

**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 SEMINTELOR**

**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**

**GÎSCĂ Ion**

**CHIȘINĂU, 2018**

© Gîscă Ion, 2018

## CUPRINS

<b>ADNOTĂRI</b> (în română, rusă și engleză) .....	<b>4</b>
<b>LISTA ABREVIERILOR</b> .....	<b>7</b>
<b>INTRODUCERE</b> .....	<b>8</b>
<b>1. STADIUL ACTUAL AL CERCETĂRILOR PRIVIND PARAZITUL <i>Orobanche cumana</i> Wallr. ȘI RELAȚIA PARAZIT-PLANTĂ GAZDĂ (<i>Helianthus annuus</i> L.)</b> .....	<b>14</b>
1.1. Caracteristica generală a parazitului <i>Orobanche cumana</i> Wallr. ....	15
1.2. Răspândirea și impactul economic al lupoaiei .....	20
1.3. Rezistența florii-soarelui la <i>Orobanche cumana</i> Wallr. ....	23
1.4. Metode folosite pentru evaluarea rezistenței la atacul parazitului <i>O. cumana</i> .....	28
1.5. Concluzii la capitolul 1 .....	31
<b>2. MATERIALE ȘI METODE DE CERCETARE</b> .....	<b>32</b>
2.1. Material biologic .....	32
2.2. Metode de cercetare .....	34
2.3. Metode statistice de calcul .....	38
2.4. Concluzii la capitolul 2 .....	38
<b>3. GENETICA ȘI AMELIORAREA LA FLOAREA-SOARELUI PENTRU REZISTENȚĂ LA ATACUL PARAZITULUI <i>Orobanche cumana</i> Wallr.</b> .....	<b>39</b>
3.1. Evoluția și virulența populațiilor de <i>O. cumana</i> Wallr. ....	39
3.2. Studiul determinismului genetic al rezistenței florii-soarelui la <i>Orobanche cumana</i> Wallr. .	52
3.3. Evaluarea materialului inițial privind rezistența la lupoaie prin metode de ameliorare convențională .....	54
3.4. <i>Screening</i> -ul molecular al prezenței genei <i>Or5</i> în liniile de floarea-soarelui utilizate în ameliorare .....	59
3.5. Analiza polimorfismului genetic al germoplasmei de floarea-soarelui cu primeri RAPD .....	622
3.6. Evaluarea unor hibridi experimentali și comerciali de floarea-soarelui privind rezistența la lupoaie .....	69
3.7. Concluzii la capitolul 3. ....	76
<b>4. INFLUENȚA PARAZITULUI <i>Orobanche cumana</i> Wallr. ASUPRA UNOR ELEMENTE DE PRODUCȚIE ȘI DE CALITATE LA FLOAREA-SOARELUI</b> .....	<b>77</b>
4.1. Talia plantei .....	79
4.2. Masa hectolitrică și masa a 1000 boabe.....	81
4.3. Diametrul calatidiului și rata semințelor pline per calatidiu .....	83
4.4. Producția de semințe.....	86
4.5. Conținutul de ulei în semințe.....	944
4.6. Conținutul de acid oleic .....	97
4.7. Concluzii la capitolul 4 .....	100
<b>CONCLUZII GENERALE ȘI RECOMANDĂRI</b> .....	<b>101</b>
<b>BIBLIOGRAFIE</b> .....	<b>103</b>
Anexa 1. Hibridi de floarea-soarelui testați și înscrși în Catalogul soiurilor de plante al Republicii Moldova .....	117
Anexa 2. Act de implementare a rezultatelor științifice în ameliorare .....	124
<b>DECLARAȚIE PRIVIND ASUMAREA DREPTULUI DE AUTOR</b> .....	<b>124</b>
<b>CURRICULUM VITAE</b> .....	<b>126</b>

## 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 focalizată 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 ПАРАЗИТУ *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, зарази́ха - *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 зарази́ха 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 зарази́хе; изучение влияния зарази́хи на индексы продуктивности подсолнечника.

**Научная новизна и оригинальность:** В работе представлен комплексный подход, сфокусированный на всестороннем анализе эволюции рас зарази́хи 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 зарази́хи 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 зарази́хе в условиях естественной и искусственной инфекции.

**Решенная научная проблема состоит в научном обосновании** методологии селекции устойчивости к зарази́хе 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 демонстрировать возможность переноса генов *Or* в перспективные линии путем обратного скрещивания, факт позволяющий повысить эффективность селекции и создания конкурентоспособных гибридов, устойчивых к зарази́хе.

**Теоретическая значимость:** Проведённые исследования являются фундаментальной методологической основой селекции подсолнечника на устойчивость к зарази́хе. Анализ генетического детерминизма устойчивости к зарази́хе и идентификация механизма наследования доминантных генов *Or* доказывает что устойчивость к зарази́хе 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 зарази́хи, который позволяет быстро анализировать большое количество генотипов за короткое время. Используемые RAPD-маркеры, могут быть рекомендованы для первичного скрининга гермоплазма, устойчивой к зарази́хе.

**Внедрение научных результатов:** Результаты исследований были использованы при разработке более 25 гибридов подсолнечника, устойчивых к зарази́хе, 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.

## LISTA ABREVIERILOR

- ASC – androsterilitate citoplasmatică
- dNTP - Deoxynucleotide (deoxinucleotide)
- FAO – Food and Agriculture Organization of the United Nations (Organizația pentru Alimentație și Agricultură a Națiunilor Unite)
- INCDA – Institutul National de Cercetare Dezvoltare Agricolă
- GS – glutamin sintetaza
- GOGAT – glutamin oxoglutarat aminotransferaza
- LG – Linkage Grup (grup de linkaj)
- MMB – Masa a 1000 de boabe
- 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)
- Rf - fertility restorer (restauratoare de fertilitate)
- 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
- TRAP – Target Region Amplification Polymorphism (Polimorfism amplificat pe bază de secvență)
- QTL – Quantitative Trait Loci (Locusul Caracterelor Cantitative)

## INTRODUCERE

**Actualitatea și importanța problemei abordate.** Floarea-soarelui este o plantă oleaginoasă de mare importanță economică și alimentară. Datorită capacității sale de a îndeplini cerințele ridicate ale producătorilor în obținerea unui randament înalt și stabil al producției de materie primă, conținutului de ulei de calitate superioară în semințe (33-56%) și extragerii acestuia cu echipamente relativ simple, cultura reprezintă una dintre principalele surse de lipide vegetale, utilizate în alimentația omului. Uleiul de floarea-soarelui reprezintă 14,5% din producția mondială de uleiuri vegetale. Valoarea economică ridicată a culturii de floarea-soarelui este dată de multiplele întrebuințări ale acesteia: utilizarea directă în alimentație, obținerea uleiului, folosirea în calitate de materie primă industrială, produs secundar, furaj, precum și ca plantă meliferă [137].

