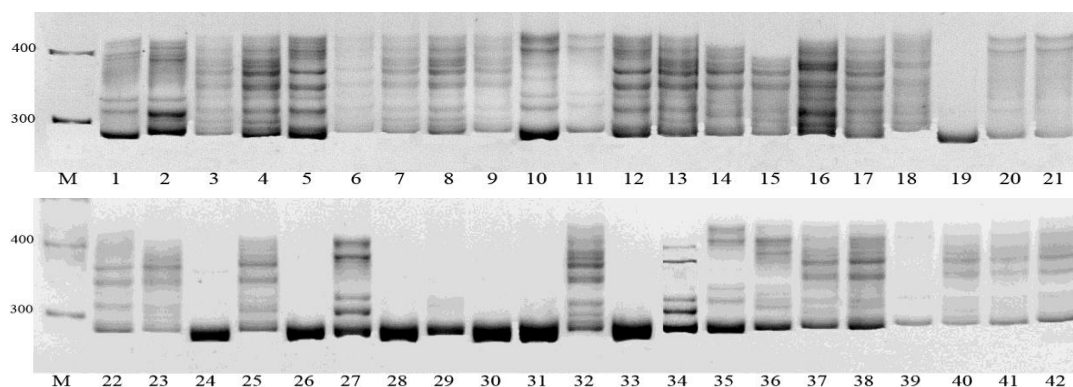


Fig. 4.8. Electroforegramele produsilor de amplificare a primerilor ORS204 în gel de PPA de 6%. M – markerul masei moleculare, 1 – MS-2440C, 2 – MS-2064C, 3 – MS-1924C, 4 – MS-1944C, 5 – MS-1950C, 6 – MS-2080C, 7 – MS-1985C, 8 – MS-1995C, 9 – MS-2570C, 10 – MS-2275C, 11 – MS-3470C, 12 – MS-1920C, 13 – MS-2555C, 14 – MS-2540C, 15 – MS-2203C, 16 – MS-2583C, 17 – MS-2400C, 18 – MS-2565C, 19 – MS-2005C, 20 – MS-2020C, 21 – MS-2090C, 22 – MS-2550C, 23 – MS-2077A, 24 – MS-2067A, 25 – MS-2091A, 26 – MS-1589A, 27 – MS-2039A, 28 – MS-2098A, 29 – MS-2161A, 30 – MS-2073A, 31 – MS-2185A, 32 – MS-2075A, 33 – MS-2036A, 34 – MS-2026A, 35 – Codru, 36 – Dacia, 37 – Nistru, 38 – Zimbru, 39 – Talmaz, 40 – Doina, 41 – Cezar, 42 – Oscar.

Pentru markerul ORS1242 a fost caracteristică prezența a 18 alele cuprinse între 239 și 426 pb, indicele PIC constituind 0,87. Polimorfismul a fost detectat în regiunile 239-285 pb (Șase alele: 239, 253, 261, 266, 275 și 285 pb), 311-398 pb (nouă alele: 311, 322, 328, 336, 353, 359, 362, 378 și 398 pb) și 402-426 pb (trei alele: 402, 421 și 426 pb). *Pattern*-urile generate pentru fiecare genotip au conținut de la patru (MS-2077A și hibridul Dacia) până la zece benzi (hibridul Cezar) (Figura 4.9).

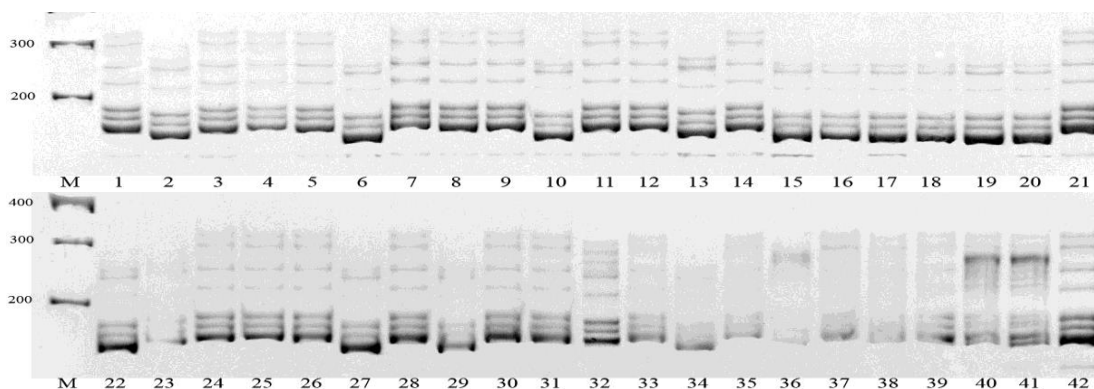


Fig. 4.9. Electroforegramele producțiilor de amplificare a primerilor ORS1242, PPA de 6%.

M – markerul masei moleculare, 1 – MS-2440C, 2 – MS-2064C, 3 – MS-1924C, 4 – MS-1944C, 5 – MS-1950C, 6 – MS-2080C, 7 – MS-1985C, 8 – MS-1995C, 9 – MS-2570C, 10 – MS-2275C, 11 – MS-3470C, 12 – MS-1920C, 13 – MS-2555C, 14 – MS-2540C, 15 – MS-2203C, 16 – MS-2583C, 17 – MS-2400C, 18 – MS-2565C, 19 – MS-2005C, 20 – MS-2020C, 21 – MS-2090C, 22 – MS-2550C, 23 – MS-2077A, 24 – MS-2067A, 25 – MS-2091A, 26 – MS-1589A, 27 – MS-2039A, 28 – MS-2098A, 29 – MS-2161A, 30 – MS-2073A, 31 – MS-2185A, 32 – MS-2075A, 33 – MS-2036A, 34 – MS-2026A, 35 – Codru, 36 – Dacia, 37 – Nistru, 38 – Zimbru, 39 – Talmaz, 40 – Doina, 41 – Cezar, 42 – Oscar.

Markerul ORS805 s-a caracterizat prin prezența a 23 alele cuprinse între 195 și 621 pb, valoarea indicelui PIC a constituit 0,87 (Figura 4.10).

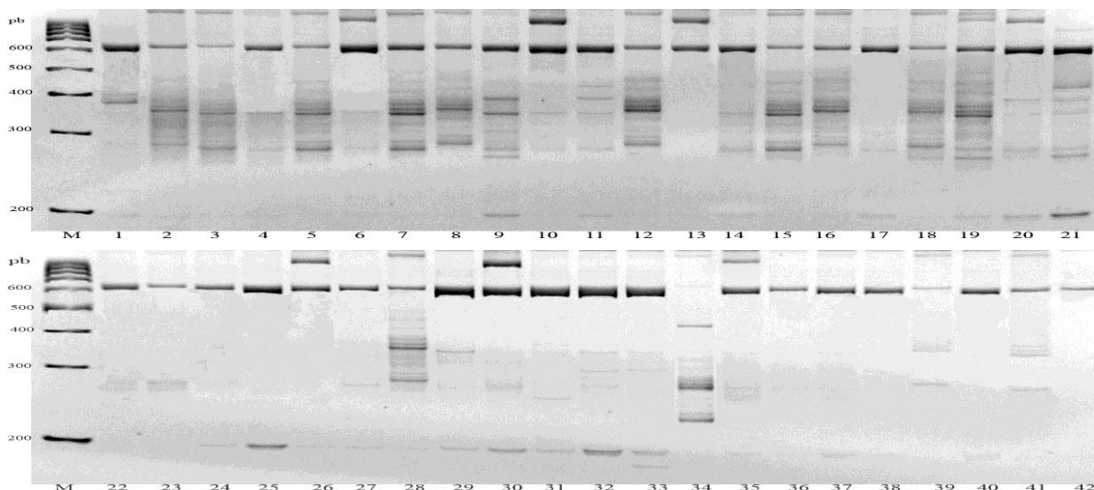


Fig. 4.10. Electroforegrama producțiilor de amplificare a primerilor ORS805 în gel de PPA de 6%.

M – markerul masei moleculare, 1 – MS-2440C, 2 – MS-2064C, 3 – MS-1924C, 4 – MS-1944C, 5 – MS-1950C, 6 – MS-2080C, 7 – MS-1985C, 8 – MS-1995C, 9 – MS-2570C, 10 – MS-2275C, 11 – MS-3470C, 12 – MS-1920C, 13 – MS-2555C, 14 – MS-2540C, 15 – MS-2203C, 16 – MS-2583C, 17 – MS-2400C, 18 – MS-2565C, 19 – MS-2005C, 20 – MS-2020C, 21 – MS-2090C, 22 – MS-2550C, 23 – MS-2077A, 24 – MS-2067A, 25 – MS-2091A, 26 – MS-1589A, 27 – MS-2039A, 28 – MS-2098A, 29 – MS-2161A, 30 – MS-2073A, 31 – MS-2185A, 32 – MS-2075A, 33 – MS-2036A, 34 – MS-2026A, 35 – Codru, 36 – Dacia, 37 – Nistru, 38 – Zimbru, 39 – Talmaz, 40 – Doina, 41 – Cezar, 42 – Oscar.

Polimorfismul a fost detectat la nivelul prezenței/absenței benzii de 195 pb și în regiunile 246-286 pb (șase alele: 246, 254, 268, 276, 283 și 286 pb), 302-380 pb (șapte alele: 302, 346, 351, 356, 365, 370 și 380 pb), 402-486 pb (șapte alele: 402, 410, 417, 444, 455, 468 și 486 pb) și la nivelul alelelor 601/621 pb. *Pattern*-urile generate pentru fiecare genotip au inclus de la una (MS-2555C și hibridul Oscar) până la zece benzi (MS-1920C, MS-2005C și MS-2098A). Benzile mai mari de 1000 pb nu au fost incluse în analiză.

***Analiza clusteriană în baza markerilor SSR.*** În baza polimorfismului relevat cu ajutorul markerilor SSR genotipurile investigate au fost clasificate în cinci cluster (Figura 4.11).

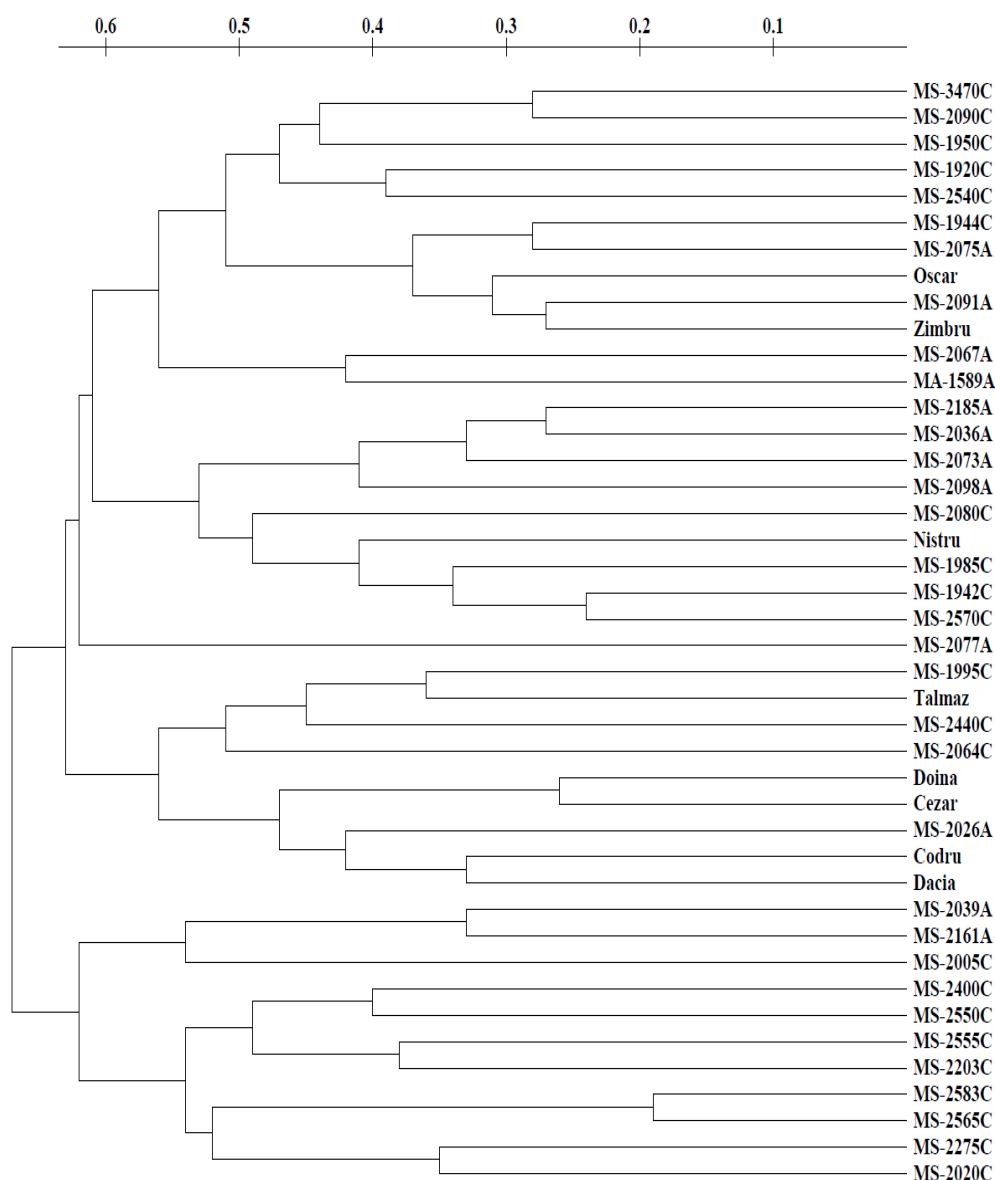


Fig. 4.11. Rezultatele clusterizării genotipurilor investigate, obținute în baza markerilor microsateliți.

Primul cluster este format din 21 genotipuri: zece linii *Rf* (MS-3470C, MS-2090C, MS-1950C, MS-1920C, MS-2540C, MS-1944C, MS-2080C, MS-1985C, MS-1942C și MS-2570C), opt linii cu ASC (MS-2075A, MS-2091A, MS-2067A, MS-1589A, MS-2185A, MS-2036A, MS-2073A și MS-2098A) și trei forme hibride (Zimbru, Oscar și Nistru). Hibrizii au fost grupați împreună cu formele parentale (de ex., hibrizii Zimbru și Oscar cu forma maternă MS-2091A, dar hibridul Nistru cu forma paternă MS-2570C). Dintre formele parentale numai forma paternă a hibridului Zimbru – MS-2440C nu a fost inclusă în primul cluster, aflându-se în clusterul trei. Clusterul al doilea este format dintr-un singur genotip androsteril – MS-2077A. Al treilea cluster a inclus nouă genotipuri: cinci hibridi (Talmaz, Doina, Cezar, Codru și Dacia), trei linii *Rf* (MS-1995C, MS-2440C și MS-2064C) și o linie ASC – MS-2026A. Astfel, patru forme hibride în clusterul respectiv au fost grupate împreună cu linia paternă MS-2440C, cu excepția hibridului Doina formele parentale a cărui au fost clasificate în primul și al doilea cluster. Două genotipuri cu ASC – MS-2039A și MS-2161A și un genotip *Rf* – MS-2005C au format clusterul patru. Clusterul cinci a inclus opt linii *Rf*: MS-2400C, MS-2550C, MS-2555C, MS-2203C, MS-2583C, MS-2565C, MS-2275C și MS-2020C [111].

#### **4.2. Screening-ul germoplasmei cu referire la mană**

Mana florii-soarelui, cauzată de micromiceta *Plasmopara halstedii* F. Berl et de Toni este una din cele mai devastatoare boli, cu o incidență ce poate varia de la urme până la cca 50-95% [36, 52, 67, 107, 232, 247]. Majoritatea plantelor systemic infectate mor prematur sau pot produce un număr foarte mic de semințe viabile. Răspândirea bolii variază considerabil în funcție de condițiile de creștere, în special, nivelul de umiditate și curenții atmosferici. Pentru a limita răspândirea bolii sunt aplicate diverse preparate fungicide cu proprietăți sistemice de lungă durată, ca exemplu metalaxilul [246]. Cea mai eficientă metoda de combatere a patogenului rămâne a fi obținerea de noi hibridi rezistenți, care actualmente se produc și se comercializează într-o gamă destul de mare. Apariția noilor rase patogene cu virulență sporită compromise, însă, cultivarea cu succes a hibridilor în anumite regiuni și denotă actualitatea studiilor axate pe identificarea noilor surse de rezistență și combinarea acestora cu cele existente [118, 223, 247].

