

**MINISTERUL EDUCAȚIEI, CULTURII ȘI
CERCETĂRII AL REPUBLICII MOLDOVA**

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

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

GÎSCĂ ION

**ASPECTE PRIVIND PARAZITUL FLORII-SOARELUI
OROBANCHE CUMANA WALLR. CU REFERIRE SPECIALĂ LA
REZISTENȚA GENETICĂ**

411.04. AMELIORAREA PLANTELOR ȘI PRODUCEREA SEMINȚELOR

Autoreferatul tezei de doctor în științe agricole

CHIȘINĂU, 2018

Teza a fost elaborată în cadrul Institutului de Genetică, Fiziologie și Protecție a Plantelor.

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

Referenți oficiali:

GONCEARIUC Maria, doctor habilitat în științe agricole, conferențiar cercetător

PARTAS Eugenia, doctor în științe agricole, conferențiar cercetător

Membri ai Consiliului Științific Specializat:

BOTNARI Vasile, doctor habilitat în științe agricole, conferențiar cercetător, *președinte*

COTENCO Eugenia, doctor în științe biologice, conferențiar cercetător, *secretar*

MUSTEAȚA Simion, doctor habilitat în științe agricole, profesor cercetător

PALII Andrei, doctor habilitat în științe biologice, profesor universitar, m.c. al AȘM

CHISNICEAN Lilia, doctor în științe agricole, conferențiar cercetător

Susținerea va avea loc la **2 noiembrie 2018, ora 11:00**, în ședința Consiliului Științific Specializat **D 10.411.04-06** din cadrul Institutului de Genetică, Fiziologie și Protecție a Plantelor, MD 2002, str. Pădurii 20, et. 2, mun. Chișinău, Republica Moldova, tel.: +37322770447, fax: +37322556180, e-mail: institut.gtp@ gmail.com

Teza de doctor și autoreferatul pot fi consultate la Biblioteca Științifică Centrală „Andrei Lupan” (MD 2028, str. Academiei 5a, mun. Chisinau) și pe pagina web a ANACEC (www.anacip.md).

Autoreferatul a fost expediat la **1 octombrie 2018**.

Secretar științific al Consiliului științific specializat,

COTENCO Eugenia, dr. șt. biol., conf. cercet.

Conducători științifici:

DUCA Maria, acad., dr. hab. șt. biol., prof. univ.

JOIȚA-PĂCUREANU Maria, dr. șt. agr., prof. cercet.

Autor

GÎSCĂ Ion

REPERE CONCEPTUALE ALE CERCETĂRII

Actualitatea temei. Grație randamentului înalt și stabil al producției, conținutului de lipide (33-56%) în semințe și calitatea deosebită a uleiului rezultat la extracție, floarea-soarelui reprezintă una dintre principalele surse de grăsimi vegetale utilizate în alimentația omenirii, respectiv, cultura oleaginoasă de bază din Republica Moldova. Valoarea economică ridicată a culturii de floarea-soarelui este determinată inclusiv de utilizarea acesteia în calitate de materie primă industrială, produs secundar, furaj, precum și ca plantă meliferă [18]. Continentul european, inclusiv fostele republici din componența URSS, domină cultura de floarea-soarelui la nivel global, deținând în prezent 60,7% din suprafața cultivată și 58,9% din producția totală de semințe. Conform datelor Organizației pentru Alimentație și Agricultură a Națiunilor Unite (FAO), în ultimele perioade Republica Moldova se plasează pe locul 17-19 pe plan mondial în clasamentul celor mai mari producători de semințe de floarea-soarelui [4].

Descrierea situației în domeniul de cercetare și identificarea problemelor cercetate. Cererea existentă pe piață, stabilitatea producției datorată toleranței sporite a culturii la secetă și, respectiv, posibilitatea de a obține venituri anuale stabile din realizarea semințelor, au determinat extinderea semnificativă a suprafețelor ocupate de floarea-soarelui și au condus la exploatarea irațională a terenurilor agricole și nerespectarea asolamentelor fapt ce cauzează creșterea evidentă a frecvenței și agresivității patogenilor. Printre factorii care provoacă pierderi considerabile de productivitate la cultura de floarea-soarelui într-un număr mare de țări cultivatoare (Serbia, Spania, Turcia, Bulgaria, România, Republica Moldova) se enumeră holoparazitul lupoaia (*Orobanche cumana* Wallr.) [1, 3, 4, 17, 19, 23].

Amplitudinea pagubelor determinate de parazitarea cu lupoaie variază foarte mult, de la scăderi nesemnificative de producție până la pierderi de 90%, în funcție de intensitatea atacului [3]. Lupoaia afectează mai multe elemente de productivitate, precum înălțimea plantei, diametrul calatidiului, numărul de semințe per calatidiu, conținutul de lipide și proteine în semințe, calitatea și cantitatea uleiului etc. [1, 5, 8, 20, 23].

Cel mai intens *O. cumana* Wallr. s-a răspândit în ultimele decenii ale secolului trecut, începutul secolului actual, intensificându-și semnificativ virulența. Pe parcursul evoluției parazitului au existat perioade în care, din cauza atacului, producția de floarea-soarelui a scăzut dramatic, problema fiind soluționată prin introducerea în cultură a hibrizilor și soiurilor rezistente. Pe de altă parte, utilizarea pe scară largă a genotipurilor rezistente a favorizat apariția a noi rase de lupoaie (E, F, G), mai agresive, care au depășit barierele de rezistență ale plantei gazdă, acest fenomen fiind constatat cu o periodicitate de 10-15 ani [4, 17, 30]. De remarcat că recent, doar după o perioadă de 8-10 ani, a fost identificată o nouă populație a parazitului, foarte virulentă ce aparține rasei H.

Totodată, se relevă o expansiune considerabilă a lupoaiei în noi arealuri de cultivare a florii-soarelui, inclusiv pe teritoriul Republicii Moldova. Astfel, dacă în anii 50-70 lupoaia era descrisă preponderent în zonele de sud ale țării, ultimele date pun în evidență o migrație a parazitului și extinderea *O. cumana* pe noi arealuri din partea de centru și nord [4].

Cele expuse pun în evidență importanța majoră și necesitatea cercetărilor focusate pe studiul biologiei parazitului, efectelor provocate de acesta asupra plantei gazdă, evaluarea continuă a germoplasmei disponibile în contextul identificării unor noi surse de rezistență ce ar putea fi incluse în programele de ameliorare și creare a hibrizilor rezistenți la rasele de lupoaie existente.

Scopul lucrării constă în evaluarea virulenței și impactului diferitor populații ale parazitului lupoiaia asupra unor indici cantitativi și calitativi ai productivității și *screening*-ul germoplasmei de floarea-soarelui în vederea obținerii hibrizilor rezistenți.

Obiectivele lucrării:

- analiza virulenței și evoluției diferitor populații ale parazitului lupoiaia;
- studiul determinismului genetic al rezistenței florii-soarelui la lupoiaie;
- evaluarea materialului inițial ameliorativ și transferul genelor de rezistență la lupoiaie prin metode de ameliorare convențională;
- evaluarea materialului inițial ameliorativ prin metode de analiză moleculară (markeri SCAR, RAPD);
- evaluarea unor hibrizi experimentali și comerciali de floarea-soarelui privind rezistența la lupoiaie;
- studiul influenței atacului cu lupoiaie asupra indicilor de productivitate la floarea-soarelui.

Metodologia cercetării a avut la bază realizarea experimentului științific, în condiții de câmp, vase de vegetație, seră și laborator, pe fondal de infecție și în lipsa acesteia. În scopul obținerii unor date complementare (*screening*-ul germoplasmei după prezența genelor *Or* și evaluarea polimorfismului genetic al acesteia) au fost implicate tehnici de analiză moleculară cu utilizarea markerilor SCAR și RAPD. Pentru interpretarea datelor s-a utilizat metoda inductivă, deductivă, comparativă și explicația causală.

Noutatea și originalitatea științifică. Lucrarea prezintă o abordare complexă focalizată pe analiza comprehensivă a evoluției raselor de lupoiaie și virulenței acestora, în paralel cu evaluarea germoplasmei privind rezistența la parazit, studiul determinismului genetic al rezistenței și ample evaluări comparative a hibrizilor experimentali în câmp, în aspectul evidențierii impactului lupoiaiei asupra recoltei. Pentru prima dată a fost realizat *screening*-ul genetic, molecular și fiziologic al genotipurilor de floarea-soarelui utilizate în ameliorare și au fost identificate o serie de linii și hibrizi de perspectivă rezistenți la lupoiaie în condiții naturale și artificiale de infectare.

Problema științifică soluționată constă în *fundamentarea* metodologiei de ameliorare a rezistenței la lupoiaie cu utilizarea complexă a metodelor moleculare, de laborator și experimentelor în câmp, *ceea ce a permis* evidențierea genei *Or5* în majoritatea liniilor, stabilirea asocierii primerilor RAPD cu rezistența, toleranța și sensibilitatea la lupoiaie, identificarea unor surse noi de rezistență și demonstrarea posibilității de transfer a genelor *Or* prin *backcross*-uri la liniile de perspectivă, *fapt care asigură* eficientizarea procesului de ameliorare și crearea hibrizilor de floarea-soarelui competitivi, rezistenți la lupoiaie.

Semnificația teoretică. Studiul realizat reprezintă o bază metodologică fundamentală de ameliorare a florii-soarelui la lupoiaie. Analiza determinismului genetic al rezistenței la lupoiaie și identificarea mecanismului de moștenire a genelor dominante *Or*, demonstrează că rezistența la rasele de lupoiaie mai virulente ca F este controlată de mai multe gene și nu doar de o singură genă dominantă precum în cazul raselor mai puțin agresive (de la rasa A până la F). Aceste rezultate ale determinismului genetic, depistat la două linii rezistente la rasele noi cu virulență sporită ale parazitului prezintă interes în crearea hibrizilor performanți.

Valoarea aplicativă a lucrării Prin utilizarea unor surse de rezistență la atacul cu *O. cumana* Wallr. au fost transferate gene de rezistență în linii-elită și linii care posedă caracteristici agronomice superioare. Au fost creați și transmiși la Comisia de Stat hibrizi rezistenți la lupoiaie, dintre care șapte au fost omologați. A fost elaborată o metodă de diagnosticare precoce a atacului

cu lupoaie care permite analiza rapidă a unui număr mare de genotipuri într-un timp scurt. Marcherii RAPD testați în lucrare se recomandă pentru *screening*-ul primar al germoplasmei ce posedă rezistență la lupoaie.

Rezultatele științifice principale înaintate spre susținere:

- Evoluția și virulența populațiilor de lupoaie în contextul ameliorării florii-soarelui la rezistență față de parazitul *O. cumana* Wallr.
- Determinismul genetic al diferitor rase de lupoaie și metodologia creării genotipurilor rezistente.
- *Screening*-ul germoplasmei de floarea-soarelui cu utilizarea concomitentă a metodelor clasice și moderne de analiză.
- Influența atacului lupoaiei asupra indicilor calitativi și cantitativi ai productivității la hibridii experimentali de floarea soarelui.

Implementarea rezultatelor științifice. Rezultatele cercetărilor științifice au fost valorificate în elaborarea a peste 25 de hibridi de floarea-soarelui, rezistenți la lupoaie care au demonstrat o productivitate înaltă pe terenurile cu infecție sporită din Republica Moldova și România. Șapte dintre acestea sunt omologați și se comercializează pe piața de semințe autohtonă și internațională. Anual “AMG-Agroselect Comerț” SRL produce 800,0 t de semințe certificate și 30,0 t de semințe de bază.

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 în cadrul *Conferinței Științifice Internaționale a doctoranzilor „Tendințe contemporane ale dezvoltării științei: Viziuni ale tinerilor cercetători”* (Chișinău, 2013, 2014), *Simpozionului Științific Internațional „Agricultura modernă–realizări și perspective”* (Chișinău, 2013), *Congresului Internațional de Ameliorare a Plantelor* (Turcia, Antalia, 2013, 2015), *Simpozionului Național cu participare internațională „Biotehnologii avansate – Realizări și perspective”* (Chișinău, 2013), *Congresului Internațional al Geneticienilor și Amelioratorilor*, ed. a X-ea (Chișinău, 2015), *The 19 International Sunflower Conference* (Turcia, Edirne, 2016), *International Plant Breeding Conference* (Kyrenia, Turcia, 2017).

Publicațiile la tema tezei. Rezultatele obținute sunt reflectate în 19 lucrări științifice, inclusiv 3 articole în reviste recenzate din străinătate, 5 articole în reviste recenzate naționale, dintre care 2 în monoautorat, 2 articole în culegeri și 9 comunicări în cadrul unor foruri științifice naționale/internaționale.

Volumul și structura tezei. Teza include introducere, 4 capitole, concluzii generale și recomandări, bibliografie din 181 titluri, volumul total de 128 pagini, 55 figuri, 26 tabele și anexă.

Cuvinte-cheie: floarea-soarelui, lupoaie - *Orobanche cumana* Wallr., variabilitate, rezistență, determinism genetic, agresivitate, virulență, rase fiziologice.

CONȚINUTUL TEZEI

În **Introducere** este argumentată actualitatea și importanța temei abordate, sunt formulate scopul și obiectivele tezei, sunt expuse noutatea și originalitatea științifică a rezultatelor obținute, problema științifică soluționată, semnificația teoretică și valoarea aplicativă a lucrării, implementarea și aprobarea rezultatelor, publicații la tema cercetată, structura și volumul lucrării, termeni cheie.

1. STUDIU INTEGRATIV AL PATOSISTEMULUI *Orobanche cumana* Wallr. – *Helianthus annuus* L.

Materialul expus în acest capitol prezintă o sinteză amplă a datelor din literatura de specialitate privind biologia holoparazitului lupoaia, evoluția raselor fiziologice ale acestuia, răspândirea și impactul economic asupra productivității florei-soarelui. Prin prisma datelor prezentate se demonstrează, că productivitatea în condiții de infecție se află într-o strânsă dependență de particularitățile fiziologice ale parazitului (afinitate, agresivitate și virulență), de caracteristicile plantei gazdă (rezistență nespecifică, specifică și indusă), precum și de acțiunea factorilor de mediu. O atenție deosebită se acordă metodelor de evaluare a rezistenței plantei gazdă la atacul *O. cumana*, inclusiv utilizării tehnicilor moleculare, ce oferă o gamă largă de posibilități pentru evaluarea eficientă a germoplasmei și realizarea cu succes a programelor de ameliorare.