Sporirea considerabilă a producției de semințe și ulei, determinată de extinderea pe scară largă a soiurilor și hibridilor de floarea-soarelui cu productivitate înaltă, situează cultura pe poziții avantajoase nu numai în competiția cu celelalte plante oleaginoase, dar și cu alte culturi preferențiale din agricultura mondială.

Continental 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, pe primul loc situându-se Rusia, urmată de Ucraina. Conform datelor Organizației pentru Alimentație și Agricultură a Națiunilor Unite (FAO), în ultimele perioade Republica Moldova se plasează pe locul 17-19 în clasamentul celor mai mari producători de semințe de floarea-soarelui pe plan mondial [71].

Printre factorii care produc 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 și holoparazitul *Orobanche cumana* Wallr.

Din regiunile sudice ale Rusiei și Ucrainei, adiacente Mării Negre, lupoaia s-a extins împreună cu cultura de floarea-soarelui pe care o parazitează spre alte țări riverane precum România, Bulgaria, Turcia și Spania [61, 109, 110, 132]. Lupoaia este de asemenea prezentă în Serbia, Ungaria, Grecia, Israel, Iran, Republica Moldova, Kazahstan, China, Mongolia și Australia și posibil și în alte câteva țări (recent, în Franța, Marea Britanie) [71, 88, 92, 123, 143, 164].

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. La un atac slab producția poate să scadă cu până la 20% [69, 120]. Lupoaia afectează mai multe caracteristici de productivitate, precum înălțimea plantei, diametrul calatidiului, numărul de



semințe per calatidii, conținutul de lipide și proteine în semințe, calitatea și cantitatea uleiului etc. [49, 72, 77, 160, 169].

Selecția formelor de floarea-soarelui rezistente la lupoaie a constituit o preocupare de bază a amelioratorilor, încă de la începutul secolului XX, când cultura era esențial amenințată de acest parazit virulent [30].

Rezistența genetică a florii-soarelui la atacul holoparazitului, identificată pentru prima dată la speciile sălbatice din genul *Helianthus*, a fost introdusă în formele cultivate în cadrul programelor de ameliorare din fosta Uniune Sovietică. Astfel, soiurile rezistente Kruglik A-41, Saratovski 169, Fuxinka 3, Zelenka 10 au manifestat rezistență față de prima rasă de lupoaie (rasa A) permițând supraviețuirea culturii [42]. În anii 1934-1935 au fost introduse în cultură soiurile Jdanov, rezistente la rasa A și la noua rasa, B. Ulterior, au fost introduse în producție soiurile de tip VNIIMK, de asemenea rezistente la ambele rase ale parazitului [43].

În anii 60, în zonele cultivate cu floarea-soarelui din sud-vestul Uniunii Sovietice au fost semnalate noi rase de lupoaie. Buherovici P., studiind virulența diferitor populații de *O. cumana* a constatat că soiurile cultivate au fost cel mai mult afectate de lupoaia din zona orașului Chișinău, mult mai agresivă decât cea din zona Krasnodar [34]. Această populație nouă de lupoaie, cunoscută ca rasa moldovenească, sau rasa C, s-a extins și în estul și sud-estul României, precum și în estul Bulgariei [32].

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 hibridilor 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 [71, 132]. 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, inclusiv pe teritoriul Republicii Moldova. Astfel, dacă în anii 50-70 lupoaia era descrisă preponderent în zonele de sud ale țării [40], ultimele date pun în evidență o migrație a parazitului și extinderea *O. cumana* pe noi arealuri din partea de centru și nord [62].

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 lupoaiă existente.

În lucrarea prezentă, ne-am propus drept **scop** evaluarea virulenței și impactului diferitor populații ale parazitului lupoaiă 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 lupoaiă;
- studiul determinismului genetic al rezistenței florii-soarelui la lupoaiă;
- evaluarea materialului inițial ameliorativ și transferul genelor de rezistență la lupoaiă 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 lupoaiă;
- studiul influenței atacului cu lupoaiă asupra indicilor de productivitate la floarea-soarelui.

**Noutatea și originalitatea științifică.** Lucrarea prezintă o abordare complexă focusată pe analiza comprehensivă a evoluției raselor de lupoaiă 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 lupoaii 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 lupoaiă în condiții naturale și artificiale de infectare.

**Problema științifică soluționată** constă în *fundamentarea* metodologiei de ameliorare a rezistenței la lupoaiă 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 lupoaiă, 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 creare a hibrizilor de floarea-soarelui competitivi, rezistenți la lupoaiă.

**Semnificația teoretică.** Studiul realizat reprezintă o bază metodologică fundamentală de ameliorare a florii-soarelui la lupoaiă. Analiza determinismului genetic al rezistenței la lupoaiă și identificarea mecanismului de moștenire a genelor dominante *Or*, demonstrează că rezistența la rasele de lupoaiă 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.

**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 analiza.

- Influența atacului lupoaiei asupra indicilor calitativi și cantitativi ai productivității la hibridii experimentali de floarea soarelui.

**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).

## Sumarul compartimentelor tezei

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

În **Introducerea** lucrării se argumentează actualitatea și importanța problemei abordate, sunt formulate scopul și obiectivele tezei, se descrie noutatea științifică a rezultatelor obținute, importanța teoretică și valoarea aplicativă a cercetărilor, implementarea rezultatelor, sumarul compartimentelor tezei și aprobarea rezultatelor.

În capitolul 1 al tezei **STADIUL ACTUAL AL CERCETĂRILOR PRIVIND PARAZITUL *Orobanche cumana* Wallr. ȘI RELAȚIA PARAZIT-PLANTĂ GAZDĂ (*Helianthus annuus* L.)** este expusă problema rezistenței și receptivității plantelor la lupoaie, care rămâne a fi o cerință importantă în cercetările biologice și în crearea hibrizilor competitivi. Este prezentată biologia, răspândirea și impactul economic al acțiunii acestei plante parazit asupra productivității. Prin prisma datelor din literatură 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. În contextul vizat, cercetările cu privire la rezistența florii-soarelui la lupoaie (*O. cumana* Wallr.) reprezintă un obiectiv primordial, de actualitate deosebită.