Simptomele induse de mană sunt reprezentate prin creșterea și dezvoltarea mai lentă a plantelor, prezența frunzelor de culoare verde deschisă, cu pete clorotice de-a lungul nervurilor principale și a limbului foliar, sau clorotice integral, rigide și deformate, în cazul infecțiilor grave. În condiții de umiditate sporită, pe partea inferioară a frunzelor, în locurile unde sunt poziționate petele clorotice, se dezvoltă sporangiofori și sporangii, cu aspect de puf de culoare albă. În unele cazuri frunzele sunt răsucite și ofilite [196, 199]. Calatidiile plantelor infectate au

dimensiuni reduse, sunt întoarse în sus și conțin un număr mic de semințe sau acestea lipsesc în totalitate. sistemul radicular al florii-soarelui atacate este slab dezvoltat, cu puține rădăcini secundare (Figura 4.12).



Fig. 4.12. Manifestarea manei (*Plasmopara halstedii*) la diferite faze ontogenetice de dezvoltare a florii-soarelui.

**Amplificarea probelor de ADN cu primeri pentru *Pl<sub>1</sub>*.** Gena *Pl<sub>1</sub>* este prima gena de rezistență la mană, notată de Vrânceanu (1970) *Pl<sub>1</sub>*, prezența acesteia în premieră a fost demonstrată la linia consangvinizată AD-66 obținută la Fundulea [23].

Actualmente, pentru identificarea prezenței genei *Pl<sub>1</sub>* sunt disponibili mai mulți marcheri moleculari: CAPS pentru locusul Ha-4W2 linkat cu gena *Pl<sub>1</sub>* [117] și SSR – ORS1043, ORS166 la distanța de 3.4 cM [225].

Pentru determinarea prezenței genei *Pl<sub>1</sub>* în genotipurile investigate a fost utilizat markerul CAPS linkat cu gena *Pl<sub>1</sub>*.

Markerul CAPS linkat cu gena *Pl<sub>1</sub>* a fost elaborat de către Gedil și colab. (2001). Liniile sensibile la mană (HA89 și HA372) nu dispuneau de un fragment de 276 pb obținut în urma restricției cu enzima Tsp509I, care a fost prezent la liniile rezistente la *P. helianthi* (HA370, 335, 336, 337, 338 și 339). Deși markerii genetici pentru locusul Ha-4W2 pot fi utilizați în procesul de selecție asistată de marcheri, gena candidat (RGC – Resistance Gene Candidate) detectată de markerul CAPS a fost exclusă în calitate de genă candidat pentru *Pl<sub>1</sub>* [117].

Aplicarea markerului dat în *screening*-ul molecular al rezistenței la 42 genotipuri de floarea-soarelui a demonstrat prezența fragmentului de 363 pb după amplificare (Figura 4.13), ceea ce coincide cu datele obținute anterior de către Gedil și colab. (2001).

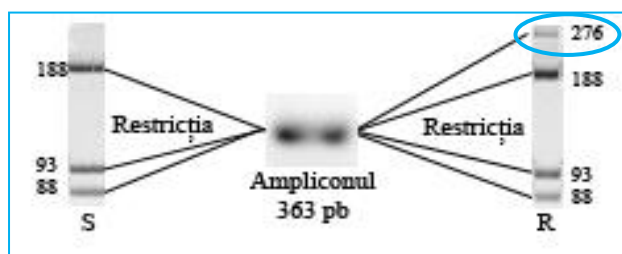


Fig. 4.13. Restricția produsului de amplificare a locusului Ha-4W2 cu Tsp509I [22]  
S – susceptibil; R – rezistent.

Restricția ulterioară a ampliconului cu enzima TasI (Tsp509I) a generat fragmente de 88 pb, 93 pb, 188 pb și 276 pb (Figura 4.14), rezultate care corespund cu datele obținute de către alți cercetători [117]. Astfel, combinația de trei fragmente 88, 93 și 188 pb a fost asociată de către Gedil și colab. cu susceptibilitatea la rasa 100 de mana florii-soarelui și prezența a patru fragmente 88, 93, 188 și 276 pb cu rezistența. Liniile susceptibile s-au caracterizat prin lipsa fragmentului de 276 pb, fiindu-i atribuită semnificația de marker dominant [117].

În cadrul cercetărilor realizate în prezenta lucrare, după restricție, fragmentul de 276 pb (Figura 4.14) a fost stabilit la toate cele 42 genotipuri studiate, indicând astfel rezistența acestora la mană.

Datele obținute pot fi utile la etapa incipientă de selectare a liniilor parentale în ameliorarea florii-soarelui pentru rezistență, oferind posibilitatea de aplicare a piramidizării genelor pentru obținerea hibrizilor rezistenți la mană.

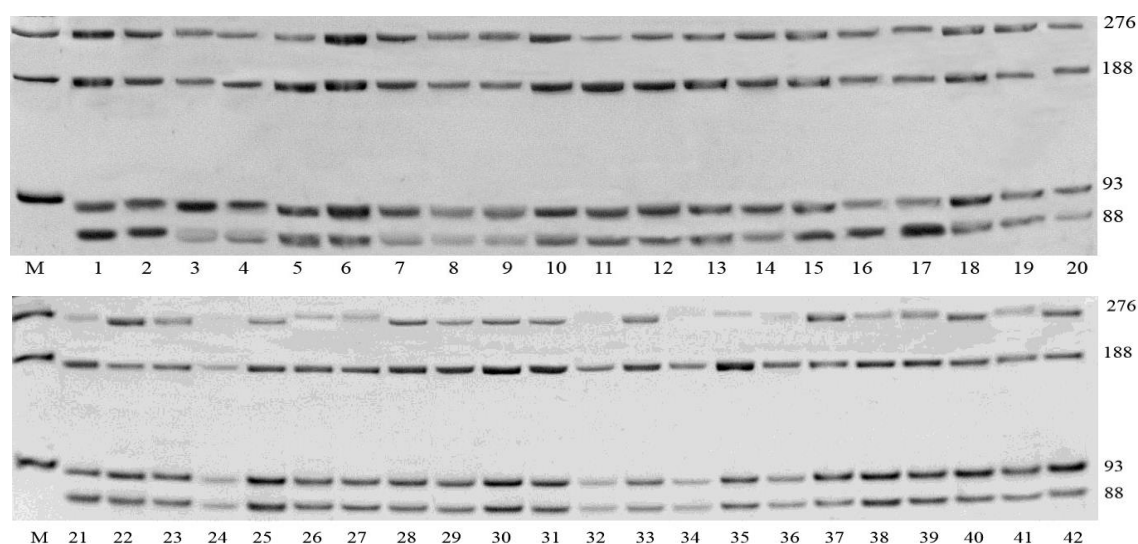


Fig. 4.14. Analiza CAPS a ampliconilor obținuți cu primeri specifici pentru locusul Ha-4W2 lincat cu gena *PII*.

M – markerul masei moleculare, 1 – MS-2440C, 2 – MS-2064C, 3 – MS-1924C, 4 – MS-1944C, 5 – MS-1950C, 6 – MS-2080C, 7 – MS-1985C, 8 – MS-1995C, 9 – MS-2570C, 10 – MS-2275C, 11 – MS-3470C, 12 – MS-1920C, 13 – MS-2555C, 14 – MS-2540C, 15 – MS-2203C, 16 – MS-2583C, 17 – MS-2400C, 18 – MS-2565C, 19 – MS-2005C, 20 – MS-2020C, 21 – MS-2090C, 22 – MS-2550C, 23 – MS-2077A, 24 – MS-2067A, 25 – MS-2091A, 26 – MS-1589A, 27 – MS-2039A, 28 – MS-2098A, 29 – MS-2161A, 30 – MS-2073A, 31 – MS-2185A, 32 – MS-2075A, 33 – MS-2036A, 34 – MS-2026A, 35 – Codru, 36 – Dacia, 37 – Nistru, 38 – Zimbru, 39 – Talmaz, 40 – Doina, 41 – Cezar, 42 – Oscar.

*Screening-ul* genei *PII* prin utilizarea markerului molecular CAPS a demonstrat prezența fragmentului asociat cu rezistența la toate cele 42 genotipuri incluse în cercetare. Datele respective pot fi utilizate de către amelioratori pentru selectarea formelor parentale de perspectivă în ameliorarea florii-soarelui pentru rezistență la mană.

**Amplificarea probelor de ADN cu primeri pentru *Pl6*.** Gena *Pl6* este una din genele specifice de rezistență a florii-soarelui la mană, ce conferă rezistență la rasele 100, 300, 700, 703, 710 [77] și 730 [184]. Locusul *Pl6* ar trebui să conțină cel puțin 11 gene strâns linkate fiecare asigurând rezistența la rase diferite de mană. Bouzidi și colaboratorii au realizat *desing-ul* a 13 marcheri STS, care acoperă distanța 3 cM și centrate pe locusul *Pl6* [77].

În 2007 D. Pankovic și colaboratorii în urma analizei liniilor isogene rezistente și susceptibile și familiilor de descendenți F<sub>3</sub> a acestora au transformat markerul HAP3 în marker

CAPS, care poate fi utilizat în selecția asistată de markeri a genotipurilor rezistente de floarea-soarelui.

De asemenea, a fost demonstrată asocierea markerilor respectivi cu rezistența la rasa 730 de mană, astfel, a fost pus în evidență faptul că gena *Pl6* asigură rezistență inclusiv la rasa dată [184].

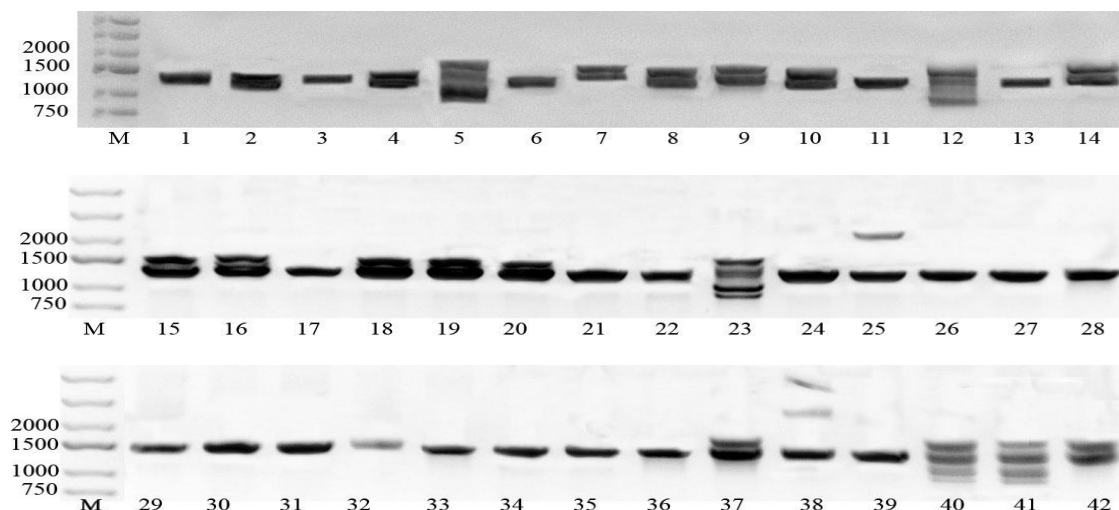


Fig. 4.15. Rezultatele amplificării cu primeri HAP3 specifici secvențelor candidate pentru genele de rezistență cu gena *Pl6*.

M – markerul masei moleculare, 1 – MS-2440C, 2 – MS-2064C, 3 – MS-1924C, 4 – MS-1944C, 5 – MS-1950C, 6 – MS-2080C, 7 – MS-1985C, 8 – MS-1995C, 9 – MS-2570C, 10 – MS-2275C, 11 – MS-3470C, 12 – MS-1920C, 13 – MS-2555C, 14 – MS-2540C, 15 – MS-2203C, 16 – MS-2583C, 17 – MS-2400C, 18 – MS-2565C, 19 – MS-2005C, 20 – MS-2020C, 21 – MS-2090C, 22 – MS-2550C, 23 – MS-2077A, 24 – MS-2067A, 25 – MS-2091A, 26 – MS-1589A, 27 – MS-2039A, 28 – MS-2098A, 29 – MS-2161A, 30 – MS-2073A, 31 – MS-2185A, 32 – MS-2075A, 33 – MS-2036A, 34 – MS-2026A, 35 – Codru, 36 – Dacia, 37 – Nistru, 38 – Zimbru, 39 – Talmaz, 40 – Doina, 41 – Cezar, 42 – Oscar.

Pentru *screening*-ul molecular al genotipurilor de floarea-soarelui a fost selectată perechea de primeri HAP3, care generează în urma amplificării fragmente de: 1720, 1330, 1060 și 940 pb determinate după markerul de masă moleculară în gel de electroforeză [195] sau 1811, 1406, 1119 și 988 pb [77] determinate în urma secvențierii.

Trei fragmente (R1 1720 pb, R2 1060 pb, R3 940 pb după Pancovic și colab.(2007) și Ha-NBS 11 - 1811 pb, Ha-NBS 13 - 1119 pb, Ha-NBS 14 - 988 pb după Bouzidi și colab. (2002) au fost caracteristice pentru linia parentală rezistentă și un fragment a fost comun pentru ambii părinți (S1 1330 pb sau Ha-NBS 12 1406 pb respectiv). Autorii denotă că fragmentele asociate cu susceptibilitatea par să fie similare [184].

Studiul efectuat a demonstrat prezența fragmentelor asociate cu rezistența la 22 de genotipuri din cele 42 analizate. Ampliconii, care indică rezistență asigurată de gena *Pl6*, au fost puși în evidență la 15 linii paterne din 22 studiate (MS-2064C, MS-1944C, MS-1950C, MS-



2080C, MS-1985C, MS-1995C, MS-2570C, MS-2275C, MS-1920C, MS-2540C, MS-2203C, MS-2583C, MS-2565C, MS-2005C, MS-2020C) și la doar două linii materne cu ASC (MS-2077A, MS-2091A) din cele 12 analizate (Figura 4.15).

Din 8 hibridi F<sub>1</sub> incluși în investigație numai trei (Codru, Dacia, Talmaz) s-au caracterizat prin prezența în gel a fragmentului asociat cu susceptibilitatea (Tabelul 4.2).

Tabelul 4.2. Repartizarea genotipurilor în funcție de prezența sau absența markerilor asociați cu gena de rezistență *Pl6*

<b>Genotipuri</b>	<b>Rezistente</b>	<b>Susceptibile</b>
<b>Hibridi F<sub>1</sub> (5R/3S)</b>	Nistru, Zimbru, Doina, Cezar, Oscar.	Codru, Dacia, Talmaz.
<b>Linii Rf (15R/7S)</b>	MS-2064C, MS-1944C, MS-1950C, MS-2080C, MS-1985C, MS-1995C, MS-2570C, MS-2275C, MS-1920C, MS-2540C, MS-2203C, MS-2583C, MS-2565C, MS-2005C, MS-2020C.	MS-2440C, MS-1924C, MS-3470C, MS-2555C, MS-2400C, MS-2090C, MS-2550C
<b>Linii ASC (2R/10S)</b>	MS-2077A, MS-2091A.	MS-2067A, MS-1589A, MS-2039A, MS-2098A, MS-2161A, MS-2073A, MS-2185A, MS-2075A, MS-2036A, MS-2026A
	<b>22 genotipuri</b>	<b>20 genotipuri</b>
	<b>Total 42 genotipuri</b>	

Nivelul de infectare a celor 42 de genotipuri a fost analizat, inclusiv prin observații în câmp (Tabelul 4.3 - 4.5), pe parcursul a doi ani, în perioada 2013-2014. Gradul de infectare în câmp a liniilor materne a variat, în mediu pe 2 ani, în limitele de la 0 până la 5.2 %, un nivel mai mare de infecție stabilindu-se în anul 2014.

Analiza comparativă a datelor din câmp cu cele moleculare a permis să constatăm că liniile care posedă genele rezistenței la mană *Pl1* și *Pl6* nu au fost infectate sau manifestă un nivel ne semnificativ de infecție, pe când liniile MS-2098A și MS-2039A, care nu posedă nici una dintre genele analizate și care sunt obținute din germoplasma locală manifestă cel mai înalt grad de infecție [93].

Rezultatele prezentate demonstrează totodată că germoplasma europeană și cea obținută din colecțiile VIR și VNIIMK posedă ambele sau cel puțin o genă de rezistență la mană și pun în evidență un nivel mai sporit de rezistență în câmp comparativ cu liniile obținute din germoplasma autohtonă.