2. MATERIALE ȘI METODE DE CERCETARE

Material biologic. Drept material biologic au servit genotipuri de floarea-soarelui din Republica Moldova și România, inclusiv 43 hibrizi comerciali și experimentali, 20 specii sălbatice și 65 linii consangvinizate. Semințele de lupoaie folosite în realizarea experiențelor în condiții de infestare artificială au fost recoltate din câmpuri infestate, din diverse localități sau zone geografice. Experiențele s-au desfășurat, preponderent, în condiții de infestare naturală, în câmp, pe loturile experimentale ale companiei AMG-Agroselect Comerț, Soroca, Republica Moldova și ale INCDA Fundulea, România, precum și pe câmpuri din diverse localități din România (județul Brăila – Valea Cânepii și câmpurile Stațiunii de Cercetare Agricolă Brăila; județul Ialomița – Iazu și Țândărei; județul Constanța – Cuza Vodă și Peștera etc.), remarcate prin prezența parazitului cu grade diferite de virulență. Experiențele bazate pe infestarea artificială a culturii au fost realizate în case de vegetație și în laborator. Incidența lupoaiei a fost evaluată prin aprecierea frecvenței (F%), intensității (I%) și gradului de atac (G.A%) [19].

Determinarea indicilor de productivitate. Recoltarea s-a efectuat la etapa maturității fiziologice, cântărind și evidențiind producția de semințe separat, după metodele utilizate în cercetare și raportarea la unitatea de suprafață. Au fost estimați un șir de indici de productivitate, precum talia plantei, diametrul calatidiului, numărul de semințe pline per capitul, masa a 1000 de semințe și masa hectolitrică.

Analize biochimice. Conținutul de ulei s-a determinat în laborator, la analizatorul cu rezonanță magnetică nucleară. Conținutul de acid oleic s-a determinat prin metoda gaz-cromatografică, în baza cromatografiei gaz-lichidă.

Analizele moleculare s-au realizat în cadrul Centrului de Genetică Funcțională, Universitatea de Stat „Dimitrie Cantemir”, utilizând metode bazate pe reacția de polimerizare în lanț (PCR).

Screening-ul molecular al genei *Or5* în liniile de floarea-soarelui s-a realizat cu primeri specifici SCAR (*Sequence Characterized Amplified Region*) [16]. Estimarea variabilității genotipice a fost realizată prin analiza RAPD (*Random Amplified Polymorphic DNA*) [2] cu nouă primeri arbitrari.

Metode statistice de calcul. Prelucrarea statistică a datelor s-a realizat după Dosphehov [26], utilizând programul computerizat Microsoft Excel.

3. GENETICA ȘI AMELIORAREA LA FLOAREA-SOARELUI PENTRU REZISTENȚĂ LA ATACUL PARAZITULUI *Orobanche cumana* Wallr.

O etapă importantă în ameliorarea rezistenței florii-soarelui la lupoaie o constituie evaluarea germoplasmei și selecția eficientă a genotipurilor rezistente. Ținând cont de faptul că pentru patosistemul *O. cumana* Wallr. – *H. annuus* L. este caracteristic mecanismul genă pentru genă, adică unei gene de virulență a raselor de lupoaie îi corespunde o genă de rezistență în planta gazdă (rasa A - gena *Or1*, B - *Or2*, C - *Or3*, D - *Or4*, E - *Or5* etc.), o atenție deosebită se acordă studiului evoluției virulenței parazitului în strânsă legătură cu evoluția plantei gazdă [4, 17, 25]. În acord cu cele expuse, studiile reflectate în capitolul dat prezintă o abordare integrativă a evaluării evoluției raselor de lupoaie în conexiune cu cea a genotipurilor plantei gazdă, studiul diversității genetice și *screening*-ul complex (în câmp, vase de vegetație și laborator) a materialului ameliorativ (specii sălbatice, linii, hibridi) de floarea-soarelui, orientată spre identificarea genelor de rezistență și crearea unor hibridi competitivi pe piața de semințe. Analizele în condiții de infestare naturală s-au desfășurat, preponderent, în câmpuri cu infecție omogenă din diverse localități din România remarcate prin prezența parazitului cu grade diferite de virulență, care sunt intens studiate pe parcursul a mai multor zeci de ani, în ceea ce ține evoluția raselor de lupoaie și, respectiv, corespund pentru testarea materialului inițial de ameliorare și a hibridilor noi creați.

3.1. Evoluția și virulența populațiilor de *O. cumana* Wallr.

Analiza evoluției raselor de lupoaie pe teritoriul României a pus în evidență accelerarea, în ultima perioadă, a ritmului de apariție a noi rase cu virulență sporită capabile să depășească barierele de rezistență a hibridilor de floarea-soarelui. În scopul stabilirii statutului rasial al unor populații de lupoaie, colectate în anul 2012 din mai multe zone din România, caracterizate prin grad variat de infestare, au fost montate experiențe, în condiții de infestare artificială, ce au inclus un șir de genotipuri de floarea-soarelui (linii și hibridi), inclusiv diferențiatorii pentru rasa D, E și F ale parazitului (Tabelul 3.1.).

Tabelul 3.1. Comportarea unui set diferențiator pentru rasele de lupoaie în condiții de infestare artificială cu semințele parazitului recoltate din diferite zone din România, 2012

Diferențiatori rase	Sursa semințe lupoaie							
	Mircea Vodă (Brăila)	Cuza Vodă (Constanța)	Agighiol (Tulcea)	Valul lui Traian	Ștefan Vodă (Calarăși)	Cetatea (Giurgiu)	Iazu (Ialomița)	Podu Iloaiei (Iasi)
	Grad de atac (%)							
AD-66	87,4	79,7	89,3	88,5	67,5	55,4	64,3	55,7
S-1358	29,5	37,8	36,4	42,5	39,8	14,9	51,6	25,3
P-1380	18,7	27,7	29,6	31,5	28,6	0,0	44,3	0,0
LC 1093	2,0	33,7	49,4	37,2	0,0	0,0	0,0	0,0
LC 101	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
LG 5661	0,0	1,0	1,3	1,8	0,0	0,0	0,0	0,0
PR64A71	0,0	11,3	15,4	8,9	0,0	0,0	0,0	0,0
Tunca	0,0	24,7	27,9	12,8	0,0	0,0	0,0	0,0
PR64G46	0,0	2,0	1,7	0,9	0,0	0,0	0,0	0,0
Favorit	4,8	29,4	25,7	18,3	0,0	0,0	0,0	0,0

S-a constatat că o nouă populație mai virulentă ca rasa F a parazitului, prezentă anterior în zona Tulcea, s-a extins inclusiv în zona Constanța și Brăila, lipsind însă în zonele Călărași și Ialomița caracterizate prin prezența, în special, a rasei F și în zonele Giurgiu și Iași, unde putem vorbi doar de existența rasei E.

De remarcat sporirea virulenței lupoaii din zona Tulcea, care a afectat inclusiv hibridul PR64A71 (gradul de atac – 15,4%) caracterizat prin rezistență față de populațiile din aceeași localitate în experiențe din anii 2007 - 2010. Faptul că hibridul PR64A71, este atacat într-un grad mai ridicat, de la an la an, demonstrează că în cadrul populațiilor din zonele Tulcea și Constanța, există mai multe rase noi ale parazitului (cel puțin două), mai virulente ca rasa F, constatându-se o evoluție foarte rapidă a lupoaii.

O situație similară a fost constatată și în cadrul investigațiilor care au inclus, alături de populațiile de lupoaii din Republica Moldova și România, probe colectate în anul 2012 și 2013 din diferite țări, precum Turcia, Spania, Bulgaria, China, Serbia și Rusia (Tabelul 3.2.).

Tabelul 3.2. Gradul de atac al parazitului lupoaii în condiții de infestare artificială, cu populații provenite din diferite țări din Europa, 2013

Diferențiatori	Rase lupoaii	Populații lupoaii							
		România Tulcea (%)	România Constanța (%)	R. Moldova (%)	Rusia Stavropol (%)	Rusia Rostov 1 (%)	Rusia Rostov 2 (%)	Turcia (%)	Spania (%)
LC 1093	F	49,6	50,1	32,4	39,6	51,3	50,7	48,8	45,2
PR64A71	G	16,4	13,7	0,0	0,7	20,9	23,6	19,8	0,9
AD 66	Sensibil	77,4	85,6	70,4	69,5	87,2	89,4	68,7	60,4

Astfel, s-a stabilit că diferențiatorul pentru rasa F (linia LC-1093) este puternic atacat de populațiile din România (Tulcea și Constanța), Republica Moldova, Rusia (Stavropol și două probe din Rostov), Turcia și Spania, ceea ce demonstrează că în aceste zone sunt prezente rase mai agresive ca F. Lupoaii colectată din zonele Tulcea și Constanța, Rostov, precum și populațiile provenite din Turcia au afectat esențial, inclusiv hibridul PR64A71, rezistent la rasa G, fapt ce denotă apariția unor mutații ale parazitului și prezența unei noi rase mai virulente ca G (rasa H). Printr-un grad mai diminuat de virulență se disting populațiile din China, cea mai virulentă rasă prezentă aici fiind rasa E. Utilizând linii diferențiatore pentru rasele A-G, au fost obținute date privind ponderea raselor de lupoaii în trei zone diferite (Brăila, Constanța, Tulcea).

Ținând cont de faptul că la obținerea hibridilor comerciali de floarea-soarelui pentru producerea de sămânța sunt utilizate linia sterilă și linia restauratoare de fertilitate, a fost evaluată reacția la diferite populații de lupoaii a formelor A (sterilă), B (menținătoare de sterilitate) și R (restauratoare de fertilitate) ale liniilor diferențiatore pentru rasele E-G. S-a constatat că virulența parazitului *O. cumana* se manifestă diferit, în cazul liniilor de floarea-soarelui androsterile, linia B fiind mai mult atacată, comparativ cu forma sterilă A.

Analiza pe parcursul a câțiva ani a populațiilor de lupoaii din diverse localități și țări a relevat faptul că virulența parazitului lupoaii a evoluat rapid în ultimii ani, hibridii cultivați pierzându-și rezistența. S-a constatat că populațiile de lupoaii ale aceleiași rase ale parazitului diferă după intensitatea atacului în limita diferitor zone ale aceleiași țări. Formele noi de lupoaii devin mai virulente acaparând noi arealuri și substituind populațiile anterioare. Au fost acumulate date noi privind statutul rasial al lupoaii în diferite țări, importante în vederea

identificării de noi surse de rezistență ce vor fi introduse în genotipuri experimentale și hibrizi comerciali valoroși, competitivi, recomandați pentru cultivare într-un spațiu extins.

3.2. Studiul determinismului genetic al rezistenței florii-soarelui la *O. cumana* Wallr.

Este cunoscut faptul că în cadrul tuturor diferențiatorilor pentru rasele A-F ale parazitului genele de rezistență sunt de tip dominant, rezistența fiind determinate de o singură genă *Or*. În scopul stabilirii determinismului genetic al rezistenței la noile rase mai virulente de lupoaie, un șir de linii de floarea-soarelui, inclusiv liniile S-4465, P-547, S-101, total rezistente la rasa G a parazitului, au fost încrucișate cu linia sensibilă AD-66, fiind analizate descendențele în generațiile F₂ și test-cross. S-a stabilit că (Tabelul 3.3) în cazul liniilor rezistente la noile populații virulente ale parazitului este prezent un tip de rezistență la lupoaie, controlat de două gene dominante, raportul de segregare fiind de 15:1 în generația F₂ și 3:1 în generația test-cross.

Tabelul 3.3. Raportul segregării în generațiile F₂ și test-cross ale populațiilor obținute prin încrucișarea a șapte linii de floarea-soarelui rezistente la lupoaie cu linia sensibilă AD-66

Linia	Generația	Segregare (rezistent : sensibil)		χ^2	P (%)
		Existență	Teoretic așteptată		
LC - 1093	F ₁	32 : 0	-	-	-
	F ₂	72 : 24	3 : 1	0,158	0,50 - 0,70
	test-cross	-	-	-	-
P- 4432	F ₁	35 : 0	-	-	-
	F ₂	31 : 9	3 : 1	0,133	0,70 - 0,90
	test-cross	42 : 46	1 : 1	0,188	0,50 - 0,70
O- 2325	F ₁	61 : 0	-	-	-
	F ₂	26 : 9	3 : 1	0,009	>0,95
	test-cross	45 : 41	1 : 1	0,186	0,50 - 0,70
O- 432	F ₁	24 : 0	-	-	-
	F ₂	23 : 7	3 : 1	0,810	0,30 - 0,50
	test-cross	22 : 16	1 : 1	0,947	0,30 - 0,50
S- 4465	F ₁	49 : 0	-	-	-
	F ₂	189 : 14	15 : 1	0,118	0,80 - 0,90
	test-cross	50 : 15	3 : 1	0,012	0,50 - 0,70
P- 547	F ₁	35 : 1	-	-	-
	F ₂	78 : 6	15 : 1	0,114	0,70 - 0,90
	test-cross	28 : 13	3 : 1	0,009	>0,95
S- 101	F ₁	42 : 0	-	-	-
	F ₂	135 : 10	15 : 1	0,103	0,70 - 0,90
	test-cross	112 : 43	3 : 1	0,621	0,30 - 0,50

De menționat că două dintre aceste linii sunt linii restauratoare de fertilitate a polenului și pot fi utilizate ca forme parentale paterne, în obținerea hibrizilor comerciali de floarea-soarelui, iar una din linii este cu androsterilitate citoplasmatică și poate fi folosită ca linie maternă. Prin urmare determinismul genetic în cadrul genotipurilor de floarea-soarelui rezistente la noile populații ale parazitului lupoaia este diferit de cel din cadrul genotipurilor rezistente până la rasa F inclusiv, unde rezistența este controlată de o singură genă dominantă. Liniile de floarea-soarelui care posedă rezistență genetică la aceste populații noi ale parazitului nu asigură rezistență totală hibrizilor, decât în situația în care ambele forme parentale ale acestora sunt rezistente.