Capitolul 2, **MATERIALE ȘI METODE DE CERCETARE**, este consacrat descrierii succinte a materialului inclus în cercetare, care este reprezentat printr-un volum impunător de genotipuri de floarea-soarelui, precum și numeroase populații de lupoaie, colectate din diverse regiuni geografice. Capitolul include metodologia cercetărilor de evaluare a incidenței lupoaiei în condiții de infectare naturală în câmp sau artificială în seră și/sau laborator, precum și metodele de *screening* molecular a germoplasmei de floarea-soarelui.

Capitolul 3, **GENETICA ȘI AMELIORAREA LA FLOAREA-SOARELUI PENTRU REZISTENȚĂ LA ATACUL PARAZITULUI *Orobanche cumana* Wallr.**, este consacrat studierii virulenței și evoluției diferitor populații de lupoaie, evaluării eredității și variabilității germoplasmei din Republica Moldova și România utilizată în ameliorarea florii-soarelui prin prisma unor metode clasice și moderne de studiu, fiind identificate surse de rezistență la lupoaie, obținuți hibrizi cu indici de productivitate superiori, rezistenți la parazit. Sunt prezentate date privind determinismul genetic în cadrul genotipurilor de floarea-soarelui rezistente la noile populații, mai virulente, ale parazitului, precum și rezultatele evaluării unui șir de hibrizi de perspectivă în condiții de infectare naturală cu lupoaie. Analizele moleculare

în baza markerilor SCAR și RAPD au permis clasificarea germoplasmei în trei grupe distincte după gradul de rezistență.

Capitolul 4 **INFLUENȚA PARAZITULUI *Orobanche cumana* Wallr. ASUPRA UNOR ELEMENTE DE PRODUCȚIE ȘI DE CALITATE LA FLOAREA-SOARELUI** include date privind impactul lupoaiei asupra celor mai importanți indicatori de productivitate - talia plantei, masa hectolitrică și masa a 1000 boabe, diametrul calatidiului și rata de semințe pline per calatidiu, producția de semințe, conținutul de ulei în semințe și conținutul de acid oleic la un șir de hibridi de floarea-soarelui, evaluați în condiții de infectare naturală în diverse localități din România, remarcate prin prezența infecției persistente și omogene. Sunt prezentate corelații dintre valoarea elementelor de productivitate și gradul de atac, precum și varierea indicatorilor în funcție de genotip, condiții climaterice, localitate.

**Concluziile generale și recomandările** conțin o sinteză a principalelor rezultate ale cercetărilor efectuate, structurate conform capitolelor descrise.

**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, patru capitole, concluzii generale și recomandări, bibliografie din 176 titluri, volumul total de 130 pagini, 55 figuri, 26 tabele și anexă.

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

## 1. STADIUL ACTUAL AL CERCETĂRILOR PRIVIND PARAZITUL *Orobanche cumana* Wallr. ȘI RELAȚIA PARAZIT-PLANTĂ GAZDĂ (*Helianthus annuus* L.)

Un impediment deosebit de important în cultivarea florei-soarelui este *O. cumana* Wallr., cunoscută popular sub denumirea de *lupoaie*, *floarea-focului*, *busuioc sălbatic*, *verigel*, *țâțoi*, care provocă pagube semnificative acestei culturi oleaginoase strategice [27].

Lupoaia este o fanerogamă care aparține grupului de plante holoparazite, reprezentând 1% din plantele superioare cu mod de viață total dependent de planta-gazdă. Prima fază a contactului lupoaiei cu planta-gazdă este reprezentată de penetrarea rădăcinii, urmată de formarea în interiorul plantei-gazdă a unei structuri specializate, cunoscută drept *haustoriu* [180]. Haustoriul reprezintă un țesut conjunctiv prin intermediul căruia se realizează joncțiunea între gazdă și parazit. Acesta pătrunde în țesuturile scoarței ajungând în fasciculele libero-lemnoase de unde extrage apa, substanțele nutritive și hormonii necesari pentru dezvoltarea patogenului [45, 83, 74]. La exterior apar rădăcini adventive și muguri, care se alungesc și străbat solul ieșind la suprafață, formând tulpina floriferă a fanerogamei.

Un obiectiv de importanță majoră al strategiei de control al parazitului este **ameliorarea rezistenței florei-soarelui la *O. cumana***, care este o sarcină dificilă, însă foarte eficientă. Programul principal de ameliorare a florei-soarelui a fost inițiat în 1976 în cadrul Institutului de Cercetare a Culturilor de Câmp "Selecția" (Bălți) [2, 35]. Actualmente, unele proiecte de cercetare referitoare la lucrările de creare a hibrizilor înalt productivi cu rezistență complexă la diferiți agenți patogeni, sunt efectuate la companiile private Magroselect și Agroselect (Soroca), Novosem și Euroceres (Chișinău). Există numeroase cercetări fundamentale axate pe identificarea semnalelor chimice exudate de planta-gazdă [16, 90], pe interacțiunea *floarea-soarelui – lupoaia* la diferite stadii ontogenetice [74] și la diferite regimuri de temperatură (28°C și 15°C) de cultivare [12, 28].

Amelioratorii florei-soarelui au folosit o gamă largă de varietăți cultivate în scopul selectării unor forme remarcate prin caractere agronomice valoroase, calitatea semințelor, precum și rezistența la dăunători și boli. Variabilitatea caracterelor morfologice și fiziologice (înălțimea plantelor, perioada de înflorire, particularitățile frunzelor și semințelor etc.) este utilizată în calitate de indicator pentru lucrările de ameliorare a florei-soarelui [3, 4, 39, 40].

În ultimele decenii, în Catalogul Soiurilor de Plante din Republica Moldova, au fost înregistrați 26 hibrizi de floarea-soarelui. În prezent, catalogul include 137 de soiuri de floarea-soarelui. Majoritatea dintre ele fac parte din grupul celor cu un conținut ridicat de ulei și cinci - din grupul special, cu aplicare în cofetărie. În jur de 30% din aceste soiuri sunt rezistente la lupoaie [6]. Parazitul lupoaia (*O. cumana* Wallr.) afectează producția de semințe și ulei la

floarea-soarelui în multe regiuni cultivate cu această plantă [160, 169]. Cunoașterea zonelor afectate și virulența raselor în fiecare zonă are o importanță deosebită pentru obținerea de hibrizi comerciali de floarea-soarelui rezistenți la lupoaie și zonarea corectă a acestora.