Tabelul 4.3. Nivelul de infectare cu *Plasmopara helianthi* a liniilor materne în condiții naturale

Linii materne, ASC	Originea genetică	Rezistența apreciată la nivel molecular		Rata de infectare cu mană în experimentele din câmp în anii, %		Gradul mediu de infectare a liniilor cu mană
		<i>PII</i>	<i>PI6</i>	2013	2014	
MS-2077A	Hibrizi europeni	R	R	0	0	0
MS-2091A	Hibrizi europeni	R	R	0	0	0
MS-2161A	Resurse VIR	R	S	0	0	0
MS-2036A	Resurse VIR	R	S	0	0	0
MS-2026A	Hibrizi europeni	R	S	0	0	0
MS-2067A	Hibrizi europeni	R	S	0	1,0	0,5
MS-2073A	Resurse VNIIMK	R	S	0,5	1,4	1,0
MS-2075A	Resurse VNIIMK	R	S	0,9	1,2	1,1
MS-1589A	Resurse VNIIMK	R	S	0,7	2,0	1,4
MS-2185A	Resurse VNIIMK	R	S	2,3	2,5	2,4
MS-2098A	Resurse locale	R	S	1,1	8,8	4,9
MS-2039A	Resurse locale	R	S	1,0	9,4	5,2

Analizând datele privind nivelul de infecție a liniilor parentale constatăm, că gradul de infectare în câmp în mediu pe 2 ani se încadrează în limitele de 0 – 1,9%. Rezistente în câmp s-au dovedit a fi liniile MS-1944C și MS-2540C, care posedă genele de rezistență *PII* și *PI6*.

Tabelul 4.4. Nivelul de infectare cu *Plasmopara helianthi* a liniilor paterne în condiții naturale

Linii paterne restauratoare de fertilitate	Originea genetică	Rezistența apreciată la nivel molecular		Rata de infectare cu mană, %		Gradul mediu de infectare a liniilor cu mană
		<i>PII</i>	<i>PI6</i>	2013	2014	
MS-1944C	Hibrizi europeni	R	R	0	0	0
MS-2540C	Hibrizi europeni	R	R	0	0	0
MS-2203C	Hibrizi europeni	R	R	0	0,2	0,1
MS-2570C	Resurse locale	R	R	0,1	0,5	0,3
MS-1920C	Resurse VNIIMK	R	R	0,2	0,4	0,3
MS-1942C	Hibrizi europeni	R	S	1,0	1,6	1,3
MS-2440C	Resurse locale	R	S	1,2	2,5	1,9

Aceste linii au fost obținute din hibrizi europeni rezistenți la mană. Liniile parentale, restauratoare de fertilitate, provenite din surse locale și din colecția VNIIMK - MS-2570C și MS-1920C au prezente în setul cromozomial aceleași gene de rezistență, iar gradul de atac fiind de 0,3%. Cel mai mult s-a infectat linia MS-2440C, cu proveniența din germoplasma autohtonă.

De remarcat, linia restauratoare de fertilitate MS-2570C, de proveniență autohtonă, adaptată la condițiile pedo-climaterice și de cultivare specifice regiunii noastre, care manifestă

un nivel scăzut de infecție (în medie 0,3) și poate fi propusă ca sursă de rezistență la mană în procesul de ameliorare.

Evaluarea datelor moleculare și a celor din câmp, scot în evidență hibridii Doina și Cezar, care posedă genele de rezistență *Pl1* și *Pl6* nu au fost atacați în câmp. Printr-un nivel mai înalt de infecție se disting hibridii Codru, Dacia și Talmaz, gradul de atac constituind – 2,6%, 1,7% și 1,5%, corespunzător. Gradul de atac în mediu pe experiență a variat între 0 și 2,6%.

Tabelul 4.5. Nivelul de infectare cu *Plasmopara helianthi* a hibridilor raionați în condiții naturale

Denumirea hibridului	Rezistența apreciată la nivel molecular		Rata de infectare cu mană, %		Gradul mediu de infectare a liniilor cu mană
	<i>Pl1</i>	<i>Pl6</i>	2013	2014	
<b>Doina</b>	R	R	0	0	0
<b>Cezar</b>	R	R	0	0	0
<b>Zimbru</b>	R	R	0,2	0,9	0,6
<b>Oscar</b>	R	R	0,1	0,7	0,4
<b>Nistru</b>	R	R	0,7	1,0	0,9
<b>Talmaz</b>	R	S	1,3	1,7	1,5
<b>Dacia</b>	R	S	1,2	2,2	1,7
<b>Codru</b>	R	S	1,5	3,7	2,6

Prin analiza comparativă a datelor obținute în cadrul experiențelor din câmp și cele ale studiilor la nivel molecular se constată că liniile care posedă genele rezistenței la mană *Pl1* și *Pl6* nu au fost infectate sau manifestă un nivelul nesemnificativ de infecție. Corelațiile stabilite denotă eficiența *screening*-ului molecular în aprecierea rapidă și corectă a materialului utilizat în ameliorare și a hibridilor obținuți [9, 93, 107].

### 4.3. *Screening*-ul germoplasmei cu referire la rugină

Rugina cauzată de *Puccinia helianthi* reprezintă una dintre cele mai răspândite patologii ale florii-soarelui [194]. Pagubele produse variază semnificativ în funcție de condițiile climaterice locale, favorabile dezvoltării bolii [111], de calitatea lucrărilor agrotehnice și de sensibilitatea germoplasmei hibridilor comerciali la diferite rase de rugină [28]. *Puccinia helianthi* determină apariția pe partea superioară a frunzelor a unor pete galben-portocalii, iar pe partea inferioară a unor pustule pulverulente brun-ruginii, urmate de apariția unor pete mici pulverulente de culoare brun-închisă. În cazul atacului sever are loc îmbătrânirea rapidă a frunzelor, uneori chiar uscarea completă a plantelor, fapt ce cauzează pierderi în recolta de floarea-soarelui de cca 60-80% [110].

Manifestarea simptomatică a ruginii este prezentată în figura 4.16.

La rugină cu ajutorul markerilor moleculari a fost cartografiată o serie de gene de rezistență (R): *R1* și *R2* [155, 197], *R4* [194], *R5* [195], *R11* [198], *R12* [119], *R13* [194] etc.



Fig. 4.16. Aspecte fenotipice de manifestare a ruginii (*Puccinia helianthi*).

Gena *R1* a fost descrisă pentru prima dată în anul 1963 ca factor ereditar, ce conferă rezistență la rasa de rugină 100 [193]. Pentru *screening*-ul molecular al genei *R1* a fost elaborat markerul de tip SCAR (Sequence Characterized Amplified Regions) - SCT06950, care determină producerea unui amplicon de 950 pb asociat cu rezistența la rugină [155]. Genele *R2*, *R4* și *R5* conferă rezistență la rasa de rugină 300 [115], iar gena *R11*, identificată la linia *Rf* ANN-1742 - la rasele 336 și 777, cunoscute ca foarte virulente [198].

*Screening*-ul molecular al liniilor de floarea-soarelui privind prezența genei *R1* a demonstrat prezența fragmentului de 950 pb asociat cu rezistența la doar 13 genotipuri din cele 42 incluse în cercetare. Ampliconii, care indică rezistența asigurată de gena *R1*, au fost puși în evidență la 10 linii paterne din 22 studiate (Figura 4.17, Tabelul 4.6), iar în cazul celor 12 linii maternelor cu ASC fragmentul de 950 pb asociat genei *R1* a fost absent la toate genotipurile cercetate. Din 8 hibrizi  $F_1$  incluși în investigație doar trei (Codru, Dacia, Talmaz) s-au caracterizat prin prezența în gel a fragmentului asociat cu gena *R1*.

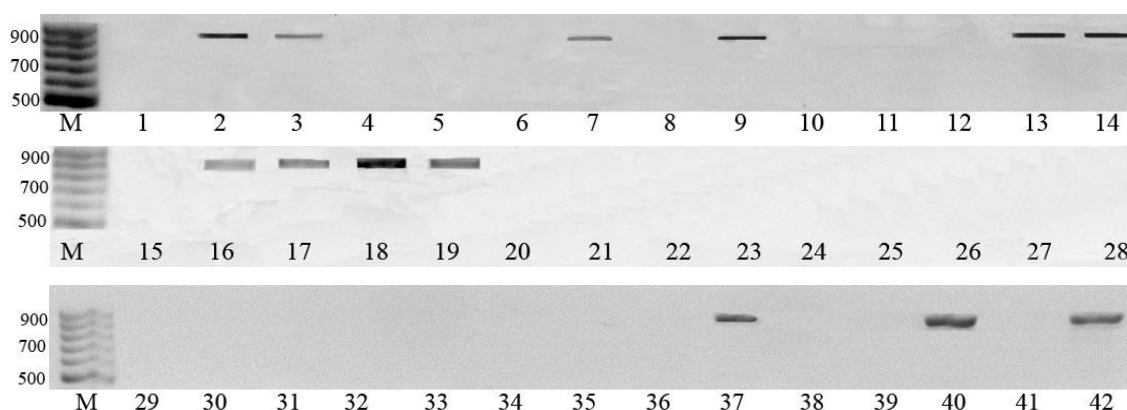


Fig. 4.17. Screening-ul molecular al liniilor de floarea-soarelui privind prezența genei *Rf*.

M – markerul masei moleculare, 1 – MS-2440C, 2 – MS-2064C, 3 – MS-1924C, 4 – MS-1944C, 5 – MS-1950C, 6 – MS-2080C, 7 – MS-1985C, 8 – MS-1995C, 9 – MS-2570C, 10 – MS-2275C, 11 – MS-3470C, 12 – MS-1920C, 13 – MS-2555C, 14 – MS-2540C, 15 – MS-2203C, 16 – MS-2583C, 17 – MS-2400C, 18 – MS-2565C, 19 – MS-2005C, 20 – MS-2020C, 21 – MS-2090C, 22 – MS-2550C, 23 – MS-2077A, 24 – MS-2067A, 25 – MS-2091A, 26 – MS-1589A, 27 – MS-2039A, 28 – MS-2098A, 29 – MS-2161A, 30 – MS-2073A, 31 – MS-2185A, 32 – MS-2075A, 33 – MS-2036A, 34 – MS-2026A, 35 – Codru, 36 – Dacia, 37 – Nistru, 38 – Zimbru, 39 – Talmaz, 40 – Doina, 41 – Cezar, 42 – Oscar.

De menționat faptul că datele analizei moleculare prin care s-a pus în evidență lipsa genei de rezistență la rugină *Rf* la toate liniile materne sunt confirmate prin rezultatele cercetărilor din câmp, infecția fiind detectată la fel la toate liniile testate. Valorile gradului de infectare a variat între 0,1 și 93,5%.

Tabelul 4.6. Repartizarea genotipurilor în funcție de prezența sau absența markerilor asociați cu gena de rezistență *Rf*

Genotipuri	Rezistente	Susceptibile
<b>Hibrizi F<sub>1</sub> (3R/5S)</b>	<b>Nistru, Doina, Oscar</b>	<b>Codru, Dacia, Zimbru, Talmaz, Cezar</b>
<b>Linii Rf (10R/12S)</b>	MS-2064C, MS-1924C, MS-1985C, MS-2570C, MS-2555C, MS-2540C, MS-2583C, MS-2400C, MS-2565C, MS-2005C.	MS-2440C, MS-1944C, MS-1950C, MS-2080C, MS-1995C, MS-2275C, MS-3470C, MS-1920C, MS-2203C, MS-2020C, MS-2090C, MS-2550C,
<b>Linii ASC (0R/12S)</b>		MS-2077A, MS-2067A, MS-2091A, MS-1589A, MS-2039A, MS-2098A, MS-2161A, MS-2073A, MS-2185A, MS-2075A, MS-2036A, MS-2026A
	<b>13 genotipuri</b>	<b>29 genotipuri</b>
	<b>Total 42 genotipuri</b>	

Cel mai puternic au fost atacate liniile MS-2185A și MS-2073A create în baza surselor din Krasnodar – VNIIMK și linia MS-2026A obținută din hibrizi europeni, gradul de atac fiind de

93,5; 61,0 și 60,3%, corespunzător. Mai puțin au fost infectate liniile MS-2091A și MS-2077A, gradul de atac fiind de 0,1 și 0,2% (Tabelul 4.7).

Analiza comparativă a datelor din câmp și a celor moleculare cu referire la formele paterne, a permis să constatăm, că liniile restauratoare de fertilitate MS-2540C, MS-2570C și MS-1942C care posedă gena de rezistență la rugina *RI* nu au fost infectate nici în câmp.

Tabelul 4.7. Nivelul de infectare cu rugină a liniilor materne de floarea-soarelui în condiții naturale

Linii materne, ASC	Originea genetică	Rezistența apreciată la nivel molecular	Rata de infectare cu rugină (%) în anii:		Rata medie de infectare cu rugină, %
			2013	2014	
MS-2091A	Hibrizi europeni	S	0,1	0,1	0,1
MS-2077A	Hibrizi europeni	S	0,1	0,3	0,2
MS-2161A	Resurse VIR	S	0,3	0,6	0,5
MS-2075A	Resurse VNIIMK	S	0,5	0,9	0,7
MS-2036A	Resurse VIR	S	0,7	1,2	1,0
MS-2067A	Hibrizi europeni	S	2,2	5,1	3,7
MS-2098A	Resurse locale	S	9,5	11,2	10,3
MS-2039A	Resurse locale	S	11,8	17,5	14,7
MS-1589A	Resurse VNIIMK	S	22,5	31,2	26,9
MS-2026A	Hibrizi europeni	S	44,7	75,9	60,3
MS-2073A	Resurse VNIIMK	S	59,1	62,9	61,0
MS-2185A	Resurse VNIIMK	S	87,0	100,0	93,5

Liniile MS-1944C, MS-2440C, MS-220C și MS-1920C, nu posedă această genă și sunt infectate în câmp, printr-un nivel maxim de infecție (16,3%) remarcându-se linia MS-1920C de origine rusească (Tabelul 4.8). Evaluarea datelor pe criteriul provenienței liniilor denotă că sunt surse autohtone și europene atât rezistente, cât și sensibile la rugină.

Tabelul 4.8. Nivelul de infectare cu rugină a liniilor paterne de floarea-soarelui în condiții naturale

Linii paterne restauratoare de fertilitate	Originea genetică	Rezistența apreciată la nivel molecular	Rata de infectare cu rugină (%) în anii:		Rata medie de infectare cu rugină, %
			2013	2014	
MS-2540C	Hibrizi europeni	R	0	0	0
MS-2570C	Resurse locale	R	0	0	0
MS-1942C	Hibrizi europeni	R	0	0	0
MS-1944C	Hibrizi europeni	S	1,1	2,3	1,7
MS-2440C	Resurse locale	S	1,7	3,3	2,5
MS-2203C	Resurse locale	S	7,4	15,2	11,3
MS-1920C	Resurse VNIIMK	S	20,0	12,6	16,3

Gradul de infectare, în cazul analizei hibrizilor (Tabelul 4.9), a demonstrat valori cuprinse între 0 și 19,2%. Analizând rezultatele obținute în câmp timp de doi ani și a studiilor moleculare constatăm, ca hibrizii de floarea-soarelui Doina, Oscar și Nistru prezintă un grad de atac de 0%, datorită prezenței în genom a genei de rezistență la rugină *RI*.

Cinci hibrizi din cei opt cercetați nu prezintă gena de rezistență la rugină. În condiții de câmp aceste linii au fost infectate, valoarea minimă a gradului de infectare fiind de 0,5%, valoarea maximă de 19,2%.

Tabelul 4.9. Nivelul de infectare cu rugină a hibrizilor de floarea-soarelui în condiții naturale

Denumirea hibrizului	Rezistența apreciată la nivel molecular	Rata de infectare cu rugină (%) în anii:		Rata medie de infectare cu rugină, %
		2013	2014	
<b>Doina</b>	R	0	0	0
<b>Oscar</b>	R	0	0	0
<b>Nistru</b>	R	0	0	0
<b>Zimbru</b>	S	0,1	0,9	0,5
<b>Cezar</b>	S	0,5	0,9	0,7
<b>Talmaz</b>	S	0,3	1,1	0,7
<b>Dacia</b>	S	7,5	10,7	12,9
<b>Codru</b>	S	9,0	20,6	19,2

Astfel, generalizând rezultatele analizei comparative a nivelului de infectare cu mană și rugină în condiții naturale din câmp și a celor obținute la analiza moleculară privind prezența genelor specifice de rezistență putem constata în mare parte o corespundere a acestora, ceea ce permite de a recomanda utilizarea acestora după necesitate în procesul de selectare a genotipurilor la rezistență [11].

#### 4.4. Concluzii la capitolul 4

Analiza polimorfismului genetic la 42 genotipuri de floarea-soarelui (linii maternel, paternel și combinații hibride) cu utilizarea a 10 perechi de primeri SSR a permis identificarea a 179 alele SSR, numărul de alele per locus variind între 4 (ORS240) și 27 (ORS328), cu o valoare medie de 18 alele per locus. S-a constatat eficiența utilizării markerilor microsatelici testați (ORS31, ORS203, ORS204 ș.a.) în scopul amprentării, evidențierii autenticității genotipurilor valoroase, determinării polimorfismului genetic intraspecific, stabilirii gradului de hibridare a semințelor și purității genetice a materialului semincer.