3.3. Evaluarea materialului inițial privind rezistența la lupoaie prin metode de ameliorare convențională

Pentru elaborarea unor hibrizi comerciali competitivi pe piața internațională lucrările de selecție presupun selectarea unor genotipuri rezistente la lupoaie și transferul genelor identificate în linii cu caracteristici agronomice superioare. Ținând cont de faptul că speciile sălbatice de floarea-soarelui, în special cele perene, constituie surse de gene favorabile, au fost testate privind rezistența la lupoaie 30 de specii sălbatice de *Helianthus*. S-a constatat că 20 dintre speciile analizate, printre care se enumeră *H. agrestis*, *H. anomalus*, *H. giganteus*, *H. glaucophyllus*, *H. grosseserratus*, *H. nuttallii*, *H. salicifolius*, *H. hirsutus*, *H. laevigatus*, *H. pumilus*, *H. ciliaris* etc. sunt total rezistente la lupoaie și prezintă interes pentru crearea unor hibrizi interspecifici și transferul genelor de rezistență la floarea-soarelui cultivată.

Adițional, testării privind rezistența la diferite populații de lupoaie colectate din 5 zone diferite din România, precum și populații virulente provenite din Republica Moldova, Rusia și Turcia, au fost supuse unele linii de floarea-soarelui din colecția de germoplasmă a INCDA Fundulea. În urma cercetărilor efectuate au fost puse în evidență linii cu rezistență foarte bună la atacul lupoaiei, care au fost folosite pentru transferul de gene în linii valoroase de floarea-soarelui.

Astfel, au fost introduse în procesul transferului genelor de rezistență mai multe linii de floarea-soarelui, atât linii cu androsterilitate citoplasmatică, cât și linii restauratoare de fertilitate. Unele dintre acestea au fost deja definitivate, după 3-4 generații *backcross* și 1-2 generații de autofecundare (Tabelul 3.4.).

Tabelul 3.4. Genotipuri de floarea-soarelui aflate în diferite generații de selecție pentru rezistența la parazitul *O. cumana* Wallr.

Nr.	Genotipul	Generația de selecție	Număr descendențe
1.	LC 1050 B	F ₁ (BC 3)	14
2.	LC 1093 B	F ₁ (BC4)	8
3.	LC 1019B	F ₁ (BC1)	5
4.	LC 1015 B	F ₁ (BC3)	14
5.	LC 1029 B	F ₁ (BC4)	11
6.	LC 1004 B	F ₁ (BC1)	9
7.	LC 1052 B	F ₁ (BC1)	7
8.	LC 1085 C	F ₁ (BC3)	15
9.	LC 1066 C	F ₁ (BC2)	17
10.	LC 1103 C	F ₁ (BC4)	12
11.	LC 1088 C	F ₁ (BC2)	8
12.	LC 1064 C	F ₁ (BC3)	11
13.	LC 1095 C	F ₁ (BC1)	9
14.	LC 2005 C	F ₁ (BC1)	7

Unele linii sunt în generații *backcross* mai avansate cum ar fi BC₃ sau BC₄, altele în BC₁ sau BC₂. Numărul de descendență pentru fiecare linie a fost diferit, între 5 și 17. În urma transferului genelor rezistenței la lupoaie unor linii cu caracteristici agronomice superioare, a fost posibilă obținerea hibrizilor cu un grad ridicat de rezistență la atacul acestui parazit caracterizați prin valori superioare ale unor caracteristici, precum: diametrul calatidiului, masa hectolictrică, masa a 1000 boabe și un grad sporit de autofertilitate

Generalizând datele obținute constatăm că prin încrucișarea unor specii sălbatice de floarea-soarelui, rezistente la atacul de lupoaie, cu specia cultivată, pot fi obținute surse importante de rezistență la atacul acestui parazit..

Prin transferul genelor de rezistență la lupoaie, în linii valoroase de floarea-soarelui, s-au obținut linii total rezistente la atacul parazitului, atât linii cu androsterilitate citoplasmatică, cât și linii restauratoare de fertilitate. Hibrizii de floarea-soarelui rezistenți la lupoaie prezintă și caracteristici valoroase, care asigură obținerea unor producții ridicate de sămânță și ulei de calitate superioară [11].

3.4. Screening-ul molecular al prezenței genei *Or5* în liniile de floarea-soarelui utilizate în ameliorare

Contrar, ameliorării convenționale, orientată pe selecția bazată pe fenotip sau pe marcherii morfologici, selecția asistată de marcheri moleculari este o metodă indirectă care presupune selectarea genotipurilor purtătoare a regiunilor implicate în manifestarea caracterelor de interes (în cazul de față plante rezistente la lupoaie) cu utilizarea marcherilor moleculari [13, 15, 24]. Din spectrul vast de marcheri moleculari identificați la moment, marcherii SCAR posedă un potențial puternic pentru aprecierea genotipurilor cu caractere valoroase, datorită *linkage*-ului genetic cu locii responsabili de însușiri prețioase. Printre marcherii SCAR asociați cu rezistența florii-soarelui la lupoaie, cel mai apropiat de gena *Or5* (5,6 cM în aval) este markerul RTS05 care se moștenește înlănțuit cu aceasta și posedă o rată de recombinare redusă. Studiile efectuate de Lu și colaboratorii pe linii rezistente și susceptibile au demonstrat prezența ampliconului de 650 pb, generat de primerii RTS05, doar la genotipurile rezistente, fapt ce denotă asocierea ampliconului respectiv cu prezența genei *Or5*, ce conferă rezistență la rasa E [16].

Reieșind din cele expuse, unul din obiective a fost identificarea marcherului RTS05 lincat cu gena *Or5* la diferite genotipuri de floarea-soarelui, hibridi și linii de perspectivă din colecția companiei AMG-Agroselect Comerț (Figura 3.1).

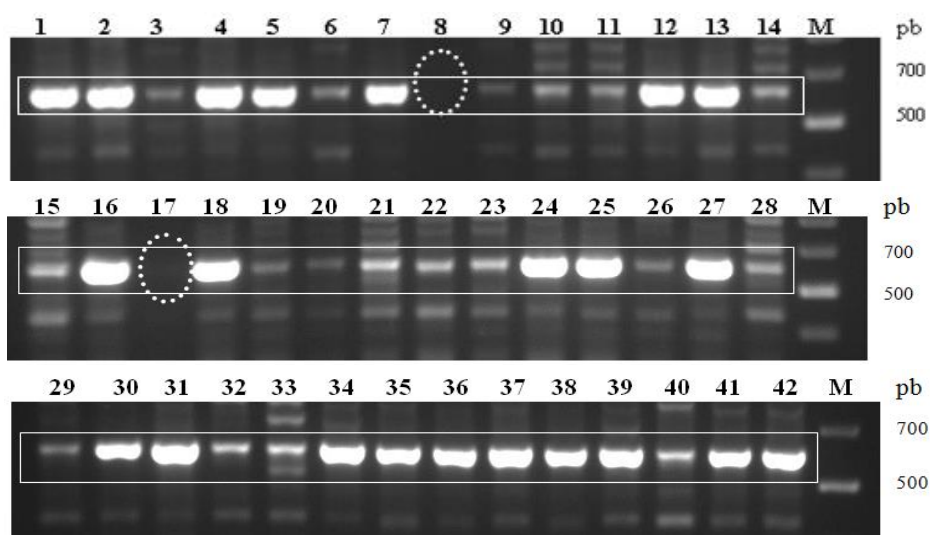


Fig. 3.1. Electroforeza produsului de amplificare (650 pb) cu primerul specific RTS05:

M – marker (100 – 1000 pb); *linii paterne* (1 – MS-2440C; 2 – MS-2064C; 3 – MS-1942C; 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); *linii materne* (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) și *hibridi* (35 – Codru; 36 – Dacia; 37 – Nistru; 38 – Zimbru; 39 – Talmaz; 40 – Doina; 41 – Cezar; 42 – Oscar).

Studiul amplificării mediate de perechea de primeri SCAR pe matriță de ADN genomic, a relevat prezența genei *Or5*, la 40 din 42 genotipuri cercetate și lipsa acestuia la formele paterne MS – 1995C și MS – 2400C, ce ne permite să presupunem că aceste genotipuri sunt susceptibile la atacul *O. cumana*, rasa E. Astfel, datele obținute ca rezultat a reacției PCR cu primeri specifici a permis clasificarea genotipurilor testate la prezența/absența locusului lincat cu gena *Or5* (Figura 3.1) și separarea în două grupe: rezistente și susceptibile la rasa E de lupoaie.

3.5. Analiza polimorfismului genetic al germoplasmei de floarea-soarelui cu primeri RAPD

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 tehnica PCR-RAPD, care a fost foarte puțin explorată în cadrul floarii-soarelui de cultură în Republica Moldova, dar și în lume. Marcherii lincați cu genele rezistenței la *O. cumana* Wall. facilitează selecția timpurie a materialului ameliorativ printr-un *screening* de prezență / absență a anumitor marcheri ADN specifici asociați cu rezistența la lupoaie [16]. Nivelul variabilității în cadrul floarii-soarelui de cultură din țară, detectat prin metoda RAPD s-a dovedit a fi mult mai ridicat decât cel detectat în baza marcherilor morfo-fiziologici și biochimici [6, 7, 13].

Astfel, analiza RAPD, realizată la diverse linii consangvinizate și hibridii acestora, cu nouă primeri arbitrari a relevat prezența a 117 de loci. Produsele PCR au fost reprezentate de ampliconi cu lungimea de 170-2500 pb. Numărul fragmentelor amplificate a variat în funcție de primerul utilizat, fiind evidențiate 2-14 benzi. Numărul locilor polimorfe a variat pe parcursul experiențelor, fiind puși în evidență de la 2 la 10 loci pentru diferiți primeri și genotipuri. Studiul spectrelor electroforetice ale ampliconilor RAPD la 42 genotipuri a evidențiat eterogenitatea spectrelor amplificate în funcție de genotip și primerul utilizat (Figura 3.2.).

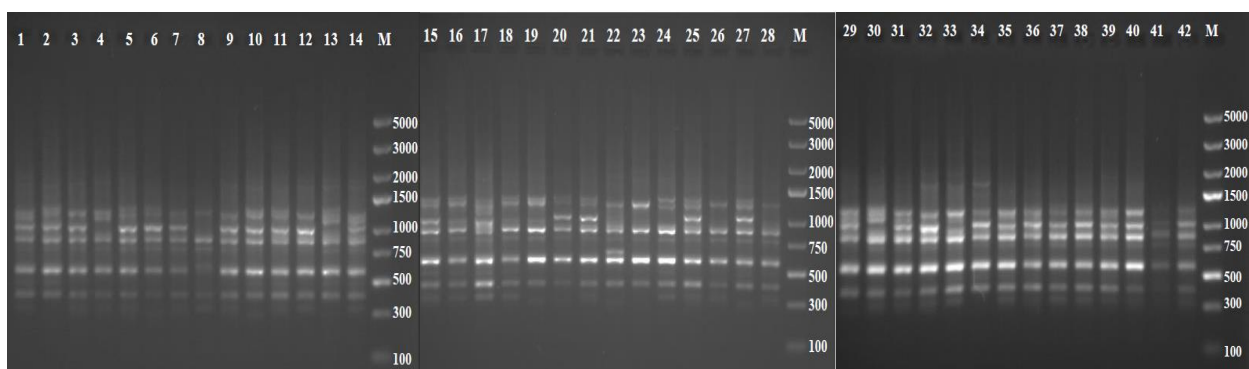


Fig. 3.2. Produsele de amplificare cu primerul OPA-11.

(M – markerul masei moleculare, 1 – MS-2440C; 2 – MS-2064C; 3 – MS-1942C; 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).

Au fost identificați ampliconi specifici pentru primerii OPA-11 (600 pb), OPK-17 (430 pb), OPB-03 și OPJ-03 (1500 pb) și OPV-09 (1000, 2000 pb), care caracterizează genotipurile cercetate.

Analiza clusteriană a permis să determinăm similaritatea genetică și gradul de înrudire a genotipurilor cercetate de floarea-soarelui. Clusterizarea genotipurilor după ampliconii RAPD a grupat genotipurile de floarea-soarelui (linii parentale și hibridi) în funcție de rezistența acestora, rezultatele obținute confirmând posibilitatea utilizării analizei RAPD în studiul polimorfismului genetic la diverse genotipuri și aplicabilitatea acesteia în programele de ameliorare la floarea-soarelui.

3.6. Evaluarea unor hibrizi experimentali și comerciali de floarea-soarelui privind rezistența la lupoaie

Evaluarea materialului ameliorativ (linii, populații, soiuri, hibrizi) privind rezistența la atacul *O. cumana* prezintă un mare interes pentru evidențierea reacției acestuia la atacul parazitului, în vederea stabilirii modului de utilizare în programul de ameliorare. De menționat, inclusiv importanța testării anuale, în zone puternic infestate cu parazitul lupoaia, a hibrizilor comerciali de floarea-soarelui, astfel fiind posibilă elaborarea unor recomandări privind cultivarea acestora în zone de acest tip, luând în calcul evoluția virulenței parazitului, cât și pierderea treptată a rezistenței hibrizilor. În acest context, studiile ulterioare au fost axate pe evaluarea unui șir de hibrizi experimentali și comerciali din colecția INCDA Fundulea și AMG-Agroselect, în condiții de infestare naturală, în câmp, precum și în condiții de infestare artificială în seră și case de vegetație, cu utilizarea lupoaiei provenite din zone caracterizate prin prezența unor populații virulente ale parazitului. Testările s-au realizat în doi ani consecutivi (2012 și 2013), în localități diferite din România (Tulcea, Ialomița, Brăila și Constanța), infestate cu lupoaie, și au inclus per total 14 hibrizi comerciali și 25 hibrizi experimentali cu divers nivel de rezistență.