### 1.1. Caracteristica generală a parazitului *Orobanche cumana* Wallr.

Angiospermele parazite reprezintă forme unice de viața care parazitează plantele superioare. Ele sunt capabile să formeze conexiuni cu sistemul vascular sau tulpina plantelor gazdă, devenind dependente de acestea pentru sursa de nutrienți și apă, gradul de dependență variind în funcție de specie [172]. Raportul plantelor parazite față de totalitatea speciilor de angiosperme nu se cunoaște cu exactitate, estimându-se că ar constitui circa 1% din numărul acestora. Angiospermele parazite se clasifică în funcție de locul de atașare la gazdă (rădăcină sau tulpină), precum și după absența sau prezența clorofilei (holo- sau semiparazite). Speciile plantelor parazite se încadrează în cel puțin 17 familii, dintre care șapte includ paraziți cu importanță agricolă [56] mai intens studiați, după cum urmează:

–Familia *Santalaceae*: include paraziți ai rădăcinilor copacilor, inclusiv a unor arbori enormi, precum specia *Okoubaka aubrevillei*, care crește în Africa și are o înălțime de cca 40 m.

–Familia *Loranthaceae*: conține, în special, paraziți ai tulpinii arborilor tropicali (ca ex. specii de plante parazite aparținând genului *Tapinanthus*).

–Familia *Convolvulaceae*: conține paraziți ai tulpinii, cea mai păgubitoare specie care atacă multe culturi agricole provocând daune esențiale, făcând parte din genul *Cuscuta*.

–Familia *Lauraceae*: conține paraziți ai tulpinii, de exemplu *Cassytha*.

–Familia *Balanophoraceae*: conține paraziți ai rădăcinilor. Această familie a fost puțin studiată, dar câteva specii afectează arborii tropicali.

–Familia *Scrophulariaceae*: conține paraziți ai rădăcinilor. Reprezentanții multor genuri ale acestei familii, precum *Alectra*, *Buchnera*, *Rhamphicarpa*, *Odontites*, *Melampyrum*, *Rhinanthus* și *Seymeria*, constituie o problemă majoră pentru agricultură.

–Familia *Orobanchaceae*: include paraziți ai sistemului radicular. Toate speciile acestei familii sunt holoparazite, în special genul *Orobanche* și *Striga* care constituie o mare problemă în țările riverane Mării Mediterane, provocând pierderi economice semnificative celor mai importante culturi agricole (floarea-soarelui, tutun, varză, tomate etc.).

Familia *Orobanchaceae* cuprinde 17 genuri, majoritatea speciilor aparținând genului *Orobanche*. Acest gen este subdivizat în două secții: *Trionychon* Wallr. și *Orobanche* (*Osproleon* Wallr.). Cea mai importantă secție a genului și probabil a întregii familii este secția *Orobanche*, cu aproximativ 50 specii. Potrivit lui Cubero J., evenimentele evolutive în familia *Orobanchaceae* pot fi rezumate astfel: numărul original de bază al cromozomilor a fost  $n=6$  ( $2n$

= 12), după care o duplicare a condus la  $2n = 4n = 24$ . Ulterior, o duplicare secundară a produs forme cu  $2n = 48$ , astfel încât este vorba de o serie poliploidă cu  $n = 12$  ca număr de bază. În cadrul secției *Trionychon* Wallr., speciile principale sunt *Orobanche aegyptiaca* Pers. și *O. ramosa* L., fiecare cu  $2n = 24$ . Secția *Orobanche* Wallr. cuprinde speciile *Orobanche cernua* Loefl.  $2n = 24, 38$ , *O. cumana* Wallr.  $2n = 38$ , *O. crenata* Forsk.  $2n = 38$ , *O. reticulata* Wallr.  $2n = 38$ , cunoscute ca fanerogame parazite pe floarea-soarelui și alte plante de cultură [67].

Datorită variabilității morfologice și genetice din cadrul speciilor parazite și a faptului că acestea sunt lipsite de clorofilă, nu posedă structură foliară, iar sistemul radicular este prezentat de rădăcini scurte anormale, caracteristici specifice unui holoparazit veritabil, taxonomia genului *Orobanche* prezintă unele aspecte controversate. Astfel, un timp îndelungat *O. cumana* Wallr. și *O. cernua* Loefl. erau considerate drept o singură specie [154]. *Orobanche cernua* este cunoscută sub două forme diferite: una parazitează floarea-soarelui, alta atacă legumele [144]. Unii autori consideră aceste forme ca variante ale speciei *O. cernua* sau sinonime, alții le separă în două specii distincte, *O. cumana* Wallr. și *O. cernua* Loefl [105], atât pe baza caracterelor morfologice, cât și a comportamentului. Joel D. M. și colab. [105] au demonstrat că *O. cumana* este o unitate taxonomică autonomă, apropiată de *O. cernua*. Prin analize moleculare a fost posibilă separarea a două specii precum *O. aegyptiaca* și *O. ramosa*, s-a făcut distincție între alte două specii: *O. crenata* și *O. cernua*. Mai târziu, s-a stabilit că raporturile distanței genetice intraspecifice au fost semnificative, prezentându-se mai mici între *O. cumana* și *O. cernua*, decât cele dintre *O. crenata* și *O. aegyptiaca*. În plus, cea mai mare diversitate genetică dintre ultimele două specii a fost găsită mai degrabă printre indivizi decât între colecțiile fiecărei specii din diferite arii geografice. Diferenți primari relevă existența unui polimorfism variat deosebindu-se prin diverse grade de polimorfism ce variază de la 5% benzi polimorfe la planta-parazit *O. cumana* ce are afinitate la floarea-soarelui, comparativ cu 11% descoperite în *O. cernua*, parazit al tomatelor [107].