Evaluarea prezenței a două gene (*P11* și *Pl6*) asociate cu rezistența la diferite rase de mană cu implicarea markerilor moleculari specifici CAPS a pus în evidență fragmente asociate cu gena *P11* la toate cele 42 genotipuri incluse în studiu și a genei *Pl6* la 22 genotipuri (MS-2064C, MS-1944C, MS-1950C, MS-2080C, MS-1985C, MS-1995C, MS-2570C, MS-2275C, MS-1920C, MS-2540C, MS-2203C, MS-2583C, MS-2565C, MS-2005C, MS-2020C, MS-2077A, MS-2091A, Codru, Dacia, Talmaz).

*Screening*-ul molecular al liniilor de floarea-soarelui privind gena *RI* a demonstrat prezența markerului asociat cu rezistența la rugină la 13 genotipuri (MS-2064C, MS-1924C, MS-1985C, MS-2570C, MS-2555C, MS-2540C, MS-2583C, MS-2400C, MS-2565C, MS-2005C, Nistru, Doina, Oscar) din cele 42 analizate.

Nivelul de infecție constatat în experiențele din câmp corelează cu datele studiilor la nivel molecular privind prezența sau lipsa genelor rezistenței la mană (*P11* și *Pl6*) și rugină (*RI*), fapt ce denotă eficiența *screening*-ului molecular în aprecierea rapidă și corectă a materialului utilizat în ameliorare și a hibrizilor obținuți.



## CONCLUZII GENERALE ȘI RECOMANDĂRI

### Concluzii generale

1. Estimarea germoplasmei de floarea-soarelui privind precocitatea, prin evaluarea perioadei de creștere și dezvoltare de la răsărire la maturare, a permis să constatăm prezența unor genotipuri cu perioada de vegetație de la 95 până la 125 zile. Liniile și hibridii incluși în studiu au fost clasificați în 5 grupe distincte: timpurii (90 linii și 310 hibridi), semitimpurii (58 linii și 140 hibridi), medii (150 linii și 590 hibridi), semitardivi (32 linii și 110 hibridi) și tardivi (105 linii și 350 hibridi) [8, 92].
2. Analiza datelor fenologice a pus în evidență iregularitatea procesului de dezvoltare și o viteză diferită de creștere interfazică (creșterea vegetativă – de la răsărire la butonizare; creșterea reproductivă sau evocația florală – de la butonizare la înflorire; etapa de maturare – de la înflorire până la maturarea deplină) în dependență de genotip [8, 92].
3. S-a stabilit modul de moștenire a indicilor fenologici și s-a determinat ponderea factorilor matern, patern sau interacțiunea lor în crearea diferitor tipuri de hibridi, rezultatele obținute demonstrând posibilitatea creării dirijate a hibridilor cu perioada de vegetație solicitată [8, 92].
4. Prin evaluarea indicilor de productivitate (diametrul calatidiului, numărul de semințe pline per calatidiu și greutatea acestora, masa hectolitrică și masa a 1000 de semințe) la 19 linii maternel și paternale cu origine diferită și 32 combinații hibride, au fost relevate linii parentale valoroase atât provenite din germoplasma europeană, cât și cea autohtonă prin încrucișarea cărora obținem hibridi cu o bună capacitate de producție. Se remarcă în special linia paternă *Rf-5* creată din germoplasma hibridilor europeni caracterizată printr-o bună capacitate de combinare cu toate liniile maternel [10, 21].
5. Au fost creați și testați numeroși hibridi de floarea-soarelui și au fost puse în evidență 12 combinații hibride de perspectivă, majoritatea dintre care se caracterizează prin indicatori superiori de productivitate: MS-1 x *Rf-1*(VNIIMK x R.L.), MS-2 x *Rf-1*(R.L. x R.L.), MS-6 x *Rf-1*(R.E. x R.L.), MS-2 x *Rf-4*(R.L. x R.L.), MS-3 x *Rf-4*(R.L. x R.L.), MS-5 x *Rf-4*(R.E. x R.L.), MS-7 x *Rf-4* (VIR x R.L.), MS-1 x *Rf-5*(VNIIMK x R.E.), MS-2 x *Rf-5*(R.L. x R.E.), MS-3 x *Rf-5* (R.L. x R.E.), MS-4 x *Rf-5* (R.E. x R.E.), MS-5 x *Rf-5*(R.E. x R.E.). Combinațiile hibride obținute cu forma paternă *Rf-5* prezintă valori ale recoltei medii cuprinse între 3,13-3,23 t/ha, depășind ambele probe de referință cu cca 6-12,0% [180].
6. Analiza SSR cu 14 perechi de primeri a permis identificarea a 13 perechi care au manifestat un nivel înalt de polimorfism (valoarea indicelui PIC a variat de la 0,67 pentru ORS216

până la 0,92 pentru ORS495, în medie constituind 0,76) și un număr total de 120 alele. Au fost stabilite asocierile între banda de 118 pb, generată cu ajutorul markerului ORS70 și benzile 131 pb și 147 pb, generate de markerul ORS224 cu rezistența la mană. Marcherii cu moștenirea codominantă (ORS70, ORS495 și ORS610) pot fi incluși în cercetările axate pe stabilirea gradului de hibridare a semințelor și purității materialului semincer [94, 106].

7. Au fost identificate 22 de genotipuri, care posedă marcheri lincați cu ambele gene de rezistență la mană *P11* și *Pl6*, inclusiv 5 hibrizi (Nistru, Zimbru, Doina, Cezar, Oscar), două linii materne (MS-2077A, MS-2091A) și 15 linii paterne (MS-2064C, MS-1944C, MS-1950C, MS-2080C, MS-1985C, MS-1995C, MS-2570C, MS-2275C, MS-1920C, MS-2540C, MS-2203C, MS-2583C, MS-2565C, MS-2005C, MS-2020C) și 13 genotipuri ce posedă markerul asociat cu rezistența la rugină (MS-2064C, MS-1924C, MS-1985C, MS-2570C, MS-2555C, MS-2540C, MS-2583C, MS-2400C, MS-2565C, MS-2005C, Nistru, Doina, Oscar) [9, 11, 93, 107, 232].

### **Recomandări practice**

1. De utilizat linia *Rf-5* la crearea hibrizilor de floarea-soarelui, ce posedă capacitate bună de combinare cu toate liniile materne luate în studiu.
2. De înaintat combinațiile hibride MS-1 x *Rf-1*, MS-3 x *Rf-4*, MS-1 x *Rf-5*, MS-2 x *Rf-5*, MS-3 x *Rf-5*, MS-4 x *Rf-5*, MS-5 x *Rf-5* pentru testare la Comisia de Stat pentru Testarea Soiurilor de Plante.
3. Marcherii microsateliți testați în lucrare (ORS78, ORS261, ORS795 ș.a.) pot fi utilizați în scopul: amprentării, evidențierii autenticității genotipurilor valoroase, determinării polimorfismului genetic intraspecific, stabilirii gradului de hibridare a semințelor și purității genetice a materialului semincer.
4. Se recomandă includerea a 22 de genotipuri, care posedă marcheri lincați cu ambele gene de rezistență la mană, *P11* și *Pl6*, în programe de ameliorare a florii-soarelui pentru rezistență la mană.

## BIBLIOGRAFIE

1. Anuarul Statistic al Republicii Moldova, 2016, [http://www.statistica.md/public/files/publicatii\\_electronice/Anuar\\_Statistic/2016/16\\_Agricultura.pdf](http://www.statistica.md/public/files/publicatii_electronice/Anuar_Statistic/2016/16_Agricultura.pdf) (vizitat 10.05.2016)
2. Buciuceanu M., Leșanu E., Vatavu M., Postolachi N. Crearea hibrizilor de floarea-soarelui cu rezistență la cădere și frîngere a tulpinilor. In: Lucrările conferinței științifico-practice Cultura plantelor de câmp – rezultate și perspective. Bălți, 2004, p. 139-141.
3. Buciuceanu M., Petcovici I., Lungu E. Crearea materialului inițial și ameliorarea în baza lui a hibrizilor semitardivi de floarea-soarelui, toleranți la atacul patogenilor. In: Tezele conferinței internaționale Protecția integrată a culturilor de câmp, Bălți, 2009, p. 200-202.
4. Buciuceanu M., Petcovici I., Vatavu M., Erenciuc I. Crearea materialului inițial și sinteza în baza acesta a hibrizilor de floarea-soarelui. In: Tezele conferinței internaționale Culturile tehnice în agricultura modernă. Bălți: Tip.Univer.de Stat „Alec Russo”, 2008, p. 13-17.
5. Buciuceanu M., Rotaru T., Leșanu E. Unele rezultate în ameliorarea hibrizilor de floarea-soarelui. In: Tezele conferinței internaționale Cultura plantelor de câmp – rezultate și perspective, Bălți, 2004, p. 143-144.
6. Buciuceanu, M. Floarea-soarelui. In: Ameliorarea specială a plantelor agricole. 2004. p. 301-324.
7. Caracterizarea condițiilor meteorologice și agrometeorologice. <http://www.meteo.md> (vizitat 05.04.2016)
8. **Cucereavii A.** Caracteristica germoplasmei de floarea soarelui după indicii fenologici. In: Buletinul Academiei de Științe a Moldovei. Științele Vieții, 2017, nr 3 (333), p.115-121.
9. **Cucereavii A.** Evaluarea rezistenței unor genotipuri de floarea-soarelui la mană și rugină în condiții naturale de infectare. In: Revista Știința Agricolă, 2017, nr 2, p. 3-10.
10. **Cucereavii A.,** Gîscă I. Aspecte privind ameliorarea florii-soarelui la Centrul Științific „AMG – AGROSELECT COMERT” SRL. Conferința Științifică Internațională a doctoranzilor „Tendințe contemporane ale dezvoltării științei: viziuni ale tinerilor cercetători”, Chișinău, 2014, p. 58.
11. Duca M., Șestacova T., Port A., **Cucereavii A.,** Gîscă I., Tabără O. Screening-ul germoplasmei de floarea-soarelui la rugină. In: Revista Știința Agricolă, 2014, nr 2, p. 15-19. [http://www.uasm.md/images/stories/sa/2\\_2014.pdf](http://www.uasm.md/images/stories/sa/2_2014.pdf)
12. Ghid pentru determinarea rezistenței la boli și dăunători, coordonator lucrare: dr. ing. Antonia Ivașcu, Institutul de Stat pentru Testarea și Înregistrarea Soiurilor, 2009, p. 67-76, <http://istis.ro/image/data/download/publicatii/ghid.pdf>. (vizitat 20.02.2017)
13. Goncariuc M. Cercetări de genetică și ameliorare la *Salvia sclarea* L. In: Akademos, 2013, nr. 3 (30), p. 77-86.
14. Goncariuc M., Balmuș Z., Cotelea L. Ameliorarea calității la *Salvia sclarea* L. prin sporirea capacității de acumulare a uleiului esențial. In: Buletinul AȘM. Științele vieții, 2016, nr 2(329), p. 69-79.
15. Musteata, S., Rusu, Gh., Borozan, P., Bruma, S. Studiarea încrucișărilor înrudite ca forme maternelle ale hibrizilor de porumb timpuriu. In: Lucrări științifice a Universității Agrare de Stat din Moldova, 2013, vol. 39, p. 33-37.

16. Musteața S., Borozan P., Rusu Gh., Spînu V. Valoarea ameliorativă a liniilor consangvinizate de porumb timpuriu cu germoplasmă Reid Iodent. In: Știința agricolă, 2017, nr. 1, p. 17-22.
17. Palii A. Genetica. Chișinău, 1998, 352 p.
18. Păcureanu-Joița, M., Vrânceanu, A.V., Stanciu, D. Cincizeci de ani de activitate în ameliorarea floarii-soarelui la Fundulea. In: Analele I.N.C.D.A. Fundulea, 2007, volum jubiliar, p. 173-194.
19. Saucă F. Diversificarea bazei genetice a germoplasmei de floarea-soarelui pentru rezistență la secetă. In: Analele I.N.C.D.A. Fundulea, 2011, vol.79, nr 2, p. 327-334.
20. Siminel V. Ameliorarea generală a plantelor de câmp. Chișinău, 1998. 594 p.
21. Șestacova T., Gîscă I., Cucereavîi A., Tabără O. Evaluarea gradului de sterilitate la floarea-soarelui. In: Revista Știința Agricolă, 2015, nr.1, p. 10-14.
22. Șestacova, T. Utilizarea markerilor moleculari în evaluarea potențialului de rezistență a floarii-soarelui la mana. In: Buletinul Academiei de Științe a Moldovei. Științele Vieții, 2013, nr 1 (319), p. 96-101.
23. Vranceanu A.V. Floarea-soarelui hibridă. București: Editura Ceres, 2000. 1147 p.
24. Артамонов А.А. Устойчивость сортов рапса к болезням. В: АГРО, 2014, No 10-12, с. 5-6.
25. Бородин С.Г. Селекция сортов подсолнечника специального назначения. В: Сб. науч. Тр. Посвященный 90-летию ВНИИМК: материалы международной конференции. Краснодар: ВНИИМК, 2003, с. 15-25.
26. Волгин В.В., Обыдало А.Д. Гетерозис по комплексу хозяйственно-биологических признаков у гибридов подсолнечника. В: Науч.-тех. бюл. ВНИИМК. 2015, н. (164), с. 3-13.
27. Волгин В.В., Обыдало А.Д., Бочкарев Б.Н. Эффективность простого периодического отбора в селекции самоопыленных линий подсолнечника. В: Науч.-тех. бюл. ВНИИМК. 2015, н. (162), с. 19-26.
28. Вронских М. Д., Петкович И. Болезни подсолнечника и меры по борьбе с ними. Мин-во сел. хоз-ва и индустрии, НИИ полевых культур "Selectia". - Chisinau : IEFS, 2007, с. 68.
29. Вронских М. Д., Чеботарь О.Д. Мировой рынок подсолнечника и продуктов его переработки. Современные проблемы научного обеспечения производства подсолнечника. В: Сб. докл. междунар. науч-практ. конф. посвящ. 120-летию В.С.Пустовойта, Краснодар, 2006, с. 50-68.
30. Гаврилова В. А. Генетическая изменчивость видов рода *Helianthus* L. и возможности ее использования в селекции. В: Автореф. докт. дис., 2003. 29 с.
31. Гостимский С.А., Кокаева З.Г., Коновалов Ф.А. Изучение организации и изменчивости генома растений с помощью молекулярных маркеров. В: Генетика, 2005, т. 41, № 4, с. 480–492.
32. Доспехов Б.А. Методика полевого опыта. Москва: Колос, 1985. 414 с.
33. Житник Н.А., Горбаченко О.Ф. Создание исходного материала для селекции материнских линий подсолнечника. В: V Международная конференция молодых ученых и специалистов, ВНИИМК, 2009, с. 91-94.

34. Жученко А.А. Адаптивная система селекции растений (эколого-генетические основы). Москва: Изд-во Рос. ун-та дружбы народов, 2001. Т. 1. 780 с.
35. Загорулько А. В., Квашин А.А., Н.Г. Малюга Подсолнечник. Биология и агротехника выращивания на юге России, Краснодар, 2011, 291 с.
36. Колесник Ф.П., Павличенко В.А. Изучение влияния климатических условий на образование ооспор возбудителя ложной мучнистой росы подсолнечника. В: «Достижение науки - производству», Кишинев: Картя Молдовеняскэ, 1973, с. 135-139.
37. Кудряшов С. П. Исходный материал для селекции подсолнечника на скороспелость и эректоидный морфотип растений. Автореф. диссертации на соискание ученой степени кандидата сельскохозяйств. наук. Саратов, 2009. 25 с.
38. Кумаков В.А. Физиологическое обоснование моделей сортов пшеницы. М: 1985, 270 с.
39. Леонова Н.Н., Кириченко В.В., Сивенко А.А. Проявление эффекта гетерозиса и комбинационная способность линий подсолнечника кондитерского типа. В: Масличные культуры. Науч.-тех. бюл. ВНИИМК, 2015, Вып. 1 (161), с. 16–21.
40. Лобачёв Ю.В., Кудряшов С.П., Лекарев В.М. Селекционная оценка почти изогенных линий подсолнечника с эректоидным типом листьев. Масличные культуры. В: Науч.-тех. бюл. ВНИИМК, 2010, т. 1 (142-143), с. 16-18.
41. Лях В.А., Полякова И.А., Сорока А.И. Индуцированный мутагенез масличных культур. Запорожье: ЗНУ, 2009. 266 с.
42. Мамонов А.И. Создание крупноплодного селекционного материала подсолнечника кондитерского, грызунного и масличного направления. В: НТВ ВНИИМК, 2004, № 2(131), с. 39-41.
43. Матвеева Т.В., Павлова О.А., Богомаз Д.И. и др. Молекулярные маркеры для видоидентификации и филогенетики растений. В: Экол. Генетика, 2011, т. 9, с. 32-43.
44. Морозов В.К. Оценка инцухт-семей подсолнечника при помощи диаллельных скрещиваний. В: Селекция и семеноводство, 1936, № 2, с. 55-59.
45. Муратов И.А. Параметры гибридов подсолнечника для возделывания в основных регионах Казахстана. В: Вестник с.-х. науки Казахстана, 2005, № 8, с.10-11.
46. Обыдало А.Д. Повышение урожая семян синтетических популяций подсолнечника в результате первого цикла простого рекуррентного отбора. В: Материалы VII международной конференции молодых ученых и специалистов, ВНИИМК, 2013, с. 175-178.
47. Обыдало Н.Д. Селекция гибридов подсолнечника кондитерского назначения. В: Материалы VIII международной конференция молодых ученых и специалистов. ВНИИМК, 2015, с. 119-123.
48. Околелова Т.М., Криворучко Л, Молоскин С.А. Подсолнечный жмых и «Ровабио» в комбикормах для птицы. В: Птицеводство Беларуси, 2004, № 4, с. 24-25.
49. Петкович И. Создание исходного материала подсолнечника, иммунного к болезням. В: Tezele conferinței internaționale „Culturile tehnice în agricultura modernă”, Bălți: edit.Tip.Univer.de Stat „Alecu Russo”, 2008, p. 94-103.
50. Плачек Е.М. Селекция подсолнечника. В: Селекция и семеноводство, 1936, т. 7. № 8, с. 12–22.