A fost stabilită reacția distinctă a aceluiași hibrizi în zone diferite, determinată atât de influența condițiilor climatice variate, cât și de virulența diferită a populațiilor de lupoaie, prezente în fiecare dintre zonele analizate. În baza rezultatelor obținute, pentru fiecare zonă în parte, s-au evidențiat hibrizi total rezistenți sau cu un nivel înalt de rezistență la *O. cumana*, care pot fi recomandați pentru cultivare în zonele date, fiind relevați inclusiv hibrizi rezistenți la populațiile foarte agresive din Tulcea. Astfel, în baza datelor din ambii ani incluși în studiu, printr-un nivel scăzut al atacului s-au remarcat hibrizii PR64A71, LG5631 și hibridul Codru, creat în cadrul companiei AMG Agroselect cu contribuția autorului (Figura 3.3.). Analiza a 25 hibrizi experimentali în zona Brăila și Tulcea a relevat prezența a 9 hibrizi total rezistenți, în câmpurile din Brăila și a 4 hibrizi caracterizați printr-un grad de atac scăzut (1,3-3,7%) pe loturile puternic infestate din Tulcea.

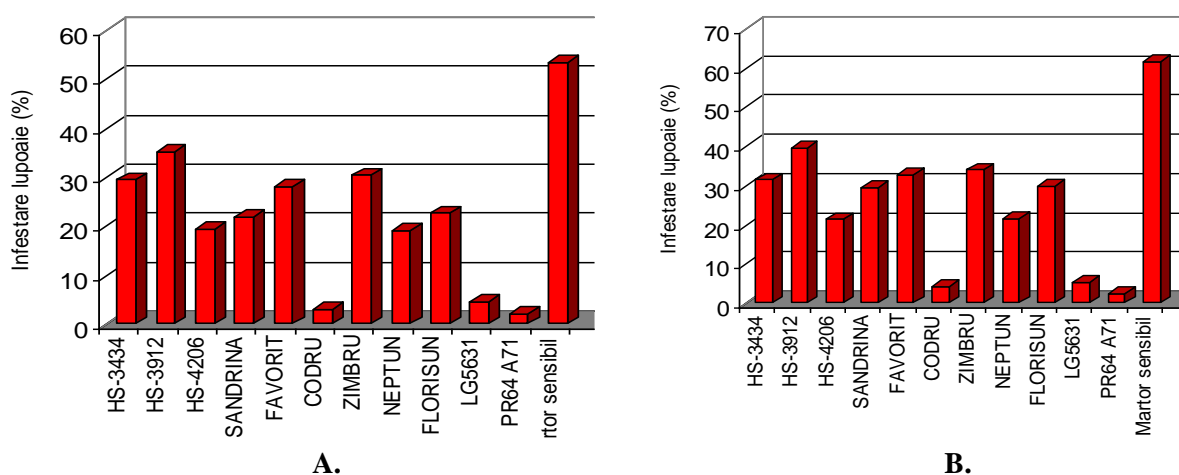


Fig. 3.3. Gradul de atac al parazitului lupoaia, asupra unui set de hibrizi de floarea soarelui, în zona Tulcea, în anul 2012 (A) și 2013 (B).

A fost obținut un volum impunător de date noi privind rezistența la lupoaie a unor hibrizi experimentali și comerciali de floarea-soarelui în condiții de infestare naturală în diverse zone cu infecție persistentă.

4. INFLUENȚA PARAZITULUI *Orobanche cumana* Wallr. ASUPRA UNOR ELEMENTE DE PRODUCȚIE ȘI DE CALITATE LA FLOAREA-SOARELUI

Productivitatea este o însușire complexă, care exprimă capacitatea întregului organism de a produce cât mai mult, în condiții variabile de mediu și cultură. De aceea, toate caracterele care condiționează, direct sau indirect, obținerea unei producții mari de semințe, constituie obiective importante ale programelor de ameliorare la floarea-soarelui. Componentele de bază ale productivității de semințe de floarea-soarelui sunt: numărul de semințe per plantă, masa hectolitică și masa a 1000 boabe. În acest context, este foarte important să se cunoască influența diferiților factori asupra acestor indici, inclusiv efectul parazitului *O. cumana*. Se știe că acțiunea holoparazitului lupoaia asupra florii-soarelui poate fi foarte diferită, de la lezarea non-vizibilă a țesuturilor vegetale și stagnarea dezvoltării plantei-gazdă până la moartea acesteia. Principalii indici afectați de patogen sunt înălțimea plantei, diametrul calatidiului, numărul de semințe per calatidiu, conținutul de lipide și proteine în semințe etc. [1, 8]. Pierderile de randament variază esențial în funcție de agresivitatea lupoaiei și condițiile climatice.

Pornind de la aceste considerente au fost studiați un șir de indici de productivitate, precum talia plantei, diametrul calatidiului, numărul de semințe pline per capitul, masa a 1000 de semințe și masa hectolitică la 17 hibrizi comerciali și experimentali de floarea-soarelui din Republica Moldova și România. Cercetările au fost realizate pe parcursul a doi ani (2012, 2013) în câmpuri neinfestate și în condiții de infestare naturală cu diferite grade de virulență ale parazitului din aceleași zone agricole. De remarcat că, valorile gradului de infestare cu lupoaie au fost mai scăzute în anul 2013, comparativ cu anul 2012, ceea ce se datorează, posibil, cantității de precipitații mai înalte, care a diminuat dezvoltarea parazitului. În acest context, în lucrare sunt analizate mai detaliat valorile indicilor de productivitate obținute în anul 2012, datele din 2013 servind, în special, pentru confirmarea sau infirmarea corelațiilor urmărite.

4.1. Talia plantei

În anul 2013, valorile parametrului dat au fost practic la nivelul celor remarcate în lipsa infecției, pe când în anul 2012 acest indice a scăzut în medie cu 10%. Cel mai mult (cu cca 15-21%) au fost afectați hibrizii HS 5436, HS 5540, Doina și Performer, diminuarea maximă a taliei plantei (21%) fiind constatată la hibridul Performer, care este sensibil la acțiunea parazitului lupoaia și a manifestat cel mai înalt grad de infectare (70,8% în 2012 și 69,4% în 2013). În cazul hibrizilor HS 5651, HS 4380, HS 4879, Zimbru, Milenium, PR64A83 și HS 5936 nu au fost observate corelații dintre gradul de atac și talia plantei (Figura 4.1.).

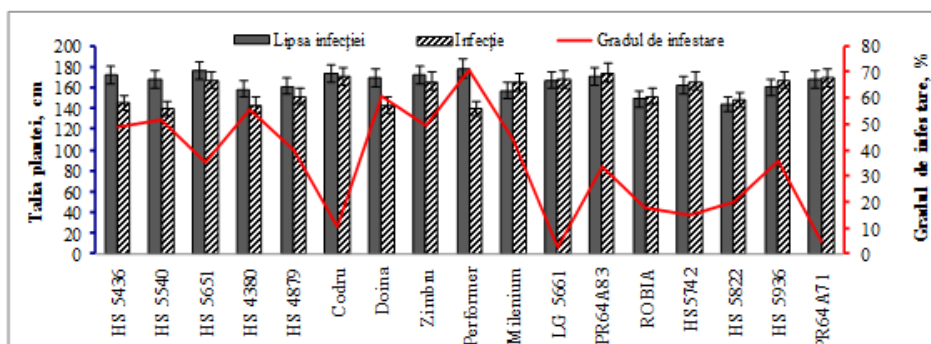


Fig. 4.1. Influența gradului de infestare cu *O. cumana* Wallr. (condiții de infectare naturală) asupra taliei plantei de floarea-soarelui, anul 2012.

Astfel, deși s-a marcat un grad de infestare destul de înalt (33,7-60,4%), parametrul analizat a fost influențat în măsură mică (până la 10%) sau deloc. Rezultate similare (lipsa unor corelații certe dintre talia plantei și gradul de atac cu lupoai) au fost raportate de Louarn J. și coautorii în cadrul analizei unei linii de floarea-soarelui [15].

4.2. Masa hectolitrică și masa a 1000 boabe

Analizele realizate au relevat faptul că, masa hectolitrică a unor genotipuri de floarea-soarelui scade semnificativ în condițiile unui grad de atac puternic al parazitului. Valorile obținute diferă de la un genotip la altul, unele dintre ele, tolerante, menținându-și nivelul acestor caracteristici chiar și în condițiile unui atac puternic al parazitului. Astfel, masa hectolitrică a scăzut în medie cu 14% în condițiile anului 2012 (Figura 4.2) și cu 10% în 2013, corespunzător.

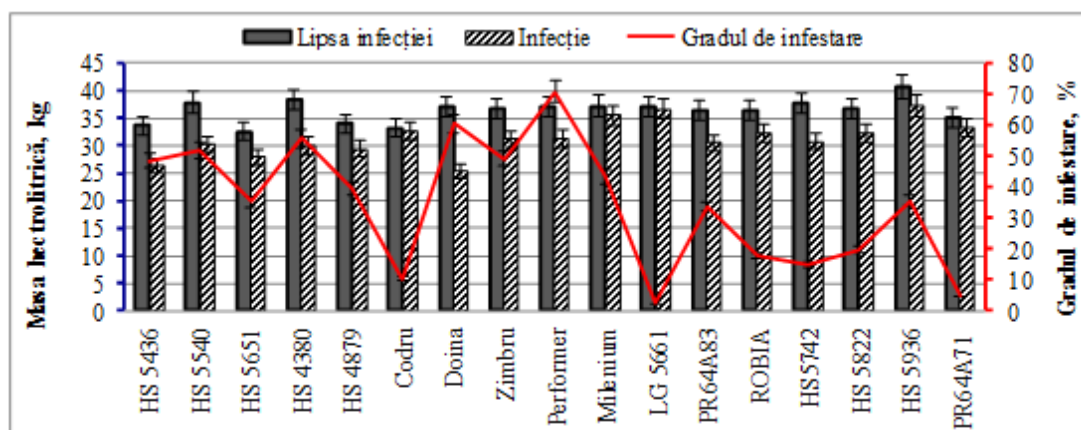


Fig. 4.2. Influența gradului de infestare cu *O. cumana* Wallr. (condiții de infectare naturală) asupra masei hectolitrică a semințelor de floarea-soarelui, anul 2012.

În anul 2012 au fost afectați, în special, hibridii Doina (cu valori de 25,3 kg față de 37,0 kg, respectiv, ce constituie o scădere de 23,0%), HS5436 (26,4 și 33,7 kg corespunzător – 21,7%), HS 4380 (21,9%) și HS 5540 (20,3%). Hibridii menționați se remarcă, inclusiv prin susceptibilitate sporită față de parazitul lupoai, gradul de infestare variind între 21,9-33,7%. La Performer cu cel mai înalt nivel de atac, masa hectolitrică a fost însă influențată într-o măsură mai mică, diminuarea fiind în jur de 15%.

Masa a 1000 boabe este influențată de atacul parazitului *O. cumana*, valorile cele mai scăzute înregistrându-se la hibridii sensibili la lupoai. În anul 2012, masa a 1000 semințe a constituit valori scăzute în condiții de infestare cu lupoai, comparativ cu condiții de lipsă de infestare, constituind în mediu 58,6 g, față de 65,2 g (Figura 4.3).

Indicii inferiori au fost obținuți pentru hibridii HS 5651, HS 5436, HS 5540 și Doina, pierderile variind între 15-33,7%, cu maxim la hibridul HS 5540 (33,7%), urmat de HS 5436 (28,0%). Hibridul sensibil Performer a prezentat valori ale 1000 semințe de 61,7 g în prezența infecției, față de 69,1 în lotul lipsit de infecție, pierderile fiind de cca 10%. În cazul hibridului Milennium, care s-a caracterizat printr-un grad ridicat de infestare cu lupoai, valorile masei hectolitrică și masei a 1000 semințe, în ambii ani, nu au prezentat diferențe majore, comparativ cu varianta neinfectată.

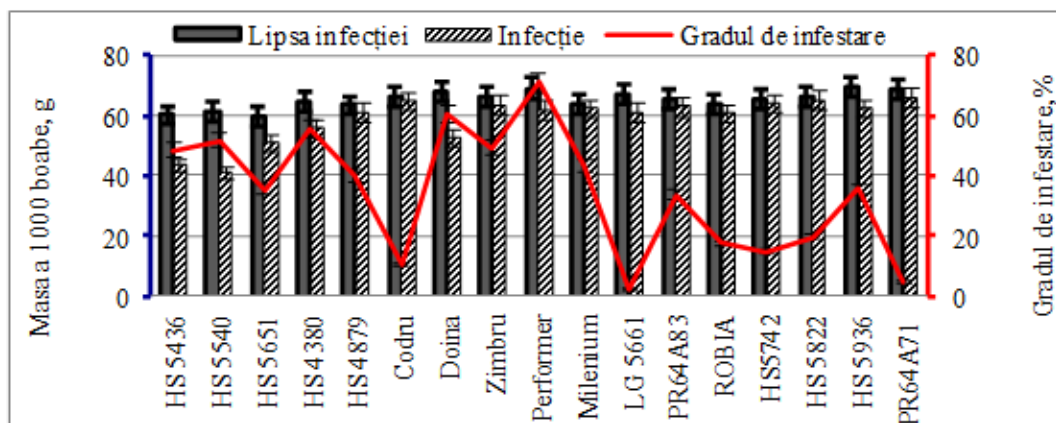


Fig. 4.3. Influența gradului de infestare cu *O. cumana* Wallr. (condiții de infectare naturală) asupra masei a 1000 semințe de floarea-soarelui, anul 2012.

4.3. Diametrul calatidiului și rata semințelor pline per calatidiu

S-a constatat că acești indici sunt puternic influențați de atacul de lupoaică. Astfel, în cazul unui grad ridicat de atac s-au înregistrat diminuări esențiale – de până la 40% (2012), respectiv, 23% (în medie pentru 2012 și 2013) în cazul hibridului susceptibil Performer (Figura 4.3). Pierderi semnificative de productivitate (19%) la hibridul Performer, lipsit de gene de rezistență, au fost raportate și de Pricop și coaut. [20].