Parazitul florii-soarelui *O. cumana* Wallr. reprezintă o plantă anuală sau perenă lipsită de clorofilă. Tulpinile sunt robuste, înalte până la 40 cm și groase de 2,5 cm, neramificate, glanduloase, striate, acoperite cu frunze transformate în scvame. Lăstarii se dezvoltă la suprafața solului în jurul plantelor parazitare, solitar sau în mănunchiuri. La bază, la locul de fixare pe rădăcinile plantei gazdă, prezintă o îngroșare ca un bulb din care pornesc haustorii, ce pătrund în țesuturile gazdei, ajungând până la vasele liberiene. Inflorescența este un spic sau racem alungit, cilindric, de 27 cm lungime, laxiflor, cu flori erect-patente, cu câte o bractee egală cu floarea. Caliciul este prevăzut cu două lacinii bidințate sau întregi, de două ori mai scurte decât corola, gălbui sau albastre. Corola, de 15-18 mm lungime, este îngustată la mijloc, la bază puțin umflată, spre vârf recurbată, liliachie, scurt-glandulos-păroasă sau glabrescentă. Staminele sunt fixate puțin mai jos de mijlocul tubului corolei, cu filamente glabre și antere obovate, glabre sau puțin



păroase la bază. Ovarul este ovoidal, stilul recurbat, glabru sau glandulos-păros, stigmatul lobat. Fructul este o capsulă de 8-10 mm lungime și conține câte 1200-1500 semințe mici, de 0,35-0,45 mm, elipsoidale, subrotunde, cenușiu închis, cu suprafața reticulată [5, 22].

Endospermul semințelor de lupoaie conține un centru celular special care induce inițierea germinării și reglează procesul de creștere a germenului. Acesta este format din celule ale stratului aleuronic al endospermului și este situat în zona micropilului endospermului seminal [83].

De obicei, germinarea semințelor plantei-parazit se realizează doar în prezența plantei-gazdă, fiind declanșată de compuși secretați de rădăcinile acesteia în procesul de creștere. În cazul lupoaiei ca stimulenți ai germinării servesc produși naturali exudați de rădăcina gazdei, precum strigolul, sorgolactonele, orobanchol, heliolactonele [56, 108, 128, 174]. Studiile asupra stimulenților naturali și a analogilor lor sintetici (GR24) au relevat că **strigolactonele** sunt active în concentrații mici ( $10^{-8}$ - $10^{-12}$ M), inducerea germinării semințelor plantelor de *Striga* și *Orobanche* realizându-se printr-un mecanism intermediat de un receptor, structura acestei proteine-receptor fiind slab cunoscută [181]. Concentrațiile de stimulatori, care sunt mai mari decât valoarea optimă, inhibă germinarea semințelor de *Orobanche*. Cunoașterea bazei genetice și biochimice a producerii stimulatorilor de germinare în rădăcinile plantelor gazdă poate permite dezvoltarea a noi varietăți rezistente de plante, dar și elaborarea și implementarea măsurilor practice de control și gestiune a parazitului. Acest lucru se poate realiza pe două căi: prin inhibarea biosintezei stimulatorilor de germinare, evitând germinarea semințelor plantelor parazite și printr-o expresie abundentă (*over-expression*) a stimulatorilor în plantele-gazdă în vederea inhibării germinației în apropierea rădăcinilor [104].

Odată cu germinarea, din semințele plantelor parazite se dezvoltă haustorii ce penetrează rădăcinile gazdei, această conexiune păstrându-se pe tot parcursul perioadei de vegetație. Atașarea germenului de lupoaie pe rădăcina florii-soarelui se face cu ajutorul unei substanțe lipicioase, care este secretată de celulele zonei apicale a tubului germinativ al semințelor parazitului [83]. Prin intermediul haustoriului, parazitul preia substanțele nutritive și hormonii necesari de la planta-gazdă asigurându-și creșterea și dezvoltarea. Treptat pe rădăcina plantei-gazdă se formează noduli, care pe măsură ce cresc, determină apariția la suprafață a unor proeminențe specifice speciei date. Proeminențele se dezvoltă în rădăcină, penetrând și alte zone și măbind, astfel, suprafața contaminată. Peste câteva săptămâni de dezvoltare subterană se dezvoltă lăstarul vizibil la suprafață [74, 81].

Din momentul pătrunderii filamentului rezultat din germinația semințelor în tegumentul rădăcinii plantei-gazdă, până la apariția tulpinii florifere la suprafața solului decurg circa două luni, evident cu impact negativ asupra plantei de cultură (Figura 1.1).

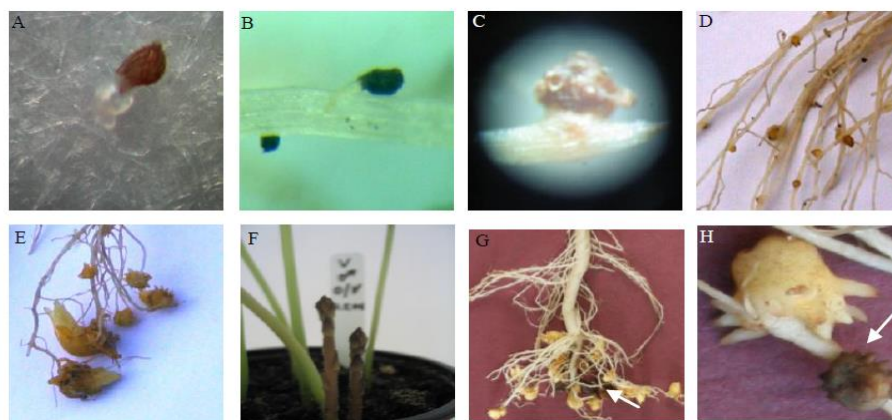


Fig. 1.1. Dezvoltarea *O. cumana* pe rădăcinile de *H. annuus*.

*A* – germinarea seminței; *B* – atașarea; *C, D, E* – tuberculi cu rădăcini adventive și lăstari subterani; *F*- lăstari aerieni; *C, G, H* – tuberculi necrotizați.

Unii cercetători consideră că secrețiile rădăcinilor de floarea-soarelui includ substanțe ce contribuie la modificarea pH-ului solului, cunoscându-se faptul că reacția slab acidă (pH sub 6,5), favorizează dezvoltarea parazitului *O. cumana* [126].