51. Пустовойт Г.В., Хатнянский В.И. Метод рекуррентной селекции в создании устойчивого к заражению селекционного материала подсолнечника. В: Селекция и семеноводство, 1985. № 5, с. 34-36.
52. Пустовойт Г.В. Селекция подсолнечника на групповой иммунитет методом межвидовой гибридизации. Подсолнечник. М., 1975, с. 164-209.
53. Рябчун В.К. Формирование и ведение национальной коллекции подсолнечника на Украине. В: Сборник докладов международной научно-практической конференции. Краснодар, 2006, с. 154-159.
54. Смарагдов М.Г. Тотальная геномная селекция с помощью SNP как возможный ускоритель традиционной селекции. В: Генетика, 2009, т. 45, с. 725-728.
55. Солдатов К.И., Калайджян А.А. Создание карликовых и полукарликовых мутантных форм подсолнечника. В: Химический мутагенез и проблемы селекции, 1991, с. 208-212.
56. Сулимова Г.Е. ДНК – маркеры в генетических исследованиях: типы маркеров, их свойства и области применения. В: Усп. соврем. Биологии, 2004, т. 124, с. 260-271.
57. Товолжанский Н.П. Теория и практика создания гибридов подсолнечника в современных условиях. Авт. диссертации на соискание ученой степени доктора с/х наук. Воронеж. 1998, 50 с.
58. Толмачёва Н.Н., Демури Я.Н. Генетический контроль эректоидности листа у линии подсолнечника Л 1389. Масличные культуры. В: Науч-тех. бюл. VNIIMK. Краснодар, 2008, № 2(139), с. 12-15.
59. Хлесткина Е.К. Молекулярные методы анализа структурно-функциональной организации генов и геномов высших растений. В: Вавилов. журн. генет. и селекции, 2011, т.15, №4, с.757-768
60. Шаманин В.П., Трущенко А.Ю. Общая селекция и сортоведение полевых культур, Омск : Изд-во ФГОУ ВПО ОмГАУ, 2006, 400 с.
61. Ягодкин И.Г. Применение метода инцукта и диаллельных скрещиваний в культуре подсолнечника. В: Селекция и семеноводство, 1937, № 1, с. 21–27.
62. Ablett G., Hill N., Henry R. J. Sequence polymorphism discovery in wheat microsatellite flanking regions using pyrophosphate sequencing. In: Molecular Breeding, 2006, nr 17, p. 281–289.
63. Akagi H, Yokozeki Y, Inagaki A, Mori K, Fujimura T. Micron, a microsatellite-targeting transposable element in the rice genome. In: Mol Genet Genomics, 2001, nr 266(3), p. 471-480.
64. Alvarez P.M., Mancuso N., Frutos E. Genetic divergence among open pollinated populations of sunflower (*Helianthus annuus* L.). In: Proc. 14<sup>th</sup>. Intern. Sunflower Conf., Beijing/Shenyang, China, 1996. vol. I, p. 230-236.
65. Anderson J.A. et al. Optimizing parental selection for genetic linkage maps. In: Genome, 1993, vol. 36(1), p.181-186.
66. Anton F.G., Pacureanu Joita M., Sauca F., Risnoveanu L., Evaluating of wild *Helianthus* species of sunflower and interspecific hybridization for resistance to broomrape (*Orobanche cumana* Wallr.), In: Annals of the University of Craiova - Agriculture, Montanology, Cadastre Series, vol 47, no 1, 2017, p. 7-11.

67. Anton G.F., Joița-Păcureanu M., Rîșnoveanu L., Cornea C.P., Popa M. Downy mildew in sunflower-the management of *Plasmopara halstedii* pathogen. In: Scientific Bulletin. Series F. Biotechnologies vol. 21, 2017, p. 29-32.
68. Arango M., Gonzales J., Oliva C., Mancuso N., Re S. Caracteres de semilla de girasol (*Helianthus annuus* L.) del Banco de germoplasma de Pergamino. In: Congreso Nacional de Soja y II. Reunion Nacional de Oleaginosos, 1995, p. 1-7.
69. Areshchenkova T, Ganal MW. Comparative analysis of polymorphism and chromosomal location of tomato microsatellite markers isolated from different sources. In: Theor Appl Genet., 2002, nr 104(2-3), p. 229-235.
70. Arnoux M. Morphological and physiological bases for the breeding of sunflower ideotypes. In: Helia, 1978, nr 1, p. 51-53.
71. Arya A., Perelló A.E. Management of Fungal Plant Pathogens. Argentina: CAB International, 2010. 388 p.
72. Atlagic, J., Terzic, S. Sunflower genetic resources – interspecific hybridization and cytogenetics in prebreeding, In Sunflowers: Growth and Development, Environmental Influences and Pests/Diseases, ed. J.I. Arribas (New York, Nova Science), 2014, p. 95–130.
73. Baldini M., Vannozzi G.P., Cecconi F., Turi M. Prospects for the use of physiological traits during the selection for drought resistance in a sunflower population. In: Proc. of 14<sup>th</sup> Int. Sunf. Conf., Beijing – Shenyang, P.R. China, 1992, vol.I, p. 26-35.
74. Barlow R. E. L, Gascoyne-Binzi D. M., Gillespie S. H., et al. Comparison of Variable Number Tandem Repeat and IS6110-Restriction Fragment Length Polymorphism Analyses for Discrimination of High- and Low-Copy-Number IS6110 *Mycobacterium tuberculosis* Isolates. In: J. Clin Microbiol, 2001, nr 39(7), p. 2453–2457.
75. Bassam BJ, Bentley S. Electrophoresis of polyester-backed polyacrylamide gels. In: Biotechniques, 1995, nr 19(4), p. 568-572.
76. Bisen A., Khare D., Nair P., Tripathi N. SSR analysis of 38 genotypes of soybean (*Glycine Max* (L.) Merr.) genetic diversity in India. In: Physiol Mol Biol Plants, 2015, nr 21(1), p. 109–115.
77. Bouzidi M.F, Badaoui S., Cambon F., Vear F., Tourvieille De Labrouhe D., Nicolas Mouzeyar S. Molecular analysis of a major locus for resistance to downy mildew in sunflower with specific PCR-based markers. In: Theor. Appl. Genet., 2002, n. 104, p. 592–600.
78. Brinkmann B., Klintschar M., Neuhuber F., Hühne J., Rolf B. Mutation Rate in Human Microsatellites: Influence of the Structure and Length of the Tandem Repeat. In: The American Journal of Human Genetics, 1998, vol 62(6), p. 1408-1415.
79. Brownstein M. J, Carpten J. D, Smith J.R. Modulation of non-templated nucleotide addition by Taq DNA polymerase: primer modifications that facilitate genotyping. In: Biotechniques, 1996, nr 20(6):1004-6, p. 1008-1018.
80. Caetano-Anollés G., Bassam B J., Gresshoff P.M. DNA amplification fingerprinting using very short arbitrary oligonucleotide primers. In: Biotechnology, 1991, nr. 9(6):553-7.
81. Cerboncini C., Beine G., Binsfeld P.C., Dresen B., Peisker H., Zerwas A., Schnabl H. Sources of resistance to *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib) de Bary in a natural *Helianthus* gene pool. In : Helia, 2002, nr 25(36), p. 167-176.

82. Chandler J.M., Jan C.C. Identification of salt-tolerant germplasm sources in the *Helianthus* species. In: Am. Soc. Agron., Madison WI, 1984, p. 61-68.
83. Chen X., Shang J., Chen D., Lei C., Zou Y., Zhai W., Liu G., Xu J., Ling Z., Cao G., Ma B., Wang Y., Zhao X., Li S., Zhu L. A B-lectin receptor kinase gene conferring rice blast resistance. In: Plant J., 2006, nr 46(5), p. 794-804.
84. Chepurayana A.L., Sherstyuk S.V., Tikhomirov V.T. CMS-*Rf* system for sunflower breeding. In: Helia, 2003, nr 26(38), p. 59-66.
85. Christov M. A new source of cytoplasmic male sterility in sunflower originated from *H. argophyllus*. In: Helia, 1990, nr 13, p. 55-61.
86. Christov M. Contribution of interspecific hybridization to sunflower breeding. Helia. 2013, nr. 36, p. 1-18. 10.2298/HEL1358001A.
87. Christov M. New sources of male sterility and opportunities for their utilization in sunflower hybrid breeding. In: Helia, 1992, nr 15(16), p. 41-48.
88. Christov M. Production of new CMS sources in sunflower. In: Helia, 1999, nr 22(31), p. 1-12.
89. Cipta M., Vear F., Tourvieille de Labrouhe D. Relation between date of infection of sunflower downey mildew (*Plasmopara halstedii*) and symptoms development. In: Helia, 2000, nr. 32, p. 35-44.
90. Ćirić M., Jocić S., Cvejić S., Jocković M., Čanak P., Marinković R. and Ivanović M. Combining abilities of new inbred lines of sunflower (*Helianthus annuus* L.). In: Genetika. 2013, nr 45(2), p. 289-296.
91. Ciucă M., Păcureanu M., Iouraş M. RAPD – markers of polymorphism identification in parasitic weed *Orobanche cumana* Wallr. In: Romanian Agricultural Research, 2004, nr 21, p. 29-32
92. **Cucereavii A.**, Gisca I., Duca M. Ontogenesis and phenology of some sunflower genotypes from AMG-Agroselect collection. International Plant Breeding Conference, Kyrenia, Turcia, October 15-20, 2017, p. 88.
93. **Cucereavii A.**, Kaya Y., Tabără O. Molecular screening of local sunflower germplasm for downy mildew and rust resistance. The X<sup>th</sup> International Congress of Geneticists and Breeders, 28 June-1 July 2015, Chisinau, p. 91.
94. **Cucereavii A.**, Tabără O., Şestacova T. Estimation of genetic purity of material lines used in production of local sunflower hybrids. The International Conference "Life Science in the Dialogue of Generations: Connections between Universities, Academia and Business Community" Chişinău, 25 martie 2016, p. 32.
95. Cvejić S., Jocić S., Prodanović S., Terzić S., Miladinović D., Balalić I. Creating new genetic variability in sunflower using induced mutations. In: Helia, 2011, nr 34(55), p. 47-54.
96. Darvishzadeh R. Population structure, linkage disequilibrium and association mapping for morphological traits in sunflower (*Helianthus annuus* L.), Biotechnology & Biotechnological Equipment, 2016, vol. 30(2), p. 236-246.
97. Davey M.R., J a n M. Sunflower (*Helianthus annuus* L.): genetic improvement using conventional and *in vitro* technologies. In: J. Crop Improv., 2010, nr 24(4), p. 349-391.
98. del Moral L., Fernández-Martínez J., Pérez-Vich B., Velasco L. Accumulation dynamics of seed tocopherols in sunflower lines with modified tocopherol levels. Acta Physiologiae Plantarum. 2013, vol. 35(11). 10.1007/s11738-013-1349-z.



99. Dieringer D., Schlötterer C. Microsatellite analyser (MSA): a platform independent analysis tool for large microsatellite data sets. In: *Molecular Ecology Notes*, 2003, nr 3 (1), p. 167-169.
100. Dimitrijević A., Imerovski I., Miladinović D., Cvejić S., Jocić S., Zeremski T., Sakač Z. Oleic acid variation and marker-assisted detection of Pervenets mutation in high- and low-oleic sunflower cross. *Crop Breeding and Applied Biotechn.*, 2017, vol. 17, p. 235-241.
101. Diwan N., Cregan P.B. Automated sizing of fluorescent labeled simple sequence repeat (SSR) markers to assay genetic variation in soybean. In: *Theoretical and Applied Genetics*, 1997, v. 95, p.723-733.
102. Donald C.M. The breeding of crop ideotypes. In: *Euphytica*, 1968, vol. 17, p. 385 - 403.
103. Dong G.J., Liu G.S. Li K.F. Studying genetic diversity in the core germplasm of confectionary sunflower (*Helianthus annuus* L.) in China based on AFLP and morphological analysis. In: *Genetica*, 2007, vol. 43, nr 6, p. 627–635.
104. Doyle J., Doyle J. Isolation of plant DNA from fresh tissue. In: *Focus*, 1990, v. 12, p.13–15.
105. Dozet B.M. Resistance to *Diaporthe/Phomopsis helianthi* in wild sunflower species. In: *Proc. Sunfl. Res. Workshop*, ND, USA, 1990, p. 86-88.
106. Duca M., Port A., Cucereavii A., Şestacova T. SSR markers assessment in estimation of genetic polymorphism in sunflower. In: *International Journal of Advanced Research in Biological Sciences*, 2015, nr 2(1), p. 70-77.
107. Duca M., Şestacova T., Port A., Cucereavii A., Gîscă I., Tabără O. Assessment of sunflower resistance potential to downy mildew. In: *Journal of Botany*, 2014, vol. VI, nr 2(9), p. 10-16.
108. Encheva J., Valkova D., Shindrova P. Sunflower mutations, produced by ultrasonic treatment of immature embryos of cultivated genotype 147 R. 2013,. *Bulgarian J. Agr. Sci.* vol. 19, p. 578-583.
109. Encheva, J., Creating sunflower (*H. annuus* L.) mutant lines using induced mutagenesis. In: *B.J.A.S.* 2009, nr 15(2), p. 109-118.
110. Fetch Jr.T.G., McCallum B.D., Menzies J.G., Rashid K.Y., Tenuta A.U. Rust diseases in Canada. *Prairie Soils and Crops*, 2011, vol.,4, p. 87-96.
111. Fick G.N. Genetics breeding of sunflower. In: *Journal of Oil and Fat Industries*, vol. 60 (7), 1983. p. 1252-1253.
112. Fick G.N., Miller J.F. Sunflower breeding. In: *Sunflower Tehnology and Production*, 1997, p. 395-411.
113. Filippi C.V., Aguirre N., Rivas J.G., Zubrzycki J., Puebla A., Cordes D., et al. Population structure and genetic diversity characterization of a sunflower association mapping population using SSR and SNP markers. *BMC Plant Biol.* 2015, vol. 15, p. 52. doi: 10.1186/s12870-014-0360-x
114. Francki M. G., Walker E., Crawford A.C., Broughton S., Ohm H.W., Barclay I., Wilson RE, Comparison of genetic and cytogenetic maps of hexaploid wheat (*Triticum aestivum* L.) using SSR and DArT markers. In: *Mol Genet Genomics*, 2009, nr 281, p. 181-191.
115. Gascuel Q., Martinez Y., Boniface M.C., Vear F., Pichon M., Godiard L. The sunflower downy mildew pathogen *Plasmopara halstedii*. *Mol. Plant Pathol.* 2015, vol. 16, p. 109–122. doi:10.1111/mpp.12164
116. Gavrilova V.A., Rozhkova V.T., Anisimova I.N. Sunflower genetic collection at the Vavilov institute of plant industry. *Helia*, 2014, vol. 37, p. 1–16.