Printr-o diminuare esențială a nivelului parametrilor analizați se distinge și hibridul susceptibil Doina care prezintă valori ale diametrului calatidiului cu 36,5 și 27,5%, corespunzător, pentru anul 2012 și 2013. De asemenea, hibridul denotă o rată scăzută de semințe pline per calatidiu, acesta fiind mai redusă cu 23,9, respectiv, 27,4% (Figura 4.4).

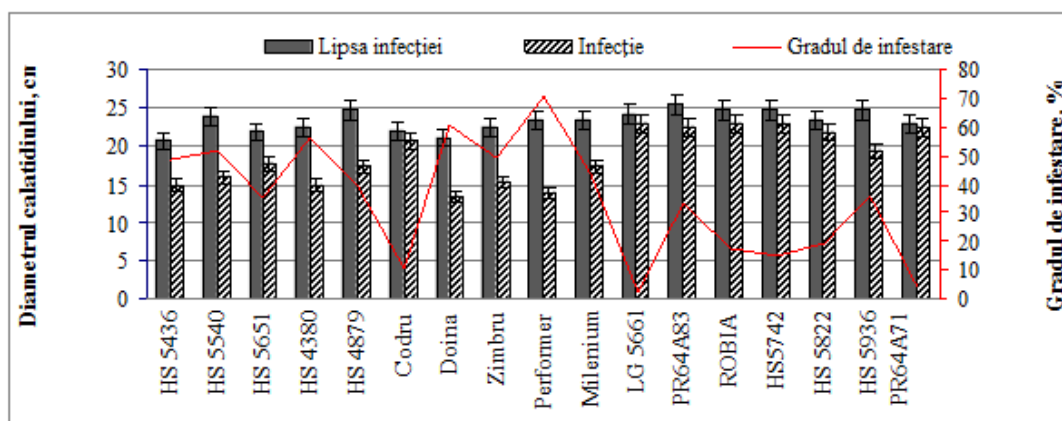


Fig. 4.4. Influența gradului de infestare cu *O. cumana* Wallr. (condiții de infectare naturală) asupra diametrului calatidiului de floarea-soarelui, anul 2012.

În baza analizei datelor pentru doi ani de studii, s-au evidențiat corelații evidente între gradul de infestare și dimensiunea calatidiului. Astfel, cele mai mici valori ale diametrului calatidiului, cuprinse între 13,4-17,4 cm în condiții de infecție, față de 21,1-23,8 cm în lipsa infecției, au fost înregistrate la hibridii HS5436, HS5540, HS4380, HS4879, Doina și Performer, remarcăți prin nivelul superior al gradului de infestare. Pe de altă parte, în cazul hibridilor Codru,

LG5661 și PR64A71, caracterizați prin cel mai slab grad de infestare, calatidiile au practic aceleași dimensiuni ca și probele cultivate în lipsă de infecție.

O scădere mai pronunțată (15,6-23,0%) a ratei de semințe pline per calatidiu în condiții de infestare cu lupoaiie a fost fixată la hibrizii, HS-4380, HS 5540, HS-4879, Zimbru, Doina și Performer (Figura 4.5).

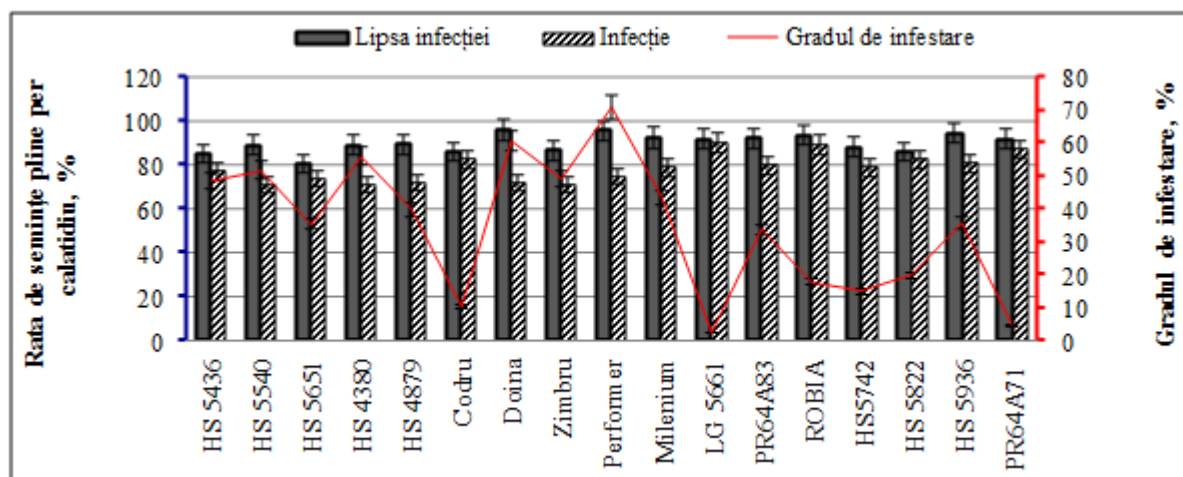


Fig. 4.5. Influența gradului de infestare cu *O. cumana* Wallr. (condiții de infectare naturală) asupra ratei de semințe pline per calatidiu, anul 2012.

S-a constatat, că hibrizi Doina și Performer cu cel mai ridicat grad de atac al parazitului, au fost cel mai mult afectați de lupoaiie, prezentând indici semnificativ diminuați pentru toate caracteristicile studiate.

Generalizând rezultatele obținute se atestă că parametrii analizați sunt afectați de atacul lupoaiiei, corelații mai evidente dintre gradul de infestare și valoarea indicilor de productivitate constatându-se în cazul diametrului calatidiului, care a scăzut esențial la toate genotipurile caracterizate prin grad de infestare major. O asociere mai înaltă a gradului de atac cu diametrul calatidiului și masa a 1000 semințe, comparativ cu indicele înălțimii plantei a fost raportată și de Shindrova și coautorii [23]. Corelațiile stabilite sunt confirmate prin datele anului 2013, cu excepția faptului că datorită atacului mai puțin sever, pierderile din acest an sunt considerabil mai reduse față de cele din 2012. De remarcat că, în cazul cultivării hibridului PR64A71, ce a constituit martorul în cadrul experienței, fiind caracterizat prin prezența genelor de rezistență la rase virulente de lupoaiie, pe câmpuri infectate parametrii de productivitate nu au fost afectați, diferențele dintre variantele cultivate în lipsă de infecție fiind încadrate în limita a 5% [9].

4.4. Producția de semințe

Studiul diferitor hibrizi de floarea-soarelui, atât comerciali cât și experimentali, în condiții de infestare și de lipsă a infecției, a permis obținerea de informații privind influența atacului parazitului asupra producției de semințe. Hibrizii au fost evaluați timp de doi ani (2012, 2013) în șase localități distincte din România, după cum urmează: 2 câmpuri din județul Brăila – Valea Cânepii și câmpurile Stațiunii de Cercetare Agricolă (SCA) Brăila; 2 din județul Ialomița – Iazu și Țândărei; 2 din județul Constanța – Cuza Vodă și Peștera. Ținând cont de faptul că gradul de atac cu lupoaiie în anul 2012 a fost mai mare comparativ cu 2013, sunt prezentate, în special, datele din 2012 care reflectă mai evident comportamentul acestor hibrizi în prezența infestării și

impactul infecției asupra productivității. Hibrizii testați au prezentat diferențe în ceea ce privește producția realizată, în cele 6 localități.

Astfel, în anul 2012, în localitatea Peștera, Constanța s-a înregistrat o producție maximă de semințe, pentru toți hibrizii testați în prezența și lipsa infecției cu lupoaie. Analizând valoarea medie a producției de semințe a hibrizilor de floarea-soarelui, valoare medie cea mai mare se atestă la hibridul LG 5661 (3702 kg/ha), cea mai mică - la hibridul Doina (2024 kg/ha). Cel mai mic coeficient de variație a fost înregistrat în cazul hibridului Codru (10,0%), iar pentru hibridul LG 5661, ce servește ca martor și se caracterizează prin rezistență în toate localitățile analizate, valorile producției de semințe sunt foarte apropiate, variind doar cu 2,4% (Tabelul 4.1.). Tendința dată se urmărește inclusiv în analizele din anul 2013.

Tabelul 4.1. Producția de semințe a hibrizilor de floarea-soarelui, testați în diferite localități, în anul 2012 (kg/ha)

Hibridul	Localități						Media (kg/ha)	Coeficient de variație (%)
	Valea Cânepii, Brăila	SCA, Braila	Țândărei, Ialomița	Iazul, Ialomița	Cuza Vodă, Constanța	Peștera, Constanța		
HS 4723	995	2640	2774	3496	1124	3585	2436	46,4
Codru	2780	3360	3426	3690	3540	3704	3417	10,0
Doina	1074	2150	2378	2420	784	3340	2024	46,7
Favorit	1987	3640	2340	3790	2035	3704	2916	30,2
LG 5661 (martor)	3654	3780	3620	3770	3595	3795	3702	2,4

Ținând cont de faptul că hibridul Favorit este un hibrid de floarea-soarelui foarte cunoscut, rezistent la șase rase ale parazitului lupoaia (A-F), prezente practic în toate zonele infestate cu lupoaie din Europa, productivitatea semințelor la acesta a fost comparată atât cu cea a unor hibridi sensibili la toate rasele parazitului, cât și hibridi mai rezistenți, inclusiv la rasele noi (G, H). Analiza comparativă a hibridului Favorit și hibridului HS 4723, sensibil la atacul lupoaiei, în câmpurile din Valea Cânepii, Brăila, Cuza Vodă, Constanța și Mircea Vodă, Brăila, a relevat că, în localitățile caracterizate prin grad de infestare scăzut (ca exemplu Iazu și Peștera), productivitatea celor doi hibridi a fost practic similară (Figura 4.6), prezentând valori înalte, în ambii ani evaluați, pe când în zonele remarcate printr-un grad înalt de atac, diferențele dintre productivitatea hibrizilor sunt esențiale (cca 1,5 și 1,8 ori în câmpul din Cuza-Vodă, respectiv, Valea Cânepei). Studiul productivității hibridului Favorit comparativ cu hibridul Performer, total sensibil la lupoaie a pus în evidență valori foarte scăzute, la ambii hibridi, în zonele puternic infestate (Valea Cânepii, Cuza Vodă și Țândărei) și valori mai înalte ale producției de semințe la Favorit, în localitățile Iazu și Brăila, caracterizate prin prezența, în special, a raselor mai puțin virulente de *Orobanche* și lipsa raselor noi. Cele mai mici producții au fost constatate în localitatea Crucea-Constanța.

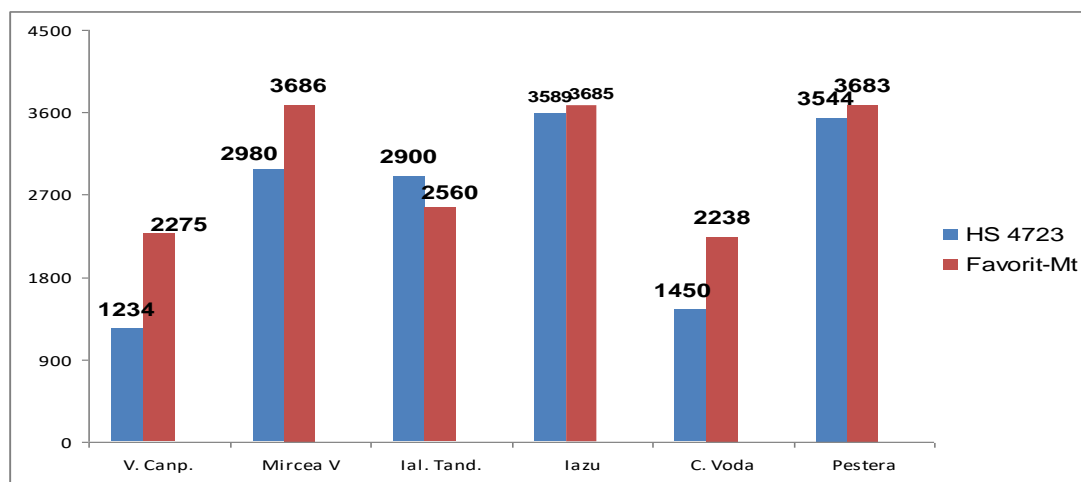


Fig. 4.6. Producția de semințe la hibridul de floarea soarelui HS 4723 comparativ cu hibridul Favorit, în anul 2013.

Producția de semințe realizată de hibridul Favorit, în anul 2012, comparativ cu hibridul PR1 rezistent la rase foarte agresive de lupoaie (G, H), a fost foarte scăzută, cu excepția localității Iazu. Diferența clară între cei doi hibrizi s-a marcat în localitatea Crucea, Tulcea, Cuza Vodă și Grădina.

În anul 2013, caracterizat printr-un nivel mai slab de atac cu lupoaie, hibridul Favorit a manifestat cea mai mică producție de semințe în localitățile Crucea și Cuza Vodă, iar pe câmpurile din localitatea Iazu a realizat o producție egală cu cea a hibridului PR 1.

Generalizând rezultatele obținute putem menționa că producția de semințe realizată de hibridii de floarea-soarelui, în condiții de infestare cu parazitul lupoaia, este cu atât mai mică, cu cât gradul de infestare este mai mare. Pentru aceiași hibrizi de floarea-soarelui, există diferențe de producție, chiar în condițiile unor valori apropiate ale gradului de atac al parazitului lupoaia, în funcție de localitate și anul de experimentare [12].