De asemenea, există factori biologici și chimici care contribuie la inhibarea germinării semințelor de lupoai. Astfel, s-a constatat că extractele de radice de schinduf (*Trigonella foenum graecum*), lupin (*Lupinus termis*), coriandru (*Coriandrum sativum*) și rapiță sălbatică (*Brassica rapa*) reduc semnificativ efectul stimulator al produsului sintetic GR24. Cercetări relevante în domeniu atestă efectul inhibitor al azotului asupra germinăției semințelor de lupoai, atât în câmp cât și *in vitro*. În general, sulfatul de amoniu și ureea au redus cel mai mult numărul de semințe germinate de lupoai, reducerea fiind asociată cu scurtarea radicelelor semințelor germinate. Azotul sub formă de amoniu a exercitat o acțiune inhibitoare mai pronunțată asupra *Orobanche sp.* decât sub formă de nitrat [100, 119, 125, 133, 134].

Stresul osmotic a fost propus ca un component al inhibării germinăției semințelor de *Orobanche sp.* induse de azot [46]. Testele de germinație la diferite potențiale osmotice au demonstrat adaptarea tubului germinativ al semințelor de *Orobanche ramosa* la habitatele uscate [86, 119]. Hezewijk M. și Verkleij J. au emis ipoteza că inhibarea germinăției semințelor de *Orobanche crenata* de către amoniu este legată de capacitatea redusă de detoxificare a amoniului, datorită activității reduse a enzimelor glutamin sintetaza (GS) și glutamin oxoglutarat aminotransferaza (GOGAT) [175, 179]. Efectul inhibitor al ureei poate fi indirect, provenind din conversia acesteia în amoniac.

Studiile efectului temperaturii asupra germinăției semințelor de lupoai au indicat că fiecărei specii de lupoai îi corespunde o gamă de temperaturi optime pentru germinație care, în general, reflectă distribuția lor geografică. Astfel, temperatura optimă pentru germinare a fost de aproximativ 18°C pentru *O. crenata* și 23°C pentru *O. ramosa*. Temperatura optimă dezvoltării

și creșterii radicelei este asemănătoare pentru toate speciile de lupoaie, fiind cuprinsă între 23°C și 25°C [135]. Procesul de germinație la *O. cumana* Wallr. este favorizat și de un șir de alți factori, precum: terenurile sărace în substanțe minerale, din zone aride, cu pH neutru sau slab acid. Pe solurile fertile, plantele de floarea-soarelui sunt mai viguroase și mai rezistente la atacul parazitului. Dacă nu au condiții favorabile pentru germinare, semințele își păstrează în sol capacitatea germinativă timp de 12-13 ani. Germeii semințelor de lupoaie își păstrează vigoarea timp de aproximativ 60 de zile, dacă există condiții optime pentru dezvoltarea lor, în absența plantei gazdă [16, 60].

Sursa principală de inoculare o reprezintă pământul infestat cu semințe de lupoaie. Prin cultivarea repetată a florii-soarelui pe același teren, prin efect de cumulare, crește cantitatea de semințe de lupoaie. Pancenko A. [38] a stabilit că odată cu mărirea numărului de semințe din sol, crește și intensitatea infestării florii-soarelui. Astfel, la un număr de 75 semințe per vas de vegetație, s-au format 9,5 plante de lupoaie, în timp ce la 1200 semințe, au apărut în medie 133,5 plante de lupoaie pe o plantă de floarea-soarelui. Este evident că pagubele produse de lupoaie depind de etapa de infestare și de numărul de plante parazitare, cele mai mari pagube producându-se la infestările timpurii și puternice.

O singură plantă de lupoaie poate produce 50.000 de semințe, care sunt transportate de vânt la distanțe mari. Semințele pot fi răspândite, de asemenea, cu ajutorul insectelor, cu apa de irigat, cu uneltele sau cu mașinile agricole, sau pot fi introduse în sol odată cu semințele de floarea-soarelui. Lupoaia se poate transmite de la an la an pe noi suprafețe de cultură prin intermediul achenelor de floarea-soarelui [22].

Deși cercetările întreprinse asupra acestei plante-parazit sunt numeroase și au permis încadrarea sistematică a parazitului, conștientizarea mai profundă a interrelației gazdă-parazit, identificarea surselor de rezistență a speciilor, precum și elaborarea măsurilor de control și combatere, pierderile economice cauzate de lupoaie și extinderea continuă a acesteia pe noi arealuri de cultivare a florii-soarelui argumentează actualitatea și necesitatea realizării de noi studii în domeniu.

## 1.2. Răspândirea și impactul economic al lupoaiei

Lupoaia – *O. cumana* Wallr. a fost descrisă pentru prima dată la sfârșitul secolului XIX de către savantul rus Sațiperov F. [44], care a relatat că în anul 1890, în Gubernia Voronej a fost selectată o formă de floarea-soarelui cu strat carbonogen, ce îi conferă rezistență la atacul moliei și care, conform observațiilor lui, era rezistentă și la lupoaie.

În România, *O. cumana* Wallr. a fost semnalată prima dată la culturile de floarea-soarelui în anii 1940-1941. Frecvența și intensitatea cea mai mare a atacului cu lupoaie se întâlnește în partea centrală și de sud a Moldovei, în Dobrogea și estul Câmpiei Bărăganului [25]. Iliescu H. a caracterizat influența parazitului *O. cumana* ca foarte importantă în perioada 1981-1983, în etapa ulterioară semnalând apariția speciei *Orobanche ramosa*, cu factor de impact scăzut pentru România [96]. Pe teritoriul Republicii Moldova, primele mențiuni referitor la parazitarea florii-soarelui de grădină de către lupoaie au fost făcute în 1861, iar peste doi ani (1863), aceasta s-a atestat și pe ariile de cultură [45].

În prezent, *O. cumana* continuă să se extindă, ocupând suprafețe tot mai mari, descoperindu-se noi rase fiziologice ale acestui parazit. În Turcia, *O. cumana* prezintă o incidență majoră, pe când în Bulgaria, Serbia și Ungaria nu s-a evidențiat o influență excesivă [47, 63, 68]. Lupoaia s-a răspândit din regiunile sudice ale Rusiei și Ucrainei, adiacente Mării Negre, odată cu extinderea culturii florii-soarelui și în celelalte țări riverane: România, Bulgaria, Turcia. O dezvoltare surprinzătoare a cunoscut lupoaia în Spania și Franța, unde, conform datelor bibliografice se menționează specia *Orobanche reticulata* Wallr., care datorită dezvoltării sale tardive are o virulență mai scăzută [103]. Deosebirea de *O. cumana* se manifestă de asemenea prin diferențierea cromatică a corolei și stigmatului – violet și albastru la *O. reticulata* și de culoare deschisă, albie la specia *O. cumana*. În afară de continentul european, *O. cumana* a fost semnalată ca parazit important și în China, în provincia Jilin, unde procentul de parazitare este de circa 20%, uneori cu un număr de peste 100 lăstari de lupoaie pe o plantă de floarea-soarelui [173]. Parker C. și Riches C. au identificat specia *Orobanche crenata* Forsk. la plante leguminoase, morcov, salată, șofrănel, dar și la floarea-soarelui din regiunea mediteraneană și Orientul Mijlociu, în special în sezonul rece [144].