117. Gedil M.A., Slabaugh M.B., Berry S. Johnson R., Michelmore R., Miller J., Gulya T., Knapp, S.J. Candidate disease resistance genes in sunflower cloned using conserved nucleotide binding site motifs: genetic mapping and linkage to downy mildew resistance gene *Pl1*. In: Genome, 2001, nr 44, p. 205–212.
118. Gilley M.A., Misar C.G., Gulya T.J., Markell S.G. Prevalence and virulence of *Plasmopara halstedii* (downy mildew) in sunflowers, in Proceedings of the 38th Sunflower Research Forum, Fargo, ND, 2016, p.1-4.
119. Gong, L., Hulke, B.S., Gulya, T.J., Markell, S.G., Qi, L.L., Molecular tagging of a novel rust resistance gene R12 in sunflower (*Helianthus annuus* L.). In: Theoretical and Applied Genetics, 2013, vol. 126, p. 93–99.
120. Gotar A.A et. al. Estimation of breeding potential for tocopherols and phytosterols in sunflower. In: Proc. 17-th International Sunflower Cordoba, Spain, 2008, p. 555-559.
121. Goulding S.E., Olmstead R.G., Morden C.W., Wolfe KH Ebb and flow of the chloroplast inverted repeat. In: Mol Gen Genet, 1996, nr 252(1-2), p.195-206.
122. Graur D, Li WH. Sunderland (Massachusetts): Sinauer Associates. In: Fundamentals of molecular evolution, 2000, nr 2, p. 481
123. Hale M.L., Borland A.M., Gustafsson M.H., Wolff K. Causes of size homoplasy among chloroplast microsatellites in closely related *Clusia* species. In: Journal of Molecular Evolution, 2004, nr 58, p. 182-190.
124. Hanfel J.J., Gulya T.J. Registration ot two bird-resistant oil-seed sunflower germplasm lines. In: Crop. Science, 1993, nr 33(6), p. 1419-1420.
125. Hayden M. J., G. Good, Sharp P. J. Sequence tagged microsatellite profiling (STMP): improved isolation of DNA sequence flanking target SSRs. In: Nucleic Acids Res., 2002, nr 30(23), p. 1-5.
126. Hladni N, Miklič V, Jocić S, Kraljević-Balalić M, Škorić D. Mode of inheritance and combining ability for plant height and head diameter in sunflower (*Helianthus annuus* L.). Genetika, 2014, nr 46(1), p. 159-168.
127. Hladni N., Jocić S., Miklic V., Saftić-Panković D., Kraljević-Balalić M. Interdependence of yield and yield components of confectionary sunflower hybrids. In: Genetika, 2011, nr 43(3), p. 583-594.
128. Hladni N., Jocić S., Miklic V., Saftić-Panković D., Škorić D. Using new Rf inbred lines originating from an interspecific population with *H. deserticola* for development of sunflower hybrids resistant to broomrape. In: Helia, 2009, nr 32(51), p.81-89.
129. Hladni N., Jocić S., Miklic V., Dušanić N., Saftić-Panković D., Radeka I, Lečić N. Test results for new experimental hybrids of confectionary type during 2007 and 2008. In: A Periodical of Scientific Res. Field and Vegetable Crops., 2009, nr. 46(I), p. 385-392.
130. Hladni N., Škorić D., Kraljević-Balalić M., Jocić S., Miklič V., Dušanić N. Line x tester analysis for yield components in sunflower and their correlations with seed yield (*Helianthus annuus* L.). In: Genetika. 2011, nr 43(2), p. 297 – 306.
131. Hladni N., Škorić D., Kraljević-Balalić M., Sakač Z., Miklič V. Heterosis for agronomically important traits in sunflower (*Helianthus annuus* L.). In: Helia, 2007, nr 30(47), p. 191-198.
132. Hoes J.A., Haung H.C. Control of Sclerotinia basal stem rot of sunflower. In: A progress report Proc. Sunflower Forum Fargo ND., 1976, p.18-20.

133. Hongtrakul V, Slabaugh MB, Knapp SJ. RFLP, SSCP, and SSR markers for delta 9-stearoyl-acyl carrier protein desaturases strongly expressed in developing seeds of sunflower: intron lengths are polymorphic among elite inbred lines. In: *Molecular Breeding*, 1998, nr 4, p. 195–203.
134. Hosseinzadeh-Colagar A., Haghghatnia M. J., Amiri Z., Mohadjerani M., Tafrihi M. Microsatellite (SSR) amplification by PCR usually led to polymorphic bands: Evidence which shows replication slippage occurs in extend or nascent DNA strands. In: *Mol Biol Res Commun.*, 2016, nr 5(3), p. 167–174.
135. Hristova-Cherbadzhi M. Study of new forms of sunflower received by distant hybridization. Breeding and genetics of cultivated sunflower - methods, new lines, new crosses, new cms source. In: Lambert Academic Publishing, 2012. 332 p.
136. Hristova-Cherbadzhi M. Study of new sunflower forms by remote hybridization. Ph.D. Dissertation, 2007.
137. IBPGR, 1985. Descriptors for cultivated and wild sunflower. In: *AGRG: IBPGR/85/54*, Roma
138. Iouraş M, Vrânceanu V.A., Răducanu F. Immature embryo culture for acceleration breeding proces. In: *Sunflower Biotechnology in Europe*, 1993, p. 80.
139. Iouraş M., Stanciu D., Ciucă M., Năstase D., Geronzi FR. Preliminary studies related to the use of marker assisted selection for resistance to *Orobanche cumana* Wallr. in sunflower. In: *Romanian Agricultural Research*, 2004, nr 21, p. 33-38.
140. Jambhulkar S.J., Joshua D.C. Induction of plant injury, chimera, chlorophyll and morphological mutations in sunflower using gamma rays. In: *Helia*. 1999. vol. 22, p. 63-74.
141. Jan C.C. Registration of four nuclear male-sterile sunflower genetic stock lines. In: *Crop Science*, 1992, nr 32(6), p. 1519.
142. Jocić S., Miladinović D., Kaya Y. Breeding and genetics of sunflower, in *Sunflower: Chemistry, Production, Processing, and Utilization*, eds E. Martinez-Force, N. T. Dunford, and J. J. Salas (Urbana, IL: AOCS), 2015, p. 1–26.
143. Jocković M., Prodanović S., Jocić S., Marinković R., Marjanović Jeromela A., Jocković B., Čanak P. Gene Effects and Combining Abilities for Oil Content in Sunflower. In: *Ratar. Povrt*. 2014, v. 51, nr 2, p. 106-109.
144. Johnson J., Lay C.L. Evaluation of mass selection for percent oil in a sunflower (*Helianthus annuus*L.) restorer population and its effect on other traits. In: *Proc. Sunflower Res. Workshop, NSA, USA*, 1988. p. 6.
145. Joita-Pacureanu M., Rîşnoveanu L., Anton G.F., Popa M., Bran A., Sava E., Marin V. The improvement of oil quality and resistance to broomrape in sunflower genotypes resistant to herbicides, *Lucrări Ştiinţifice –vol. 60(2)*, 2017, seria Agronomie, p. 263-268.
146. Joksimović J. ş.a. Path coefficient analysis of some head and seed characteristics in sunflower. In: *Proc.16th Int. Sunf. Conf., Fargo, North Dakota. USA*, 2004, nr 2, p. 525-530.
147. Joksimović J., Atlagić J., Škorić D. Gene effect and combining for head diameter in sunflower inbred lines. In: *Plant Breeding and Seed Production. Novi Sad*. 2000, nr 7 (1-2), p. 45-49.
148. Kalaydzhyan A.A., Khlevnoy L.V., Neshchadim N.N., Golovin V.P., Vartanyan V.V., Burdun A.M. Rossiyskiy solnechnyy tsvetok. Krasnodar: Sovet. Kubani, 2007, 352 p.

149. Kalle E., Kubista M., Rensingd C. Multi-template polymerase chain reaction, *Biomolecular Detection and Quantification*, 2014, vol. 2, p. 11-29.
150. Kaya Y., Goksel E., Veli P., Tahir G., Yilmaz I. Yield Relationships in Confectionery Sunflower (*Helianthus annuus* L.). In: Научни Трудовена Русенские Университет, 2008, nr 47(1.1), p. 7-11.
151. Kinman M. L. New developments in the USDA and state experiment station sunflower breeding programs. Proc. In: 4<sup>th</sup> Intern. Sunflower Conf., Memphis, Tenn., 1970, p. 181-183.
152. Konieczny A., Ausubel F.M. A procedure for mapping *Arabidopsis* mutations using co-dominant ecotype-specific PCR-based markers. In: *Plant J.*, 1993, nr 4(2), :403-10.
153. Korell M., Brahm L., Friedt W., Horn R. Interspecific and intergeneric hybridization in sunflower breeding. II. Specific uses of wild germplasm. In: *Pl. Breed. Abst.*, 1996, nr 66, p. 1081- 1091.
154. Kumar L.S. DNA markers in plant improvement: An overview. In: *Biotechnology Advances*, 1999, nr 17, p. 143–182.
155. Lawson W.R., Goulter K.C., Henr, R.J., Kong G.A., Kochman J.K. Marker assisted selection for two rust resistance genes in sunflower. In: *Molecular Breeding*, 1998, nr 4. p. 227–234.
156. Lawson W.R., Henry R.J., Kochman J.K., Kong G.A. Genetic diversity on sunflower (*Helianthus annuus* L.) as revealed by random amplified polymorphic DNA analysis. *Aust. J. Agric. Res.*, 1994, nr 45, p. 1319-1327.
157. Leclerq P. Sunflower hybrids using male sterility. In: Proc. of the 4 Intern. Sunfl. Conf., Memphis, Tennessee, 1970, p. 123–126.
158. Lerman L.S. ş.a. Searching for gene defects by denaturing gradient gel electrophoresis. In: *Cold Spring Harb Symp Quant Biol.*, 1986, nr 51(1), p. 285-297.
159. Liu G., Leffak M. Instability of (CTG)<sub>n</sub>•(CAG)<sub>n</sub> trinucleotide repeats and DNA synthesis. In: *Cell Biosci.*, 2012, nr 2, p. 7.
160. Madakbaş S.Y., Sarıkamış G., Başak H., Karadavut U., Özmen CY, Daşç MG., Çayan S. Genetic Characterization of Green Bean (*Phaseolus vulgaris* L.) Accessions from Turkey with SCAR and SSR Markers. In: *Biochem Genet.*, 2016, nr 54(4), p. 495-505.
161. Marinkovic R. ş.a. Genetic diversity of sunflower (*Helianthus annuus* L.) varietal populations assessed by cluster analysis. In: Proc. 13<sup>th</sup> Intern. Sunflower Conf.. Pisa, 1992, vol. II, p. 1135-1140.
162. Marinković R., Dozet B., Vasić D. Oplemenjivaje suncokreta. Novi Sad: Scolska knjiga. 2003, 368 p.
163. Marinković R., Marjanović-Jeromela A. Assessment of components of genetic variance of mass 1000 seeds in sunflower (*Helianthus annuus* L.). In: *Genetika*, 2005, nr 37(2), p. 145-153.
164. Marwal A., Anurag Kumar Sahu, R.K. Gaur. *Molecular Markers: Tool for Genetic Analysis, Animal Biotechnology, Models in Discovery and Translation*, 2014, p. 289–305.
165. Medina N.N.R., Lorenzo J.L.F., Arbelo O.C. et. al. Agro-morphologic traits, isoenzyme and DNA markers for estimating the polymorphism levels, discriminating capacity and informativeness in avocad. In: *Revista CENIC Ciencias Biológicas*, 2009, vol. 40, nr 1, p. 63-74.
166. Methodology for determining the varietal purity of seed and propagating material, <http://istis.ro/image/data/download/publicatii/Postcontrol.pdf> (vizitat 16.03.2016)

167. Mihaljcevic M. Results of the international trial with sunflower hybrids. I. Morpho-physiological characteristics. In: *Helia*, 1991, nr 14(14), p. 85-92.
168. Miller J.F. Principles of cultivar development. II. Crop Species. In: W.R. Fehr (Ed.). *Sunflower*. Macmillan. New York, 1987. p. 626-669.
169. Miller J.F., Fick G.N. Adaptation of reciprocal full-sib selection in sunflower breeding using gibberellic acid induced male sterility. In: *Crop Science*, 1978, nr 18, p. 161-162.
170. Miller J.F., Gulya T.J. Inheritance of resistance to race 4 of downy mildew derived from interspecific crosses in sunflower. In: *Crop Sci.*, 1999, nr 1 31(1), p. 40-43.
171. Miller J.F., Gulya T.J. Registration of six downy mildew resistant sunflower germplasm lines. In: *Crop Science*, 1988, nr. 28(6), p. 1040-1041.
172. Miller J.F., Roath G. Development and improvement of breeding populations in sunflower. In: Proc. 8<sup>th</sup> Intern. Sunflower Conf., Minneapolis, MN, USA, 1978, p. 479-483.
173. Morris J.B., Yang S.M., Wilson L. Reaction of *Helianthus* species to *Alternaria helianthi*. In: *Plant dis.*, 1983, p. 539-540.
174. Nachimuthu V., Muthurajan R., Duraijalaguraja S. et al. Analysis of Population Structure and Genetic Diversity in Rice Germplasm Using SSR Markers: An Initiative Towards Association Mapping of Agronomic Traits in *Oryza Sativa*. In: *Rice*, 2015, nr 8, p. 2-25
175. Nehnevajova E., Herzig R., Federer G., Erismann K.H., Schwitzguebel J.P. Chemical mutagenesis – a promising technique to increase metal concentration and extraction in sunflowers. In: *J Phytoremediation*, 2007, vol.9, nr 2, p. 149-165.
176. Niki E. and Noguchi N. Dynamics of antioxidant action of vitamin E. In: *Accounts Chem. Res.*, 2004, nr 37, p. 45-51.
177. Oliveira de M.F., Neto.T., Leite R.M.V.B.C., Castiglioni V.B.R., Arias C.A.A. Mutation breeding in sunflower for resistance to *Alternaria* leaf spot. In: *Helia*, 2004, nr 27, № 41, p. 41-50.
178. Olson B.L.S., K. Al-Khatib, R.M. Aiken. Distribution of resistance to imazamox and tribenuron-methyl in native sunflower. 2004. [www.sunflowerusa.com/research/research-workshop/documents/158.pdf](http://www.sunflowerusa.com/research/research-workshop/documents/158.pdf) (vizitat 02.03.2016).
179. Onemli F., Gucer T. The characterization of some wild species of *helianthus* for some morphological traits. In: *Helia*, 2010, nr 33(53), p. 17-23
180. Pacureanu Joita M., Anton G. F., Rasnoveanu L., **Cucereavii A.**, Gasca I. The behavior of a sunflower hybrids set in different soil and climatic conditions, in Romania. The X<sup>th</sup> International Congress of Geneticists and Breeders, 28 June-1 July 2015, Chisinau, p. 130.
181. Pacureanu-Joita M. Sunflower breeding. new approach related to the seed market request, International congress on oil and protein crops, Chisinau, Republic of Moldova, May 20-24, 2018, Abstract Book, p. 84.
182. Pacureanu-Joita M., Stanciu D., Petcu E., Raranciuc S., Sorega I. Sunflower genotypes with high oleic acid content. *Romanian agricultural research*, 2013, nr. 22(2005), p. 23-26.
183. Panković D., Sakač Z., Plesničar M., Cupina T., Škorić D. Leaf expansion and photosynthesis during growth and development of NS sunflower hybrids and inbred lines. In: *Helia*, 1991, nr 14, p. 55-62.
184. Pankovic, D., Radovanovic, N., Jovic, S., Satovic, Z., Skoric, D. Development of co-dominant amplified polymorphic sequence markers for resistance of sunflower to downy mildew race 730. In: *Plant. Breed.*, 2007, 126, p. 440-444