4.5. Conținutul de ulei în semințe

Conținutul de ulei din semințele de floarea-soarelui este determinat, în primul rând, de procentul de miez al semințelor. În cadrul numeroaselor cercetări efectuate, în special de cercetătorii de la Fundulea [25], s-a stabilit că parametrul masă hectolitrică corelează cel mai mult cu conținutul de ulei la genotipurile de floarea-soarelui. Se cunoaște că parazitul *O. cumana* perturbă activitatea fiziologică normală a plantei gazdă, afectând procesul de creștere și dezvoltare a acesteia, cu efecte exprimate în reducerea taliei plantei, diametrului calatidiului și masei semințelor produse și respectiv a conținutului de ulei, care sunt mult mai pronunțate în cazul unui atac puternic [1, 23].

Ținând cont de faptul că o influență similară asupra elementelor de productivitate a fost constatată și în cazul investigațiilor prezentate în lucrare, obiectivul cercetărilor ulterioare a constat în evaluarea efectului parazitului lupoaia asupra cantității și calității de ulei. În studiu au fost incluși hibrizi experimentali și hibrizi comerciali de floarea-soarelui cu diferite grade de rezistență la lupoaie: LG 5661, LG 3, Favorit și HS 3655 – cu grad ridicat de rezistență; Sandrina, HS 5034, HS 3045 – cu grad mediu de rezistență la lupoaie și hibridul Performer – susceptibil. Cercetările au fost realizate în următoarele localități: 2 câmpuri din județul Brăila –

Valea Cânepii și câmpurile Stațiunii de Cercetare Agricolă Brăila; 2 din județul Ialomița – Iazu și Țândărei; 2 din județul Constanța – Cuza Vodă și Peștera.

Se constată că în localitățile cu grad mic de infestare, hibridii prezintă un conținut ridicat de ulei în semințe. În localitățile, unde suprafețele se disting printr-un grad ridicat de infestare, s-a constatat scăderea conținutului de ulei, în special la hibridul Performer care este cel mai sensibil la lupoaie. Astfel, diferența în conținutul de ulei la hibridul Performer cultivat în localitatea Peștera, unde a fost slab infectat, și localitatea Cuza Vodă și Valea Cânepii cu un grad puternic de atac, este de cca 5-6%. Cel mai ridicat conținut de ulei l-a avut hibridul LG 5661, care prezintă un nivel înalt de rezistență în toate localitățile (Figura 4.7).

Analiza conținutului de ulei a trei hibridi cu grad mediu de rezistență la *O. cumana* pun în evidență scăderea conținutului de ulei la cultivarea în localități cu un nivel ridicat de infestare, observată, în special, în cazul celui mai sensibil hibrid – HS 4723, diferențele fiind de cca 7% (Figura 4.8). Valorile maxime ale producției se remarcă la hibridul HS 5034. Rezultate similare s-au obținut și în anul 2013. S-a constatat că cele mai mici valori ale conținutului de ulei s-au stabilit în localitățile Valea Cânepii și Cuza Vodă, unde s-a stabilit un nivel maxim de infecție, pe când valorile superioare ale conținutului de ulei sunt marcate în cazul hibridilor cultivați pe câmpurile din localitatea Peștera, cu cea mai scăzută incidență a parazitului lupoaia.

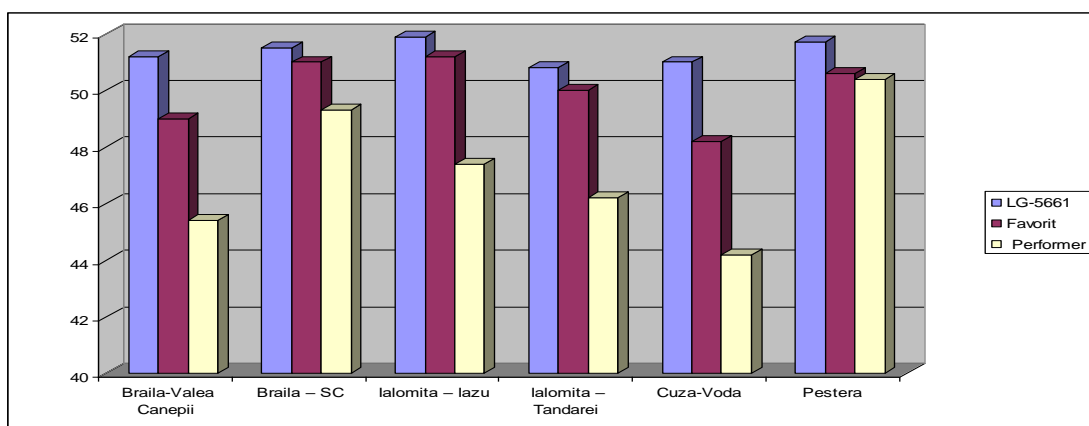


Fig. 4.7. Conținutul de ulei (%) pentru hibridii de floarea-soarelui Favorit, Performer și LG 5661, cultivați în zone cu diferit grad de infecție cu lupoaie, anul 2012.

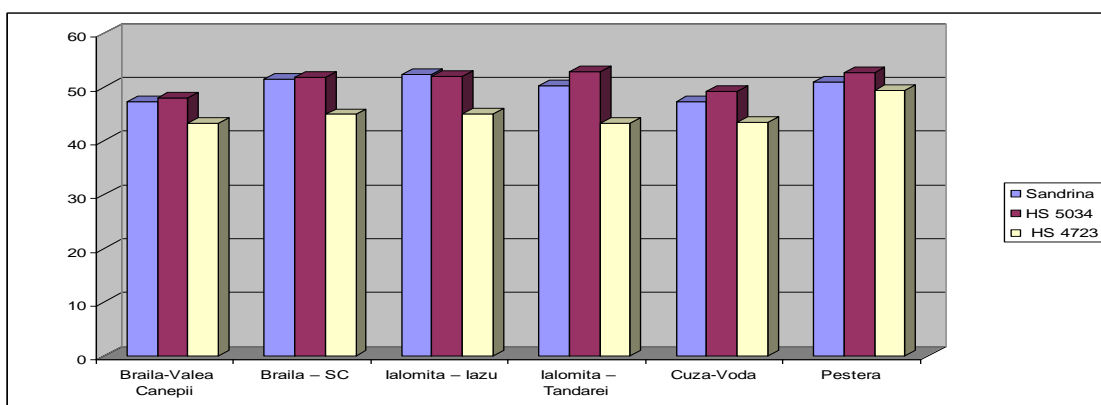


Fig. 4.8. Conținutul de ulei pentru hibridii de floarea-soarelui Sandrina, HS 5034 și HS 4723 cultivați în zone cu diferit grad de infecție cu lupoaie, anul 2012.

Pierderile în cantitatea de ulei determinate în studiile prezentate sunt însă ne semnificative (până la 10%) comparativ cu datele stabilite de alți cercetători. De exemplu o echipă de cercetători români au stabilit o micșorare a cantității de ulei cu 18,75% - 25,4%, în funcție de genotip, pe fondal de infecție, remarcându-se inclusiv și unele modificări cu referire la compoziția uleiului. Astfel, lupoaia nu influențează conținutul de acid palmitic și stearic, pe când cantitatea de acid oleic și linolenic este majorată semnificativ în plantele infectate [20].

În concluzie, menționăm că conținutul de ulei în semințele de floarea-soarelui este influențat de atacul de lupoaie, dar și de condițiile climaterice. Influența condițiilor de experimentare (localitatea) este mai mare asupra conținutului de ulei în semințe, în cazul unor hibrizi de floarea-soarelui sensibili la atacul parazitului *O. cumana*, comparativ cu influența gradului de atac al acestuia.

4.6. Conținutul de acid oleic

Calitatea uleiului la floarea-soarelui este determinată de proporția acizilor grași saturați și nesaturați. Uleiul de floarea-soarelui este un ulei de primă calitate, datorită conținutului ridicat de acizi grași polinesaturați, care poate ajunge până la 90%. Din grupa acizilor grași nesaturați, acidul linoleic este predominant în uleiul de floarea-soarelui. Relația dintre acidul linoleic și acidul oleic este influențată de condițiile de mediu din perioada de maturare a semințelor. Ținând cont de faptul că parazitul *Orobanche cumana* are o incidență majoră în procesul de dezvoltare a plantelor de floarea-soarelui, mai ales în perioada de maturare a semințelor, s-a urmărit, de asemenea, influența acestuia asupra conținutului de acid oleic în genotipurile de floarea-soarelui cultivate în zone infestate. Astfel, s-a evaluat comportamentul unor hibrizi experimentali și comerciali de floarea-soarelui, dintre care, trei cu conținut ridicat de acid oleic și trei cu conținut scăzut de acid oleic. Dintre cei șase hibrizi incluși în studiu, trei (Sandrina, HS 5034, HS 3045) au un grad mediu de rezistență la lupoaie, iar trei (LG-3, Favorit și HS 3655) au grad ridicat de rezistență. Acești hibrizi au fost testați în șase localități, inclusiv trei situate în zone infestate cu parazitul lupoaia. Se constată că există diferențe în conținutul în acid oleic al hibrizilor, în funcție de localitate, dar și în funcție de genotip.

În zonele caracterizate prin atacul moderat al parazitului conținutul de acid oleic practic nu este afectat, pe când în zonele cu atac foarte intens, cum ar fi localitatea Cuza Vodă, conținutul de acid oleic scade mai mult de un procent, comparativ cu plantele cultivate în localitatea Peștera (zonă neinfestată), situată în același județ, care însă prezintă câmpuri puțin infectate. Cele mai mici valori înregistrate printre hibrizii cu conținut ridicat de acid oleic, în anul 2012, le-a prezentat hibridul HS-3045, la care s-a evidențiat cel mai bine și diferența între localitățile cu infestare puternică și cele fără infestare, acest hibrid fiind mai sensibil la lupoaie, comparativ cu hibridul HS 5034. Hibridul Sandrina, este un hibrid cu conținut scăzut de acid oleic, dar prezintă rezistență medie la atacul de lupoaie și, respectiv, nu se constată o scădere mare a conținutului acestuia (Figura 4.9). Între hibrizii Favorit și LG 5661, ambii cu conținut scăzut de acid oleic, se observă o scădere a acestui indice, în cazul hibridului Favorit, în localitățile cu infestare mai puternică, (Cuza Vodă, Constanța și Țândărei, Ialomița).

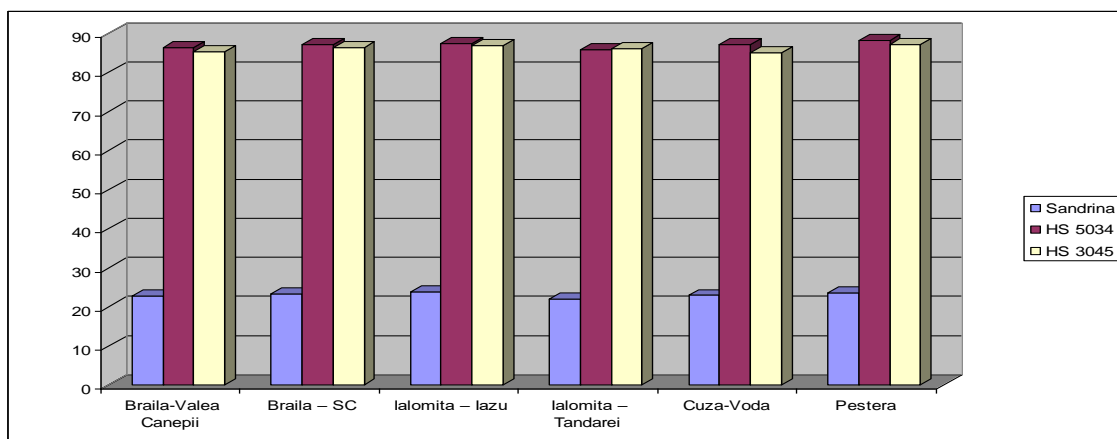


Fig. 4.9. Conținutul acidului oleic (%) la hibridii de floarea-soarelui Sandrina, HS 5034, HS 3045, cu grad mediu de rezistență la lupoaiie, anul 2012.

Rezultatele din anul 2013, confirmă un efect similar a parazitului lupoaiie asupra parametrului analizat. S-a observat și o influență destul de evidentă a condițiilor climatice din anul respectiv.

CONCLUZII GENERALE ȘI RECOMANDĂRI

Concluzii generale

1. S-a constatat că parazitul lupoaiie a evoluat rapid în ultimii ani, dezvoltând noi populații cu virulență sporită ce s-au extins în arealurile de cultură a floarea-soarelui din Republica Moldova și România [19]. S-a relevat că populațiile de lupoaiie ce aparțin aceleiași rase fiziologice diferă după intensitatea atacului în limita diferitor zone ale țării [9]. Atacul cu lupoaiie se manifestă diferit și în cazul liniilor de floarea-soarelui androsterile, linia menținătoare (B) remarcându-se printr-un grad de atac mai înalt, comparativ cu forma sterilă (A) [11, 24].
2. S-a stabilit că rezistența genotipurilor de floarea-soarelui rezistente la noile populații ale parazitului lupoaiie este controlată de două gene dominante, determinismul genetic fiind diferit de cel al genotipurilor rezistente la rasa F sau $\leq F$, determinat de o singură genă dominantă [11].
3. Evaluarea a cca 200 de genotipuri de floarea-soarelui în condiții de câmp și laborator a permis clasificarea germoplasmei în trei grupuri distincte după gradul de rezistență (rezistente, tolerante și sensibile) și modul de moștenire a noilor gene *Or*. *Screening*-ul molecular în baza markerului SCAR a relevat prezența genei *Or5*, ce conferă rezistență la rasa E, la 40 din 42 genotipuri cercetate [6, 7].
4. Profilele RAPD au demonstrat un polimorfism genetic specific între genotipurile de floarea-soarelui sensibile și rezistente [6, 7].
5. Prin transferul genelor de rezistență la lupoaiie în linii valoroase de floarea-soarelui au fost obținute linii total rezistente la atacul parazitului, atât linii androsterile citoplasmatic, cât și linii restauratoare de fertilitate a polenului. Testarea unor hibridi experimentali de floarea-soarelui obținuți la AMG-Agroselect și INCDA Fundulea, a pus în evidență combinații ce

prezintă un grad ridicat de rezistență la atacul de lupoaie, unele fiind rezistente inclusiv la noile populații, foarte virulente [19, 21, 22].