Amplitudinea pagubelor produse de parazitarea cu lupoaie variază foarte mult, de la scăderi nesemnificative de producție până la pierderi de 90%, în funcție de intensitatea atacului, adică de numărul plantelor de lupoaie care se dezvoltă pe o plantă de floarea-soarelui (Figura 1.2.).

Plantele de floarea-soarelui parazitare de lupoaie stagnează în dezvoltare, rămân scunde, cu tulpini subțiri și formează capitule mici, majoritatea semințelor fiind seci. Dacă atacul se manifestă timpuriu, plantele nu formează calatidii sau dacă formează, acestea sunt mici,

degenerate. Când atacul se produce într-un stadiu de dezvoltare mai avansat, simptomele sunt slab vizibile, plantele de lupoaie penetrează suprafața solului, de obicei după înflorirea plantei-gazdă. În cazul unui impact parazitar puternic, o singură plantă de floarea-soarelui poate fi gazda a 30-40 plante de lupoaie sau mai mult. În condiții de secetă, plantele parazitare se ofilesc din cauza intensificării transpirației indusă de lupoaie și o diminuare a reacțiilor de oxido-reducere [22].

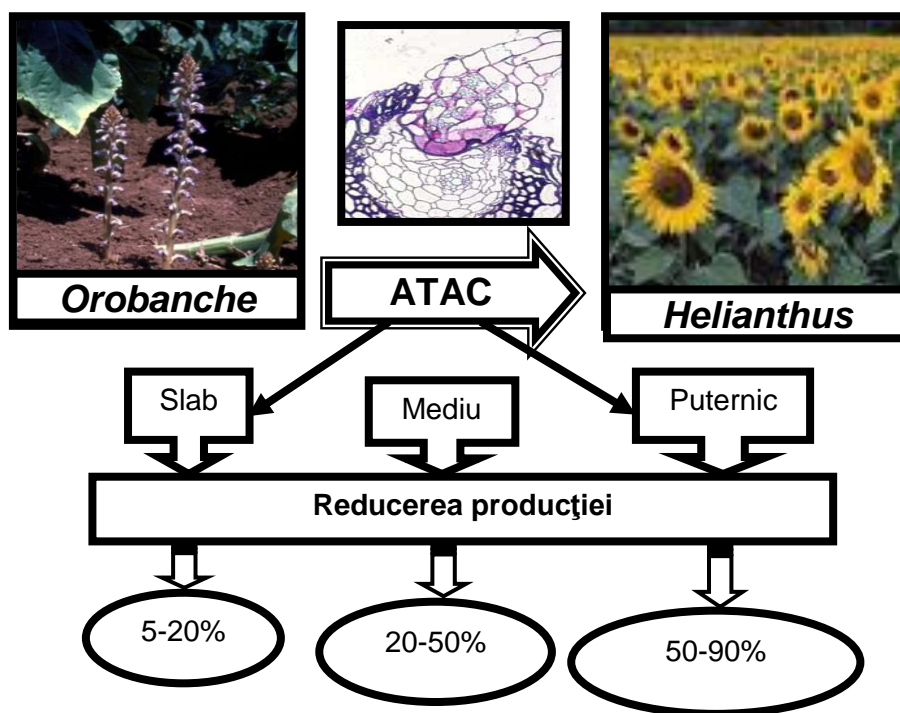


Fig. 1.2. Reducerea producției de floarea-soarelui înregistrată la diferite grade de atac al *O. cumana* [69].

Până în prezent, lupoaia rămâne a fi un factor cu impact negativ asupra florii-soarelui în toate regiunile Republicii Moldova. Cercetările efectuate pe parcursul a mai mulți ani (*stația VNIIMK din Moldova, Institutul de Cercetări pentru Culturile de Câmp "Selecția", Universitatea de Stat din Moldova și Universitatea Academiei de Științe a Moldovei*) au relevat faptul că rasele de lupoaie nu sunt doar larg răspândite în teritoriu, dar și foarte agresive, fiind specifice îndeosebi pentru partea de sud și centru a republicii [9, 71, 73]. Estimarea costului economic al pierderilor producției de floarea-soarelui este absolut necesară pentru viitoarele strategii adecvate de prevenire a atacului. Mai mult, evitarea răspândirii patogenilor necesită o monitorizare regulată atât de către autoritățile de reglementare, cât și de fermierii particulari sau întreprinderi agricole.

Monitorizarea infecției cu lupoaie inițiată în prima jumătate a anilor 60' a pus în evidență faptul că în perioada anilor 1963-1964 culturile de floarea-soarelui în raioanele Căușeni și

Dubăsari au fost afectate în proporție de aproximativ 70-100%, iar în 1972, jumătate din terenurile cultivate cu floarea-soarelui din Slobozia au fost afectate de lupoaie, atingând o rata de infecție de până la 100%. S-a menționat că prejudiciul cauzat de acest agent patogen este adesea devastator, cu pierderi raportate de 50-90%, ceea ce duce la reducerea semnificativă a cantității și calității de ulei din semințe. Totodată, cercetările experimentale de câmp au demonstrat că rotația culturilor are un rol major atât în asigurarea productivității plantelor, cât și în diminuarea apariției și răspândirii noilor rase de lupoaie [45].

Mai multe studii au avut ca scop elucidarea modificărilor fenotipice și biochimice ale unor caracteristici ale florii-soarelui importante din punct de vedere agronomic [13, 14, 76, 80]. Recent, pentru detectarea infecției cu lupoaie, la fazele inițiale de dezvoltare a parazitului au fost propuse metode bazate pe fiziologia plantelor, care îmbină analiza hiperspectrală și regresia parțială minimă pătrată [64].