185. Patel M.D. and Thompson P. D Phytosterols and vascular disease. In: Atherosclerosis, 2006, nr 186, p. 12-19.
186. Patil B.R., Rudraradhya M., Vijayakumar C.H.M., Basappa H., Kulkarni R.S. Correlation and path analysis in sunflower. In: J. of Oilseeds Res., 1996, nr 13(2), p. 162-166.
187. Paun O., Schönswetter P. Amplified Fragment Length Polymorphism (AFLP) - an invaluable fingerprinting technique for genomic, transcriptomic and epigenetic studies. In: Methods Mol Biol., 2012, nr 862, p. 75–87.
188. Perez-Vich B., Velasco L., Fernandez-Martinez J.M. A new sunflower mutant with increased levels of palmitic acid in the seed oil. In: Helia, 2008, nr 31, № 48, p. 46-60.
189. Piquemal J., Cinquin E, Couton F, Rondeau C, Signoret E, Doucet I, Perret D, Villegier MJ, Vincourt P, Blanchard P. Construction of an oilseed rape (*Brassica napus* L.) genetic map with SSR markers. I: Theor. Appl. Genet., 2005, nr 111(8), p.1514-1523.
190. Polashock James J., Vorsa N. Development of SCAR Markers for DNA Fingerprinting and Germplasm Analysis of American Cranberry. In: Amer. Soc. Hort. Sci., 2002, nr 127(4), p. 677–684.
191. Powell W, Machray GC, Provan J. Polymorphism revealed by simple sequence repeats. In: Trends in Plant Science, 1996, nr 1, p. 215–222.
192. Primmer CR, Ellegren H. Patterns of molecular evolution in avian microsatellites. In: Mol Biol Evol., 1998, nr 15(8), p. 997-1008.
193. Putt, E.D., Sackston, W.E., Studies on sunflower rust IV. Two gene, R1 and R2 for resistance in the host. In: Canadian Journal of Plant Science, 1963, vol. 43(4), p. 490-496.
194. Qi, L. L., Long, Y. M., Ma, G. J., and Markell, S. G. Map saturation and SNP marker development for the rust resistance genes (R4, R5, R13a, and R13b) in sunflower (*Helianthus annuus* L.). Mol. Breed. 2015b, nr. 35, p.196.
195. Qi, L.L., Gulya, T.J., Hulke, B.S., Vick, B.A., Chromosome location, DNA markers and rust resistance of the sunflower gene R5. In: Molecular Breeding, 2012, nr. 30, p. 745-756.
196. Qi, L.L., Long, Y.M., Jan, C.C., Ma, G.J., Gulya, T.J. *Pl<sub>17</sub>* is a novel gene independent of known downy mildew resistance genes in the cultivated sunflower (*Helianthus annuus* L.). Theor. Appl. Genet. 2015a, vol. 128, p. 757–767.
197. Qi, L.L., Ma, G.J., Long, Y. M., Hulke, B.S., Gong, L., Markell, S.G. Relocation of a rust resistance gene *R2* and its marker-assisted gene pyramiding in confection sunflower (*Helianthus annuus* L.). Theor. Appl. Genet., 2015c, vol. 128, p. 477–488.
198. Qi, L.L., Seiler, G. J., Vick, B. A., Gulya, T. J., Genetics and mapping of the R11 gene conferring resistance to recently emerged rust races, tightly linked to male fertility restoration, in sunflower (*Helianthus annuus* L.). In: Theoretical and Applied Genetics, 2012, vol. 125, p. 921–932.
199. Qi, L.L., Talukder, Z. I., Hulke, B. S., and Foley, M. E. (2017). Development and dissection of diagnostic SNP markers for the downy mildew resistance genes *Pl<sub>Arg</sub>* and *Pl<sub>8</sub>* and marker-assisted gene pyramiding in sunflower (*Helianthus annuus* L.). Mol. Genet. Genomics 292, 1–13. doi: 10.1007/s00438-017-1290-8
200. Qi-Lun Y, Ping F, Ke-Cheng K, Guang-Tang, Genetic diversity based on SSR markers in maize (*Zea mays* L.) landraces from Wuling mountain region in China. In: J. Genet., 2008, nr 87(3), p 287-291.

201. Radić V., Mrđa J., Terzić S., Dedić B., Dimitrijević A., Balalić I., Miladinović D. Correlations and path analyses of yield and other sunflower seed characters. *Genetika*, 2013, vol. 45, No.2, p. 459-466.
202. Ramsay, L., Macaulay, M., Ivanissevich, S. D., MacLean, K. , Cardle, L., Fuller, J., Edwards, K. J., Tuvešson, S., Morgante, M., Massari, A., Maestri, E., Marmioli, N., Sjakste, T., Ganal, M., Powell, W. and Waugh, R. A simple sequence repeat-based linkage map of barley. In: *Genetics*, 2000, nr 156, p. 1997-2005.
203. Regitano Neto, A., de Oliveira Miguel, A. M. R., Mourad, A. L., Henriques, E. A., and Alves, R. M. V. (2016). Environmental effect on sunflower oil quality. *Crop Breed. Appl. Biotechnol.* 16, 197–204. doi: 10.1590/1984-70332016v16n3a30
204. Röder, M.S., Korzun, V., Wendehake, K., Plaschke, J., Tixier, N.-H., Leroy, P., and Ganal, M.W. A microsatellite map of wheat. In: *Genetics*, 1998, nr 149, p. 2007–2023.
205. Ronicke S., Hahn V., Horn., Grone I., BrahmL., Cchnabel H., Friedt W. Interspecific hybrids of sunflower as a source of *Sclerotinia* resistance. In: *Plant Breeding*, 2004, nr 123(2), p. 152-157.
206. Ryland J. Manufacturing and food service. In: *Sunflower Conf. Proc. Scession III.*. Australia Oilseed Federation, 2003, p. 33-45.
207. Sauca F. Introgression of drought-resistant gene(s) from *Helianthus argophyllus* to *Helianthus annuus* specie, using embryo rescue techniques. In: *Romanian Agricultural Research*, 2010, nr 27, p. 48-51.
208. Schulman A. H. Molecular markers to assess genetic diversity. In: *Euphytica*, 2007, nr 158, p. 313–321.
209. Seiler G.J., Gulya T.J., Marek F.L. Exploration for wild *Helianthus* species from the desert southwestern USA for potential drought tolerance. In: *Helia*, 2006, nr 29(45), p. 1-10.
210. Seiler G.J., Jan C.C. Wild Sunflower Species as a Genetic Resource for Resistance to Sunflower Broomrape (*Orobanche cumana* Wallr.). In: *Helia*, 2014, vol. 37, Issue 61, p. 129-139.
211. Seiler, G.J., Qi, L.L., Marek, L. Utilization of Sunflower Crop Wild Relatives for Cultivated Sunflower Improvement. *Crop Science*. 2017, nr. 57(3)..
212. Shabana R. Performance of a new synthetic sunflower stock developed from local and introduced Germplasm and further improvement via population improvement method. In: *Helia*, 1990, nr 13(13), p. 11-16.
213. Sincik M., Goksoy A.T. Investigation of Correlation between Traits and Path Analysis of Confectionary Sunflower Genotypes. In: *Not Bot. Horti. Agrob.*, 2014, nr 42(1), p. 227-231.
214. Škorić AD, Sakač Z, Balalić I. Correlations between individual and total fatty acids and tocopherols and their interdependance in sunflower oil. *Acad. J. Biotechnol.* 2016, nr.4(1) p. 016-020.
215. Skoric D. “Sunflower breeding,” in *Sunflower Genetics and Breeding*, ed. Z. Kovacevic (Novi Sad: Serbian Academy of Sciences), 2012, p. 165–354.
216. Škorić D. F.A.O. subnetwork report 1984-1986. Genetic evaluation and use of *Helianthus* wild species in breeding programs. F.A.O.Rome, Italy, 1987. pp. 1-17.
217. Škorić D. Sunflower breeding for resistance to abiotic stress. In: *Helia*, 2009, nr 32, p. 1-16.
218. Škorić D. Sunflower breeding for resistance to *Diaporthe/Phomopsis helianthi*. In: *Helia*, 1985, nr 8, p. 21-24.

219. Škorić D. Sunflower breeding. In: Uljarstvo, 1988, nr 25(1), p. 3-91.
220. Škorić D., Dozet B. Use of wild *Helianthus* species in sunflower breeding for resistance to disease. In: 13-th EUCARPIA Congress. Angeres, France. 1992, p. 735-737.
221. Škorić D., Jocić S., Hladni N., Vannozzi G. P. An analysis of heterotic potential for agronomically important traits in sunflower (*Helianthus annuus* L.). In: Helia, 2007, nr 30(46), p. 55-73.
222. Škorić D., Jocić S., Jovanović D., Hladni N., Marinković R., Atlagić J., Panković D., Vasić D., Miladinović F., Gvozdenović S., Terzić S., Sakač Z. Achievements of sunflower breeding. In: Periodical of Institute of Field and Vegetable Crops Novi Sad, 2006, nr 42, p. 131-173.
223. Škorić D., Sunflower Breeding for Resistance to Abiotic and Biotic Stresses. In: Chapter 25 in Abiotic and Biotic Stress in Plants - Recent Advances and Future Perspectives, Edited by Arun K. Shanker and Chitra Shanker, InTech, 2016, p. 586-635.
224. Škorić D., Vrebalov T., Čupina T., Turkulov J., Marinković R., Maširević S., Atlagić J., Tadić L., Sekulić R., Stanojević D., Kovačević M., Jančić V., Sakač Z. Suncokret (monografija). Nolit, Beograd. 1989, p. 1-635.
225. Slabaugh, M.B., Yu, J.K., Tang, S.X., Heesacker, A., Hu, X., Lu, G.H., Bidney, D., Han, F., Knapp, S.J. Haplotyping and mapping a large cluster of downy mildew resistance gene candidates in sunflower using multilocus intron fragment length polymorphisms. In: Plant. Biotech. Journal, 2003, nr 1, p. 167-185.
226. Smić B., Čosić J., Liović I., Krizmanić M. and Poštić J. The influence of weather conditions on economic characteristics on sunflower hybrids in macro experiments from 1997 to 2007. In: Proc. 17-th International Sunflower Conference, Cordoba, Spain, 2008, p. 261-263.
227. Soranzo N, Provan J, Powell W. An example of microsatellite length variation in the mitochondrial genome of conifers. In: Genome, 1999, nr 42(1), p.158-61.
228. Sprage J. F., Miller P. A., Brimhale B. Additional of the relative of two systems of selection for oil content of the corn kernel. In: Argon J, 1952, vol. 44, p. 329-331.
229. Staub J. E., Kuhns L. J., May B., Grun P. Stability of potato tuber isozymes under different storage regimes. In: J. Am. Sci., 1982, nr 107, p. 405-408.
230. Sujatha M., Prabakaran A.J., Chattopadhyay C. Reaction of wild sunflowers and certain interspecific hybrids to *Alternaria helianthi*. In: Helia, 1997, nr 20(27), p. 15-24.
231. Sujatha M., Prabakeran A.J. Ploidy manipulation and introgression of resistance to *Alternaria helianthi* from wild hexaploid *Helianthus* species to cultivated sunflower (*H. annuus* L.) aided by anther culture. In: Euphytica, 2006, nr 152(2), p. 201-215.
232. Şestacova T., Gisca I., **Cucereavii A.**, Port, A., Duca, M. NPR1 expression in sunflower infected with downy mildew. Current Opinion in Biotechnology. 2013, vol. 24(1), Suppliment, Proceedings of European Biotechnology Congress, p.131-132. ISSN 0958-1669. (IF:8,04).
233. Şestacova T., Gisca I., **Cucereavii A.**, Port A., Duca M. Expression of defence-related genes in sunflower infected with broomrape. In: Biotechnology and Biotechnology Equipment. vol. 30, no. 4, 2016, p. 685-691.
234. Şestacova T., Gisca I., **Cucereavii A.**, Tabără O., Port A., Duca M. Expression of some antioxidant genes in sunflower infected with broomrape. In: Analele Ştiinţifice ale



- Universității „Alexandru Ioan Cuza”, Secțiunea Genetică și Biologie Moleculară, 2015, TOM XVI, Fascicula 3, p. 97-106.
235. Tan A.S., Jan C.C., Gulya T.G. Transferring downy mildew race 4 resistance from wild *Helianthus annuus* into cultivated lines. In: Proc. Sunflower Res. Workshop, NSA, Bismarck ND, 1990, p. 100-102.
  236. Tang S. et al. Simple sequence repeat map of the sunflower genome. In: TAG, 2002, vol.105, p. 1124–1136.
  237. Tavoľjanski N., Yesaev A., Yakutkin V., Akhtulova E., Tikhomirov V. Using the collection of wild species in sunflower breeding. In: *Helia*, 2002, nr 25(36), p. 65-77.
  238. Temnykh, S., Park, W. D., Ayres, N., Cartinhour, S., Hauck, N., Lipovich, L., Cho, Y. G., Ishii, T. and McCouch, S. R. Mapping and genome organization of microsatellite sequences in rice (*Oryza sativa* L.). In: *Theoretical and Applied Genetics*, 2000, nr 100, p. 697-712.
  239. Thompson T.E., Rogers C.E., Zimmerman D.C., Hug H.C., Whalen E.D.P., Miller J.F. Evaluation of *Helianthus* species for disease resistance and oil content and quality. In: Proc. 8<sup>th</sup> Intern. Sunflower Conf., Minneapolis, MN, S.U.A., 1978, p. 501-509.
  240. Thuillet A.C., Bru D., Jacques D. et al. *Molecular Biology and Evolution*, vol. 19, Issue 1, 2002, p. 122–125.
  241. Tóth G, Gáspári Z, Jurka J. Microsatellites in different eukaryotic genomes: survey and analysis. In: *Genome Res.*, 2000, nr 10(7), p. 967-81.
  242. Usatov A.V., Mashkina E.V., Markin N.V., Guskov E.P. Mutagenic effect of nitrosomethylurea modified by heat shock at early stages of the sunflower seedlings development. In: *Russian Journal of Genetics*, 2001, nr 37. № 12, p. 1388-1393.
  243. Velasco L., Pérez-Vich B., Fernández-Martínez J.M. Research on resistance to sunflower broomrape: an integrated vision. *OCL*, 2016, vol. 23(2) D203, p. 1-8. 10.1051/ocl/2016002.
  244. Vidal NM, Grazziotin AL, Ramos HC, Pereira MG, Venancio TM, Development of a gene-centered SSR atlas as a resource for papaya (*Carica papaya*) marker-assisted selection and population genetic studies. In: *PLoS One*, 2014, nr 13, p. 1-10
  245. Vigouroux Y, Jaqueth JS, Matsuoka Y, Smith OS, Beavis WD, Smith JS, Doebley J. Rate and pattern of mutation at microsatellite loci in maize. In: *Mol Biol Evol*, 2002, nr 19, p. 51-60.
  246. Virányi F. and Oros G. Developmental stage response to fungicides of *Plasmopara halstedii* (sunflower downy mildew). In: *Mycol. Res.*, 1991, vol. 95, p. 199-205.
  247. Viranyi F. and Spring O. Advances in sunflower downy mildew research. In: *Eur. J. Plant Pathol.*, 2011, vol. 129, p. 207-220.
  248. Weber J.L. Informativeness of human (dC-dA)<sub>n</sub>(dG-dT)<sub>n</sub> polymorphisms. In: *Genomics*. 1990, nr 7(4), p. 524-530.
  249. Welsh J., McClelland M. Genomic fingerprinting using arbitrarily primed PCR and a matrix of pairwise combinations of primers. In: *Nucleic Acids Res.*, 1991; nr 19(19), p. 5275–5279.
  250. Williams J.G.K., Kubelik A.R., Livak K.J., et al. DNA polymorphisms amplified by arbitrary primers are useful as genetic markers. In: *Nucl. Acids Res.*, 1990, vol. 18, nr. 22, p. 6531-6535.
  251. Yu J. et al. Allelic diversity of simple sequence repeat markers among elite inbred lines in cultivated sunflower. In: *Genome*, 2002, vol. 45, p.652-660.
  252. Zimmer D.E., Hoes J.A. Diseases. In: Carter, J.F. (Ed.), *Sunflower Science and Technology*, Agronomy 19, ASA, Madison, WI, 1978, p. 225-262.