6. S-a constatat că holoparazitul *Orobanche cumana* afectează semnificativ indicii de productivitate (masa hectolitră și masa a 1000 boabe, diametrul calatidiului și procentul de semințe pline per calatidiu) a culturii de floarea-soarelui. Gradul de infestare cu lupoaie corelează, în special, cu diametrul calatidiului și numărul de semințe pline per calatidiu și, într-o măsură mai mică cu talia plantei. Astfel, în condițiile unui atac puternic al parazitului, diferențele față de varianta cultivată pe câmpuri lipsite de infecție depășesc în majoritatea cazurilor 20%, cu valori maxime (30-40%) la hibridii susceptibili Doina și Performer [9].
7. Producția de semințe realizată de hibridii de floarea-soarelui, în condiții de infestare cu parazitul lupoaia este invers proporțională cu gradul de infestare, însă, în condițiile unor valori apropiate ale atacului cu *Orobanche cumana* productivitatea variază în funcție de localitate și anul de experimentare [12].
8. Conținutul de ulei în semințele de floarea-soarelui este influențat de gradul de atac cu lupoaie și de condițiile climatice. În cazul unor hibridi de floarea-soarelui sensibili la atacul parazitului influența condițiilor de experimentare (localitatea, condiții pedo-climaterice) asupra conținutului de ulei în semințe este mai mare, comparativ cu influența gradului de atac al lupoaiei. Conținutul în acid oleic la floarea-soarelui, practic nu este afectat de atacul parazitului *O. cumana*, variind, în special, în funcție de genotip și condițiile climatice [10].

Recomandări

1. Hibridul Codru creat și omologat în cadrul companiei AMG Agroselect cu contribuția autorului și caracterizat prin rezistență sporită la atacul parazitului se recomandă pentru cultivare în zonele puternic infectate cu *O. cumana*.
2. Marcherii RAPD testați în lucrare pot fi utilizați pentru *screening*-ul primar al germoplasmei ce posedă rezistență la lupoaie.
3. Se recomandă includerea genotipurilor care posedă marcheri linkați cu gena de rezistență *Or5* (excepție formele paterne MS – 1995C și MS – 2400C), în programe de ameliorare a floarii-soarelui pentru rezistență la lupoaie.
4. Se recomandă utilizarea metodei de diagnosticare precoce a atacului cu lupoaie și stabilire a virulenței în vederea trierii rapide a materialului de ameliorare privind rezistența la parazit.

BIBLIOGRAFIE

1. Alcántara E., Morales-García M., Díaz-Sánchez J., Effects of broomrape parasitism on sunflower plants: growth, development, and mineral nutrition. In: J of Plant Nutr, 2006, 29, p. 1199–1206.
2. Bardakci F. Random amplified polymorphic DNA (RAPD) markers. In: Turk J Biol, 2001, vol. 25, p. 185-196.
3. Dominguez J., Estimating effects on yield and other agronomic parameters in sunflower hybrids infested with the new races of sunflower broomrape. In: Proc. Symposium on Disease olerance in Sunflower, Beijing, China, Interational Sunflower Association, Paris: 1996, p.118 -123.
4. Duca M. Historical Aspects of Sunflower Researches in the Republic of Moldova. In: Helia, 2015, vol. 38 (62), p. 79-93.
5. Duca M., A. Glijin. The broomrape effect on some physical and mechanical properties of sunflower seeds. In: Analele Șt. ale Universității „Al. I. Cuza” Iași, Sec. II A: Biologie vegetală. 2013, vol. 59, nr. 2, p. 75-83.
6. Duca M., Glijin A., Acciu A., **Gîscă I.** Utilizarea markerilor RAPD în screening-ul molecular al rezistenței florii-soarelui la lupoaie. Simpozionul Științific Internațional „Agricultura modernă – realizări și perspective”, dedicat aniversării a 80 de ani de la fondarea UAS. În: Lucrări științifice: Agronomie și ecologie, Chișinău, 2013, vol. 39, p. 168-172.
7. Duca M., Glijin A., Acciu A., Gorceag M., **Gîscă I.** Identification of RAPD markers associated with sunflower resistance to *O. cumana* Wallr. In: Lucrările Simpozionului Științific Internațional Conservarea Diversității Plantelor, ediția a-III-a, 2014, p. 87-88.
8. Duca M., Pacureanu-Joita M., Glijin, A. Effect of *O. cumana* Wallr. on fat content in different sunflower (*Helianthus annuus* L.) genotypes. In: Proc. 2nd Int. Symp. Conserv. of Plant Diversity, Chisinau, 2012, p. 96-102.
9. **Gîscă I.**, Joita-Pacureanu M., Clapco S., Duca M., Influence of broomrape on some productivity indices of sunflower, In: Lucrări Științifice. seria Agronomie, 2017, vol. 60, nr. 2, 2017, p. 97-103.
10. **Gîscă I.** Influența lupoaiei asupra cantității și calității uleiului de floarea-soarelui. În: Revista Știința Agricolă, 2017, nr. 2, p. 16-22.
11. **Gîscă I.** Studii privind ereditatea rezistenței florii-soarelui la lupoaie. În: Buletinul Academiei de Științe a Moldovei. Științele Vieții, 2017, nr. 3 (333), p. 121-126.
12. **Gîscă I.**, Joiță-Păcureanu M., Duca M., Port A., Abdușa D. Producția de semințe la floarea-soarelui în zone cu diverse grade de infectare cu lupoaie. În: Materialele Conferinței științifice internaționale „Genetica, fiziologia și ameliorarea plantelor”, 2017, Chișinău, p. 40-45.
13. Glijin A., Acciu A., **Gîscă I.** Molecular analysis of *O. cumana* Wallr. from different geographical regions. În: Simpozionul Științific Internațional Conservarea Diversității Plantelor, ediția a-III-a, 2014, p. 16-17.
14. Hladni N., Jocić S., Miklič V., Mijić A., Saftić-Panković D., Škorić D., Effect of morphological and physiological traits on seed yield and oil content in sunflower. In: Helia, 2010, vol. 33, nr. 53, p. 101-116.
15. Louarn J., Boniface M.-C., Pouilly N., Velasco L., Pérez-vich B., Vincourt P., Muños S. Sunflower Resistance to Broomrape (*O. cumana*) Is Controlled by Specific QTLs for Different Parasitism Stages. In: Front Plant Science, 2016, p. 590-597.

16. Lu Y.H., Melero-Vara J.M., Garcia-Tejada J.A., et al. Development of SCAR markers linked to the gene *Or5* conferring resistance to broomrape (*O. cumana* Wallr.) in sunflower. In: Theor. Appl. Genet. 2000, vol. 100, p. 625-632.
17. Molinero-Ruiz L., Delavault Ph., Pérez-Vich B., Pacureanu-Joita M., Bulos M., Altieri E., Domínguez J. History of the race structure of *O. cumana* and the breeding of sunflower for resistance to this parasitic weed: A review. In: Spanish Journal of Agricultural Research, 2015, vol. 13, nr 4, p. 1-19.
18. 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. In: Abstract book of the Xth International Congress of Geneticists and Breeders, Chisinau, Moldova, 2015, p. 130.
19. Pricop S.M., Cristea S., The attack of the *O. cumana* Wallr. and it's influence on a differential sunflower host assortment under Dobrogea conditions, In: Research Journal of Agricultural Science, 2012, vol. 44. nr 2, p.78-84.
20. Oil-crops Disponibil: <http://agritrade.cta.int/Agriculture/Commodities/Oil-crops/Executive-Brief-Update-2013-Oil-crops-sector> (vizitat 20.05.2017).
21. Sestacova T., **Gisca I.**, Cucereavii A., Port A., Duca M. Expression of defence-related genes in sunflower infected with broomrape. In: Biotechnology and Biotechnology Equipment. 2016, vol. 30, nr. 4, p. 685-691.
22. Sestacova T., **Gisca I.**, Cucereavii A., Tabara O., Port A., Duca M. Expression of some antioxidant genes in sunflower infected with broomrape. In: Analele Științifice ale Universității „Alexandru Ioan Cuza”, Secțiunea Genetică și Biologie Moleculară, 2015, TOM XVI, Fascicula 3, p. 97-106.
23. Shindrova P., Ivanov P., Nikolova V., Effect of broomrape (*O. cumana*. Wallr.) intensity of attack on some morphological and biochemical indices of sunflower (*Heliantluts annuus* L.). In: Helia. 1998, vol. 29, p. 55-62.
24. Șestacova T., **Giscă I.**, Cucereavii A., Tabără O. Evaluarea gradului de sterilitate la floarea-soarelui. În: Revista Știința Agricolă, 2015, nr.1, p. 10-14.
25. Vrânceanu A.V. Floarea soarelui hibridă. Ed. Ceres, București. 2000. 520 p.
26. Доспехов Б.А. Методика полевого опыта. Москва: Агропромиздат, 1985. 351 с.

LISTA LUCRĂRILOR ȘTIINȚIFICE PUBLICATE LA TEMA TEZEI

Articole în reviste internaționale cotate ISI și SCOPUS

1. Șestacova T., **Giscă I.**, Cucereavii A., Port A., Duca M. Expression of defence-related genes in sunflower infected with broomrape. In: *Biotechnology and Biotechnology Equipment*. 2016, vol. 30, no. 4, p. 685-691.

Articole în reviste din străinătate recunoscute

1. Șestacova T., **Giscă I.**, Cucereavii A., Tabără O., Port A., Duca M. Expression of some antioxidant genes in sunflower infected with broomrape. In: *Analele Științifice ale Universității „Alexandru Ioan Cuza”, Secțiunea Genetică și Biologie Moleculară*, 2015, vol. 16, fascic. 3, p. 97-106.
2. **Gisca I.**, Joita-Pacureanu M., Clapco S., Duca M. Influence of broomrape on some productivity indices of sunflower. In: *Lucrări șt. Univ. de Științe Agricole și Medicină Veterinară “Ion Ionescu de la Brad”*. Ser. Agronomie. Iași, 2017, vol. 60, p. 97.

Articole în reviste din Registrul Național al revistelor de profil,

Categoria B

1. **Giscă I.** Influența lupoaiei asupra cantității și calității uleiului de floarea-soarelui. În: *Știința Agricolă*, 2017, nr. 2, p. 16-22.
2. **Giscă I.** Studii privind ereditatea rezistenței florii-soarelui la lupoaie. In: *Buletinul Academiei de Științe a Moldovei. Științele vieții*. 2017, nr. 3 (333), p. 121-125.
3. Duca M., Șestacova T., Port A., Cucereavii A., **Giscă I.**, Tabără O. Assessment of sunflower resistance potential to downy mildew. In: *Journal of Botany*, 2014, vol. 6, nr. 2(9), p. 10-16.
4. Duca M., Șestacova T., Port A., Cucereavii A., **Giscă I.**, Tabără O. Screeningul germoplasmei de floarea-soarelui la rugină. În: *Știința Agricolă*, 2014, nr. 2, p. 15-19.
5. Șestacova T., **Giscă I.**, Cucereavii A., Tabără O. Evaluarea gradului de sterilitate la floarea-soarelui. În: *Știința Agricolă*, 2015, nr. 1, p. 10-14.

Articole în culegeri științifice

3.2. culegeri de lucrări ale conferințelor internaționale

1. **Giscă I.**, Joiță-Păcureanu M., Duca M., Port A., Abdușa D. Producția de semințe la floarea-soarelui în zone cu diverse grade de infectare cu lupoaie. In: *Genetica, fiziologia și ameliorarea plantelor: conf. șt. intern.*, 10 oct. 2017. Ed. 6-a. Chișinău, 2017, p. 40-45.
2. Duca M., Glijin A., Acciu A., **Giscă I.** Utilizarea markerilor RAPD în screening ul molecular al rezistenței florii-soarelui la lupoaie, Simpozionul Științific Internațional „Agricultura modernă –realizări și perspective”, dedicat aniversării a 80 de ani de la fondarea UASM, *Lucrări științifice : Agronomie și ecologie*, Chișinău, 2013, 39, p. 168-172.

Materiale/ teze la conferințe internaționale (peste hotare)

1. Cucereavii A., **Gisca I.**, Duca M. Ontogenesis and phenology of some sunflower genotypes from AMG-Agroselect collection. In: *International Plant Breeding Conference*, Kyrenia, Turcia, October 15-20, 2017. Kyrenia, 2017, p. 88.
2. **Gisca I.**, Acciu A., Glijin A., Duca M. Highly virulent races of sunflower broomrape in the Republic of Moldova. In: *Current Opinion in Biotechnology*, 2013, vol. 24(1), Suppliment, Proceedings of European Biotechnology Congress, p. 132. ISSN 0958-1669. (IF: 8,04)
3. Șestacova T., **Gisca I.**, Cucereavii A., Port A., Duca M. NPR1 expression in sunflower infected with downy mildew. In: *Current Opinion in Biotechnology*, 2013, vol. 24(1),

Suppliment, Proceedings of European Biotechnology Congress, p. 131-132. ISSN 0958-1669. (IF:8,04).

4. Sestacova T., **Gisca I.**, Cucereavii A., Port A., Duca M. Defence-related genes in advanced stages of sunflower-broomrape interaction. In: II International Plant Breeding Congress & Eucarpia-Oil and Protein Crops Section Conference, Antalya, Turkey, November 01-05, 2015. Antalya, 2015, p. 201.
5. **Gîscă I.**, Păcureanu J.-M., Clapco S., Duca M. Influența lupoaiei asupra unor elemente de productivitate la floarea-soarelui. In: Simpozionul de Agricultură și inginerie alimentară, 19-20 oct. 2017, Iași, 2017, p. 95.

Materiale/ teze la conferințe internaționale în republică

1. Pacureanu J.-M., Anton G.F., Rasnoveanu L., Cucereavii A., **Gisca I.** The behavior of a sunflower hybrids set in different soil and climatic conditions, in Romania. In: The Xth International Congress of Geneticists and Breeders, 28 June-1 July 2015. Chisinau, 2015, p. 130.
2. Duca M., Port A., **Gasca I.**, Pacureanu-Joita M., Șestacova T. Differential expression of Ros-scavenging genes in sunflower infected with different broomrape populations. In: The Xth International Congress of Geneticists and Breeders, 28 June-1 July 2015. Chisinau, 2015, p. 130.

FMateriale/ teze la conferințe cu participare internațională

1. **Gîscă I.**; Cucereavii A. *Orobanche cumana* Wallr.–fanerogamă devastatoare a culturilor de floarea-soarelui. In: Tendințe contemporane ale dezvoltării științei: viziuni ale tinerilor cercetători: conf. șt. intern. a doctoranzilor. Chișinău, 2014, p. 57.
2. Cucereavii A., **Gîscă I.** Aspecte privind ameliorarea florii-soarelui la Centrul Științific „AMG – Agroselect Comerț” SRL. In: Tendințe contemporane ale dezvoltării științei: viziuni ale tinerilor cercetători: conf. șt. intern. a doctoranzilor. Chișinău, 2014, p. 58.

ADNOTARE

Gîscă Ion, ASPECTE PRIVIND PARAZITUL FLORII-SOARELUI *OROBANCHE CUMANA* WALLR. CU REFERIRE SPECIALĂ LA REZISTENȚA GENETICĂ, teză de doctor în științe agricole, Chișinău, 2018. Teza include introducere, patru capitole, concluzii generale și recomandări, bibliografie din 181 titluri, 128 pagini text, 55 figuri, 26 tabele și anexă. Rezultatele obținute au fost publicate în 19 lucrări.

Cuvinte cheie: floarea-soarelui, lupoaie - *Orobanche cumana* Wallr., variabilitate, rezistență, determinism genetic, agresivitate, virulență, rase fiziologice.

Domeniul de studiu: ameliorarea plantelor și producerea semințelor.

Scopul lucrării a prezentat evaluarea virulenței și impactului diferitor populații ale parazitului lupoaia asupra unor indici cantitativi și calitativi ai productivității și *screening*-ul germoplasmei de floarea-soarelui în vederea obținerii hibrizilor rezistenți.

Obiectivele lucrării: analiza virulenței și evoluției diferitor populații ale parazitului lupoaia; studiul determinismului genetic al rezistenței florii-soarelui la lupoaie; evaluarea materialului inițial ameliorativ și transferul genelor de rezistență la lupoaie prin metode de ameliorare convențională; evaluarea materialului inițial ameliorativ prin metode de analiză moleculară (markeri SCAR, RAPD); evaluarea unor hibrizi experimentali și comerciali de floarea-soarelui privind rezistența la lupoaie; studiul influenței atacului cu lupoaie asupra indicilor de productivitate la floarea-soarelui.

Noutatea și originalitatea științifică. Lucrarea prezintă o abordare complexă focusată pe analiza comprehensivă a evoluției raselor de lupoaie și virulenței acestora, în paralel cu evaluarea germoplasmei privind rezistența la parazit, studiul determinismului genetic al rezistenței și ample evaluări comparative a hibrizilor experimentali în câmp, în aspectul evidențierii impactului lupoaiei asupra recoltei. Pentru prima dată a fost realizat *screening*-ul genetic, molecular și fiziologic al genotipurilor de floarea-soarelui utilizate în ameliorare și au fost identificate o serie de linii și hibrizi de perspectivă rezistenți la lupoaie în condiții naturale și artificiale de infectare.

Problema științifică soluționată constă în *fundamentarea* metodologiei de ameliorare a rezistenței la lupoaie cu utilizarea complexă a metodelor moleculare, de laborator și experimentelor în câmp, *ceea ce a permis* evidențierea genei *Or5* în majoritatea liniilor, stabilirea asocierii primerilor RAPD cu rezistența, toleranța și sensibilitatea la lupoaie, identificarea unor surse noi de rezistență și demonstrarea posibilității de transfer a genelor *Or* prin *backcross*-uri la liniile de perspectivă, *fapt care asigură* eficientizarea procesului de ameliorare și crearea hibrizilor de floarea-soarelui competitivi, rezistenți la lupoaie.

Semnificația teoretică. Studiul realizat reprezintă o bază metodologică fundamentală de ameliorare a florii-soarelui la lupoaie. Analiza determinismului genetic al rezistenței la lupoaie și identificarea mecanismului de moștenire a genelor dominante *Or*, demonstrează că rezistența la rasele de lupoaie mai virulente ca F este controlată de mai multe gene și nu doar de o singură genă dominantă precum în cazul raselor mai puțin agresive (de la rasa A până la F). Aceste rezultate ale determinismului genetic, depistat la două linii rezistente la rasele noi cu virulență sporită ale parazitului prezintă interes în crearea hibrizilor performanți.

Valoarea aplicativă a lucrării. Prin utilizarea unor surse de rezistență la atacul cu *O. cumana* Wallr. au fost transferate gene de rezistență în linii-elită și linii care posedă caracteristici agronomice superioare. Au fost creați și transmiși la Comisia de Stat hibrizi rezistenți la lupoaie, dintre care 7 au fost omologați. A fost elaborată o metodă de diagnosticare precoce a atacului cu lupoaie care permite analiza rapidă a unui număr mare de genotipuri într-un timp scurt. Markerii RAPD testați în lucrare se recomandă pentru *screening*-ul primar al germoplasmei ce posedă rezistență la lupoaie.

Implementarea rezultatelor științifice. Rezultatele cercetărilor științifice au fost valorificate în elaborarea a peste 25 de hibrizi de floarea-soarelui, rezistenți la lupoaie care au demonstrat o productivitate înaltă pe terenurile cu infecție sporită din Republica Moldova și România. Șapte dintre acestea sunt omologați și se comercializează pe piața de semințe autohtonă și internațională. Anual "AMG-Agroselect Comert" SRL produce 800,0 t de semințe certificate și 30,0 t de semințe de bază.

АННОТАЦИЯ

Гыскэ Иван, НЕКОТОРЫЕ АСПЕКТЫ ГЕНЕТИЧЕСКОЙ УСТОЙЧИВОСТИ ПОДСОЛНЕЧНИКА К ПАЗАРИТУ *OROBANCHE CUMANA WALLR.*, диссертация на соискания учёной степени доктора сельскохозяйственных наук, Кишинэу, 2018. Диссертация состоит из введения, 4 глав, заключения и рекомендаций, библиографии из 181 источников, 128 страниц текста, 55 графиков, 26 таблиц и приложения. Научные результаты опубликованы в 19 публикациях.

Ключевые слова: подсолнечник, заразица - *Orobanche cumana* Wallr., изменчивость, устойчивость, генетический детерминизм, агрессивность, вирулентность, расы.

Область исследований: 411.04 - селекция растений и семеноводство.

Цель работы: исследование вирулентности и воздействия различных популяций паразита заразицы на количественные и качественные показатели продуктивности и скрининг гермоплазмы подсолнечника для получения устойчивых гибридов.

Задачи исследования: анализ вирулентности и эволюции различных популяций паразита; изучение генетического детерминизма устойчивости подсолнечника; оценка исходного селекционного материала и перенос генов устойчивости; оценка исходного селекционного материала методами молекулярного анализа (маркеры SCAR, RAPD); оценка экспериментальных и коммерческих гибридов подсолнечника на устойчивость к заразице; изучение влияния заразицы на индекс продуктивности подсолнечника.

Научная новизна и оригинальность: В работе представлен комплексный подход, сфокусированный на всестороннем анализе эволюции рас заразицы и их вирулентности, параллельно с оценкой устойчивости гермоплазмы к паразиту, изучением генетического детерминизма устойчивости и обширной сравнительной оценки экспериментальных гибридов в полевых условиях в аспекте воздействия заразицы на урожайность семян. Впервые был проведен генетический, молекулярный и физиологический скрининг генотипов подсолнечника, используемых для селекции, и была идентифицирована серия перспективных линий и гибридов, устойчивых к заразице в условиях естественной и искусственной инфекции.

Решенная научная проблема состоит в научном обосновании методологии селекции устойчивости к заразице с комплексным использованием молекулярных, лабораторных и полевых экспериментов, что позволило выявить ген *Or5* в большинстве линий, идентифицировать RAPD праймеры ассоциированные с устойчивостью, толерантностью и чувствительностью к паразиту, идентифицировать новые источники устойчивости подсолнечника и продемонстрировать возможность переноса генов *Or* в перспективные линии путем обратного скрещивания, факт позволяющий повысить эффективность селекции и создания конкурентоспособных гибридов, устойчивых к заразице.

Теоретическая значимость: Проведённые исследования являются фундаментальной методологической основой селекции подсолнечника на устойчивость к заразице. Анализ генетического детерминизма устойчивости к заразице и идентификация механизма наследования доминантных генов *Or* доказывает что устойчивость к заразице для рас более вирулентных чем раса F находится под контролем множественных генов. Эти результаты генетического детерминизма, обнаруженного у двух линиях, устойчивых к новым расам паразита с повышенной вирулентностью, представляют интерес для создания устойчивых гибридов.

Практическое значение: Используя устойчивые к *O. cumana* Wallr. источники, гены устойчивости были перенесены в элитные линии и линии, которые обладают превосходными агрономическими характеристиками. Был разработан метод ранней диагностики атаки заразицы, который позволяет быстро анализировать большое количество генотипов за короткое время. Используемые RAPD-маркеры, могут быть рекомендованы для первичного скрининга гермоплазма, устойчивой к заразице.

Внедрение научных результатов: Результаты исследований были использованы при разработке более 25 гибридов подсолнечника, устойчивых к заразице, которые показали высокую продуктивность на полях с повышенной инфекцией в Республике Молдова и Румынии. Семь из них сертифицированы и продаются на внутреннем и международном рынке семян. Ежегодно «AMG-Agroselect Comert» SRL производит 800,0 т сертифицированных семян и 30,0 т основных семян.

ABSTRACT

Gisca Ion, ASPECTS RELATED TO SUNFLOWER PARASITE *OROBANCHE CUMANA* WALLR WITH SPECIAL REFERENCE TO GENETIC RESISTANCE, PhD dissertation in Agricultural Sciences, Chisinau, 2018. The thesis includes introduction, 4 chapters, conclusions and recommendations, bibliography consisting of 181 sources, 128 pages of text, 55 figures, 26 tables and an annex. The results of the research are reflected in 19 publications.

Keywords: sunflower, *Orobanche cumana* Wallr, diversity, resistance, genetic determinism, aggressivity, virulence, broomrape, physiological races.

Field of study: plant breeding and seed production.

The purpose was to evaluate the virulence and impact of different populations of broomrape on the productivity indexes and the screening of sunflower germplasm to obtain resistant hybrids.

Objectives of the work: analysis of virulence and evolution of different populations of broomrape parasite; study of the genetic determinism of sunflower resistance to *O. cumana*.; evaluating of the initial ameliorative material and transferring of broomrape resistance genes using conventional amelioration methods; evaluation of the initial ameliorative material using molecular analysis methods (SCAR, RAPD markers); the evaluation of experimental and commercial sunflower hybrids to broomrape resistance; studying the influence of the broomrape attack on sunflower productivity indices.

Scientific novelty and originality. The paper presents a complex approach focused on the comprehensive analysis of the evolution of broomrape races and their virulence, in parallel with the germplasm evaluation related to parasite resistance, the study of genetic determinism of resistance and extensive comparative assessments of experimental hybrids in the field to reveal the impact of the broomrape on the qualitative and quantitative indices of productivity. For the first time, the genetic, molecular and physiological screening of sunflower genotypes used for breeding has been done and a series of perspective lines and hybrids resistant to broomrape under natural and artificial infection conditions were identified.

Important scientific problem solved consists in the *scientific validity* of methodology for breeding to broomrape resistance using the complex of molecular, laboratory and field experiments, *which allowed* the revealing of the *Or 5* gene in the most lines, the association of RAPD primers with resistance, tolerance and sensitivity to broomrape, identification of new sources of resistance and demonstration of the possibility for *Or's* genes transferring to perspective lines through backcross, *which ensures* the improvement of the breeding process and creation of competitive sunflower hybrids resistant to broomrape.

The theoretical significance. The study is a fundamental methodological basis of sunflower breeding for resistance to broomrape. Analysis of the genetic determinism of resistance to broomrape and identification of the mechanism of inheritance of dominant genes *Or*, demonstrates that resistance to the races of *O. cumana* more virulent than F is controlled by several genes and not just by a single dominant gene, as in the case of less virulent races (from A to F). These results of genetic determinism found up in two lines resistant to new races with increased virulence are of interest in the creation of resistant hybrids.

The applicative value of the work. Using the sources of resistance to *O. cumana* Wallr. the resistance genes were transferred to elite lines and lines with superior agronomical traits. They were created sunflower hybrids resistant to broomrape, 7 of them have been tested and admitted for production and marketing by the State Commission for Variety Testing. A method of early diagnosis of broomrape attack that allows rapid analysis of a large number of genotypes in a short time has been developed. RAPD markers tested in the paper may be recommended for primary *screening* of germplasm related to broomrape resistance.

Implementation of scientific results. The results of the scientific researches have been used in the elaboration of more than 25 sunflower hybrids, resistant to broomrape, which have shown a high productivity on the areas with increased infection in the Republic of Moldova and Romania. Seven of these are homologated and marketed on the domestic and international seed market. Annually, "AMG-Agroselect Comert" SRL produces 800.0 t of certified seeds and 30.0 t of basic seeds.

GÎSCĂ ION

**ASPECTE PRIVIND PARAZITUL FLORII-SOARELUI
OROBANCHE CUMANA WALLR. CU REFERIRE SPECIALĂ
LA REZISTENȚA GENETICĂ**

411.04. AMELIORAREA PLANTELOR ȘI PRODUCEREA SEMINȚELOR

Autoreferatul tezei de doctor în științe agricole

Aprobat spre tipar: 8 august 2018
Hîrtie ofset. Tipar ofset.
Coli de tipar: 2,0

Formatul hîrtiei 60x84 1/16
Tiraj 50 ex.
Comanda nr. xx

Tipografia "Artpoligraf" sau Tipografia "Bioitehdesign"