**ANEXE**

**Anexa 1.** Hibrizi de floarea-soarelui testați și înscrși în  
Catalogul soiurilor de plante al Republicii Moldova



Fig. 1. Adeverința de soi de plante (soiul Codru)



REPUBLICA MOLDOVA  
COMISIA DE STAT PENTRU TESTAREA SOIURILOR DE PLANTE

# ADEVERINȚĂ

*pentru soi de plante*

**Nr.** 548.2

**Cultura** FLOAREA SOARELUI (Helianthus annuus L.)

**Soiul** DACIA

*este eliberată în corespundere cu Decizia Comisiei de Stat  
pentru Testarea Soiurilor de Plante în temeiul  
Legii privind protecția soiurilor de plante Nr.39-XVI/2008*

*la cererea Nr. 0282550 din 01.12.2010*

**Solicitantul(ții)** AMG - Agroselect Comerț SRL

**Autorul(rii)** Ion GIȘCĂ, M.Duca, A.Cucereavii.

Soiul este inclus  
în Catalogul Soiurilor de Plante  
al Republicii Moldova în anul 2014

**Președinte**

Mihail Machidon

Fig. 2. Adeverința de soi de plante (soiul Dacia)



REPUBLICA MOLDOVA  
COMISIA DE STAT PENTRU TESTAREA SOIURILOR DE PLANTE

**ADEVERINȚĂ**  
*pentru soi de plante*

**Nr.** 544.2

**Cultura** FLOAREA SOARELUI (Helianthus annuus L.)

**Soiul** DOINA

*este eliberată în corespundere cu Decizia Comisiei de Stat  
pentru Testarea Soiurilor de Plante în temeiul  
Legii privind protecția soiurilor de plante Nr.39-XVI/2008*

*la cererea Nr. 0282765 din 21.12.2011*

**Solicitantul(ții)** AMG - Agroselect Comerț SRL

**Autorul(rii)** Ion GÎSCĂ, M.Duca, A.Cucereavii.

Soiul este inclus  
în Catalogul Soiurilor de Plante  
al Republicii Moldova în anul 2014

**Președinte**

Mihail Machidon

Fig. 3. Adeverința de soi de plante (soiul Doina)



REPUBLICA MOLDOVA  
COMISIA DE STAT PENTRU TESTAREA SOIURILOR DE PLANTE

**ADEVERINȚĂ**  
*pentru soi de plante*

**Nr.** 545.2

**Cultura** FLOAREA SOARELUI (Helianthus annuus L.)

**Soiul** NISTRU

*este eliberată în corespundere cu Decizia Comisiei de Stat  
pentru Testarea Soiurilor de Plante în temeiul  
Legii privind protecția soiurilor de plante Nr.39-XVI/2008*

*la cererea Nr. 0282766 din 21.12.2011*

**Solicitantul(ții)** AMG - Agroselect Comerț SRL

**Autorul(rii)** Ion GÎSCĂ, M.Buciuceanu, A.Cucereavii.

Soiul este inclus  
în Catalogul Soiurilor de Plante  
al Republicii Moldova în anul 2016

**Președinte**

Mihail Machidon

Fig. 4. Adeverința de soi de plante (soiul Nistru)



REPUBLICA MOLDOVA  
COMISIA DE STAT PENTRU TESTAREA SOIURILOR DE PLANTE

# ADEVERINȚĂ

*pentru soi de plante*

**Nr.** 549.2

**Cultura** FLOAREA SOARELUI (Helianthus annuus L.)

**Soiul** TALMAZ

*este eliberată în corespundere cu Decizia Comisiei de Stat  
pentru Testarea Soiurilor de Plante în temeiul  
Legii privind protecția soiurilor de plante Nr.39-XVI/2008*

*la cererea Nr.* 0282549 *din* 01.12.2010

**Solicitantul(ții)** AMG - Agroselect Comerț SRL

**Autorul(rii)** Ion GÎSCĂ, M.Buciuceanu, A.Cucereavii.



**Președinte**

Mihail Machidon

Soiul este inclus  
în Catalogul Soiurilor de Plante  
al Republicii Moldova în anul 2015

Fig. 5. Adeverința de soi de plante (soiul Talmaz)



REPUBLICA MOLDOVA  
COMISIA DE STAT PENTRU TESTAREA SOIURILOR DE PLANTE

# ADEVERINȚĂ

*pentru soi de plante*

Nr. 546.2

**Cultura** FLOAREA SOARELUI (*Helianthus annuus* L.)

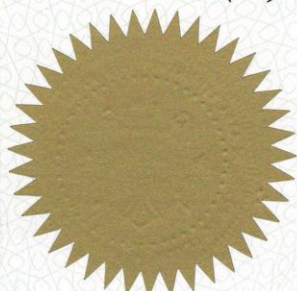
**Soiul** ZIMBRU

*este eliberată în corespundere cu Decizia Comisiei de Stat  
pentru Testarea Soiurilor de Plante în temeiul  
Legii privind protecția soiurilor de plante Nr.39-XVI/2008*

la cererea Nr. 0282552 din 01.12.2010

**Solicitantul(ții)** AMG - Agroselect Comerț SRL

**Autorul(rii)** Ion GÎSCĂ, M.Buciuceanu, A.Cucereavii.



**Președinte**

Mihail Machidon

Soiul este inclus  
în Catalogul Soiurilor de Plante  
al Republicii Moldova în anul 2015

Fig. 6. Adeverința de soi de plante (soiul Zimbru)



REPUBLICA MOLDOVA  
COMISIA DE STAT PENTRU TESTAREA SOIURILOR DE PLANTE

# ADEVERINȚĂ

*pentru soi de plante*

**Nr.** 543.2

**Cultura** FLOAREA SOARELUI (*Helianthus annuus* L.)

**Soiul** CEZAR

*este eliberată în corespundere cu Decizia Comisiei de Stat  
pentru Testarea Soiurilor de Plante în temeiul  
Legii privind protecția soiurilor de plante Nr.39-XVI/2008*

*la cererea Nr.* 0283148 *din* 19.03.2013

**Solicitantul(ții)** AMG - Agroselect Comerț SRL

**Autorul(rii)** Ion GÎSCĂ, M.Duca, A.Cucereavii, S.Chiaburu.

Soiul este inclus  
în Catalogul Soiurilor de Plante  
al Republicii Moldova în anul 2016

**Președinte**

Mihail Machidon

Fig. 7. Adeverința de soi de plante (soiul Cezar)



## Anexa 2. Act de implementare a rezultatelor științifice în ameliorare



### ACT DE IMPLEMENTARE

a rezultatelor obținute în urma activității în compania AMG –Agroselect Comerț SRL

Prin prezentul act se confirmă participarea colaboratorului științific Cucereavii Aliona la diversificarea germoplasmei de floarea-soarelui, crearea hibrizilor valoroși în baza genotipurilor de perspectivă obținute, testarea acestora în culturile comparative de concurs. În această perioadă au fost obținuți și testați peste 1500 hibrizi experimentali. Dintre acești hibrizi treizeci și doi sunt incluși în studiul actual, iar opt au fost prezentați la Comisiile de Stat pentru Testarea Soiurilor de Plante din Moldova, Ucraina, Rusia, Republica Belarus și Kazahstan. Șapte hibrizi (Codru, Dacia, Talmaz, Zimbru, Doina, Nistru, Cezar) au fost omologați în Moldova. În Ucraina au fost raionați hibrizii Talmaz, Zimbru, Dacia, Cezar. Patru hibrizi (Codru, Dacia, Talmaz, Zimbru) sunt raionați în Rusia și un hibrid (Doina) în Republica Belarus. Hibrizii Dacia și Doina confirmă rezistență la rasele severe de lupoaie.

Directorul,  
AMG-Agroselect Comerț SRL



Gherjavschi Grigore



Str. Mihai Viteazul 11, mun. Chișinău, MD-2004, Republica Moldova  
Tel./ Fax: (+373 22) 82 99 59, www.agroselect.md

Rechizitele bancare la "AMG-Agroselect Comerț" SRL  
Cod fiscal: 1010600023526 TVA: 0506282  
IBAN: MD15A900000022511610738  
Banca: BC "Moldova-Agroindbank" SA fil. Chișinău  
Codul băncii: AGRNMD2X723

## **DECLARAȚIA PRIVIND ASUMAREA RĂSPUNDERII**

Subsemnata, declar pe răspundere personală că materialele prezentate în teza de doctorat sunt rezultatul propriilor cercetări și realizări științifice. Conștientizez că, în caz contrar, urmează să suport consecințele în conformitate cu legislația în vigoare.

Cucereavii Aliona

Semnătura

Data

## ***CURRICULUM VITAE*** **CUCEREAVÎ ALIONA**

### **Date de contact:**

str.Burebista 6, bl. 2, ap. 50,  
Drochia, Republica Moldova,  
+37325223087, +37379011263  
alionacucereavii@mail.ru



**Data și locul nașterii:** 25.01.1972, s.Gribova, r-nul Drochia, Republica Moldova.

**Cetățenia:** MD.

### **Studii:**

1989-1992 – studii medii speciale, Colegiul Agricol din Țaul, specializarea Agronomie. Diplomă seria D 2447.

1994-1999 – studii de licență, Universitatea Agrară de Stat din Moldova, Facultatea Agronomie, specialitatea Selecție și genetică. Diplomă seria AL 009809.

2011-2015 – studii de doctorat, IGFPP, specialitatea – /411 Agronomie / 411.04 – Ameliorarea plantelor și producerea semințelor.

### **Activități de cercetare:**

8-19 iulie 2013, activități de cercetare în cadrul laboratorului de Ameliorare și Producere de sămânță la floarea-soarelui, Institutul de Cercetare Dezvoltare Agricolă, Fundulea, România.

### **Domeniile de interes științific:**

Ameliorarea plantelor, producerea de semințe, fitotehnie, agrotehnică, fitopatologie etc.

### **Activitate:**

1989 –1994 – Gospodăria Agricolă „Patria”, s.Gribova, r-nul Drochia, agricultor.

08.1999 –06.2002– ICCC Selecția, colaborator științific inferior.

15.12.2003 – 04.01.2011 – ÎS Cadastru, OCT Drochia, inspector pentru primirea și eliberarea actelor, arhivar.

05.01.2011 – prezent –AMG - Agroselect Comerț SRL, colaborator științific.

### **Participări la foruri științifice (naționale și internaționale):**

- 25-27 august 2011, International Symposium on Broomrape (*Orobanche* spp.) in Sunflower, UnAȘM, Chișinău, Republica Moldova.
- 10-14 November 2013, International Plant Breeding Congress. Antalya, Turkey.
- 10 martie 2014, Conferința Științifică Internațională a doctoranzilor „Tendințele Contemporane ale dezvoltării științei: viziuni ale tinerilor cercetători”. UnAȘM, Chișinău, Republica Moldova.
- 3-6 June 2014, Third International Symposium on Broomrape (*Orobanche* spp.) in Sunflower. Cordoba, Spain.
- 4-6 June 2015, The International Conference “Agriculture for Life, Life for Agriculture”. Bucharest, Romania.
- 28 iunie-1 iulie 2015, Congresului al X-lea Internațional al Geneticienilor și Amelioratorilor. Chișinău, Republica Moldova.
- 1-5 november 2015, 2<sup>nd</sup> Plant Breeding Congress & EUCARPIA – Oil and Protein Crops Conference. Antalya, Turkey.
- 29 may- 3 june 2016, 19<sup>th</sup> International Sunflower Conference. Edirne, Turkey.

**Coautor al hibrizilor de floarea-soarelui:** Codru, Dacia, Talmaz, Zimbru, Doina, Nistru, Oscar, Cezar (cota parte 30%).

**Lucrări științifice publicate:**

**articole în diferite reviste științifice**

**- în reviste internaționale cotate ISI și SCOPUS**

1. ȘESTACOVA T., GISCĂ, I., CUCEREAVÎI A., PORT A., DUCA M. Expression of defence-related genes in sunflower infected with broomrape. *Biotechnology and Biotechnology Equipment*. Vol. 30, no. 4, 2016, p. 685-691.

**- în reviste din străinătate recunoscute**

1. ȘESTACOVA T., GISCĂ I., CUCEREAVÎI A., TABĂRĂ O., PORT A., DUCA M. Expression of some antioxidant genes in sunflower infected with broomrape. *Analele Științifice ale Universității „Alexandru Ioan Cuza”, Secțiunea Genetică și Biologie Moleculară*, 2015, TOM XVI, Fascicula 3, p. 97-106.
2. DUCA M., PORT A., CUCEREAVÎI A., ȘESTACOVA T. SSR markers assessment in estimation of genetic polymorphism in sunflower. *International Journal of Advanced Research in Biological Sciences*, 2015, 2(1), p. 70-77.

**- în reviste din Registrul Național al revistelor de profil, cu indicarea categoriei**

**Categoria B**

1. CUCEREAVÎI A. Caracteristica germoplasmei de floarea soarelui după indicii fenologici, *Buletinul Academiei de Științe a Moldovei. Științele Vieții*, 2017, nr. 3 (333), 115-121
2. CUCEREAVÎI A. Evaluarea rezistenței unor genotipuri de floarea-soarelui la mană și rugină în condiții naturale de infectare, *Revista Știința Agricolă*, 2017, nr. 2, p. 3-10.
3. DUCA M., ȘESTACOVA T., PORT A., CUCEREAVÎI A., GÎSCĂ I., TABĂRĂ O. Assessment of sunflower resistance potential to downy mildew. *Journal of Botany*, 2014, vol. VI, nr. 2(9), p. 10-16. [http://www.gradinabotanica.asm.md/sites/default/files/revista\\_botanica%20%202-2014%20final%209.12.2014.pdf](http://www.gradinabotanica.asm.md/sites/default/files/revista_botanica%20%202-2014%20final%209.12.2014.pdf)
4. DUCA M., ȘESTACOVA T., PORT A., CUCEREAVÎI A., GÎSCĂ I., TABĂRĂ O. Screening-ul germoplasmei de floarea-soarelui la rugină. *Revista Știința Agricolă*, 2014, nr. 2, p. 15-19. [http://www.uasm.md/images/stories/sa/2\\_2014.pdf](http://www.uasm.md/images/stories/sa/2_2014.pdf)
5. ȘESTACOVA T., GÎSCĂ I., CUCEREAVÎI A., TABĂRĂ O. Evaluarea gradului de sterilitate la floarea-soarelui. *Revista Știința Agricolă*, 2015, nr.1, p. 10-14. [http://www.uasm.md/images/stories/sa/1\\_2015.pdf](http://www.uasm.md/images/stories/sa/1_2015.pdf)

**Materiale/ teze la forurile științifice**

**- conferințe internaționale (peste hotare)**

1. ȘESTACOVA T., CUCEREAVÎI A., TABĂRĂ O., PORT A., DUCA M. *Genetic variability of broomrape populations from Republic of Moldova. Proceedings of 19th International Sunflower Conference*, 29 May-3 June, 2016, Edirne, Turkey, p. 608.
2. CUCEREAVII A., GISCA I., DUCA M. Ontogenesis and phenology of some sunflower genotypes from AMG-Agroselect collection. *International Plant Breeding Conference*, Kyrenia, Turcia, October 15-20, 2017, p. 88.
3. CUCEREAVII A., NECHIFOR V., PORT A., DUCA M. Expression of CYCD3 gene in meiosis of sunflower (*Helianthus annuus* L.). *Current Opinion in Biotechnology*, 2013,

- 24(1), Suppliment, Proceedings of European Biotechnology Congress S132. ISSN 0958-1669. (IF: 8,04).
4. ȘESTACOVA T., GISCA I., **CUCEREAVII A.**, PORT, A., DUCA, M. NPR1 expression in sunflower infected with downy mildew. *Current Opinion in Biotechnology*. 2013, 24(1), Suppliment, Proceedings of European Biotechnology Congress, p.131-132. ISSN 0958-1669. (IF:8,04).
  5. MARTEA R., **CUCEREAVII A.**, LEVITCHI A. Elaboration of monitoring tools for sunflower breeding. *International Plant Breeding Congress*, November 10-14, 2013, Antalya, Turkey, p. 270.
  6. ȘESTACOVA T., GISCA I., **CUCEREAVII A.**, PORT A., DUCA M. Defence-related genes in advanced stages of sunflower-broomrape interaction. *II International Plant Breeding Congress & Eucarpia-Oil and Protein Crops Section Conference*, November 01-05, 2015, Antalya, Turkey, p. 201.

**- conferințe internaționale în republică**

1. **CUCEREAVII A.**, KAYA Y., TABĂRĂ O. *Molecular screening of local sunflower germplasm for downy mildew and rust resistance. The X<sup>th</sup> International Congress of Geneticists and Breeders*, 28 June-1 July 2015, Chisinau, p. 91.
2. PACUREANU JOITA M., ANTON G. F., RASNOVEANU L., **CUCEREAVII A.**, GASCA I. *The behavior of a sunflower hybrids set in different soil and climatic conditions, in Romania. The X<sup>th</sup> International Congress of Geneticists and Breeders*, 28 June-1 July 2015, Chisinau, p. 130.

**- conferințe cu participare internațională**

1. **CUCEREAVII A.**, TABĂRĂ O., ȘESTACOVA T. Estimation of genetic purity of material lines used in production of local sunflower hybrids. *The International Conference "Life Science in the Dialogue of Generations: Connections between Universities, Academia and Business Community"* Chișinău, 25 martie 2016, p. 32.
2. GÎSCĂ I., **CUCEREAVII A.** *Orobanche cumana* Wallr.–fanerogamă devastatoare a culturilor de floarea-soarelui. *Conferința Științifică Internațională a doctoranzilor „Tendințe contemporane ale dezvoltării științei: viziuni ale tinerilor cercetători”*, Chișinău, 2014, p. 57.
3. **CUCEREAVII A.**, GÎSCĂ I. Aspecte privind ameliorarea florii-soarelui la Centrul Științific „AMG – AGROSELECT COMERT” SRL. *Conferința Științifică Internațională a doctoranzilor „Tendințe contemporane ale dezvoltării științei: viziuni ale tinerilor cercetători”*, Chișinău, 2014, p. 58.

**Cunoașterea limbilor:** limba română – limba maternă, limba rusă – bine.

**Cunoașterea calculatorului:** Microsoft Office, Internet browsers, e-mail etc.