Studii privind predicția efectului economic au fost realizate de către echipa acad. Duca Maria în perioada 2006-2007, în cadrul grantului CRDF, SUA. În acest sens, au fost efectuate unele estimări ale riscului pierderilor și al impactului economic cauzat de parazitul menționat, obținându-se rezultate științifice ce pot fi utilizate direct de către producătorii agricoli [17]. Daunele produse de parazit depind de nivelul de infestare a terenului agricol, stadiul ontogenetic și durata de infecție. Cercetările efectuate în câmp experimental au demonstrat scăderea semnificativă a producției și calității semințelor. Cea mai mare influență a atacului cu lupoaie a fost constatată asupra masei totale a semințelor per calatidiu (valoare medie 37,7%), diametrul calatidiului (-20.4%) și conținutul de lipide în semințele de floarea-soarelui [71, 72, 77].

Infestarea naturală cu lupoaie a demonstrat consecințe directe asupra parametrilor de producție și a provocat o diminuare a greutateii totale de achene per calatidiu, cele mai afectate fiind greutatea a 1000 de semințe (20,1%) și masa a 1000 de semințe decojite (20,7%). S-a constatat că fitoparazitul *O. cumana* a manifestă o acțiune negativă semnificativă asupra conținutului de lipide și proteine, fapt ce indică că atacul cu lupoaie afectează calitatea nutritivă a semințelor de floarea-soarelui. De asemenea, s-a înregistrat, o corelație negativă între numărul plantelor de lupoaie per planta de floarea-soarelui și diminuarea conținutului de lipide / proteine din semințe [71, 72, 77, 91].

Actualmente, pierderile cauzate de atacul cu lupoaie pe terenurile fermierilor sunt foarte puțin documentate și este destul de dificil să obținem date precise la nivel național. Cele menționate denotă importanța studiilor de estimare a daunelor cantitative și calitative provocate de parazit și acumulare de noi date, cruciale în elaborarea unor strategii eficiente de monitorizare și control a infecției cu lupoaie.

### 1.3. Rezistența florii-soarelui la *Orobanche cumana* Wallr.

Selecția formelor de floarea-soarelui rezistente la lupoaie a fost o preocupare de bază încă la începutul secolului XX, când cultura era amenințată de acest parazit, și continuă a fi primordială până în prezent, datorită co-evoluției în tandem a sistemului gazdă-parazit. Astfel, crearea noilor forme ale plantei gazde ce posedă gene de rezistență la anumite rase de lupoaie determină evoluția parazitului în vederea depășirii barierelor de rezistență și apariția unor noi rase mai virulente, procesul de dezvoltare/evoluție a gazdei și parazitului fiind într-o conexiune strânsă. Din aceste considerente, genetica rezistenței la lupoaie a fost studiată în paralel cu apariția noilor rase și surselor de rezistență la ea.

Morozov menționează că, primele soiuri de floarea-soarelui rezistente la rasa A de lupoaie au fost realizate de Plachek E. (1918) la stațiunea Saratov. Morozov V. [37] și Pustovoit G. [43] notează că Zdanov a identificat o nouă rasă de lupoaie (B) în regiunea Rostov creând de asemenea un număr de varietăți de floarea-soarelui rezistente la aceasta. Savanții au stabilit faptul că rezistența florii-soarelui la parazit este controlată de genele dominante *Or* [41].

În perioada care a urmat, potrivit lui Pustovoit care și-a desfășurat activitatea la institutul VNIIMK Krasnodar, au apărut un număr de varietăți de floarea-soarelui, ce posedau un conținut ridicat de ulei și rezistență la *O. cumana*, tipul B, varietăți ce au jucat apoi un rol important în răspândirea florii-soarelui în lume [66]. Mai târziu, o nouă rasă care nu putea fi controlată prin genele de rezistență la rasele A și B, numită *rasa moldovenească*, sau rasa C, a fost descoperită în Moldova de către Sharova P. și în Bulgaria de Petrov D. [148, 158].

Vrânceanu și colab., au efectuat cercetări în privința studiului lupoaiei în anii 1976 – 1980, în România. Ei au stabilit cinci rase active ale acestui parazit și le-au etichetat: A, B, C, D și E. Prin cercetări genetice, Vrânceanu A. și colab. au identificat genele ce controlează rezistența la rasele menționate și au elaborat un set de linii diferențiatore care aveau rezistență cumulativă la cinci rase succesive marcate de gene dominante *Or1*, *Or2*, *Or3*, *Or4* și, respectiv, *Or5*. [178]. Ulterior, rezistența la rasa F a fost determinată la linia LC-1093 (*Or6*) de Maria Păcureanu-Joița și colab. în 1998, încheindu-se acest ciclu de cercetare genetică [178].

Apariția unor noi rase de lupoaie în Spania a condus la un nou ciclu de analize genetice pe scara largă. Dominquez și colab. au observat că există o frecvență scăzută a genelor de rezistență a florii-soarelui cultivate la rasa E, aceasta fiind controlată de două gene dominante [69]. Pe când savantul Sukno S. și colab. au concluzionat că rezistența la rasa E este controlată doar de o singură genă dominantă [167]. Astfel, au fost testate linii de floarea-soarelui rezistente la populațiile de lupoaie din regiuni diferite, descoperindu-se că numai două au fost în totalitate rezistente la atacul acestui parazit. Conform presupunerilor savanților, rezistența se datorează alelelor dominante asociate locusului *Or* sau de efectul cumulat al unui grup de gene nealelice.

S-a demonstrat ca cele două linii sunt rezistente la populațiile noi de lupoaie care sunt capabile să depășească gena de rezistență *Or5*.

Alonso L. și colab. au descoperit o rasă nouă, mai virulentă (F) în 1996 în Spania [51]. Lucrările lui Alonso L. și colab. [51], Păcureanu-Joița M. [138, 139, 142], Škorić D. și Jocić S. [163], Fernandez-Martinez J. și colab. [85] și Skoric D. și colab. [164] oferă un material interesant ce oglindește rezistența florii-soarelui la lupoaie.

Astfel, Alonso L. a menționat că rezistența la lupoaie este un caracter mai complex, determinată inclusiv de gene, diferite de cele dominante [51]. În unele cazuri, care implică germoplasma florii-soarelui cultivată, rezistența la rasa F este controlată de gene recesive. Rezistența la lupoaie descoperită la liniile P-96 și KI -534 este controlată de alele recesive în două poziții. Implicarea genelor recesive în asigurarea rezistenței la lupoaie a fost identificată și în cazul rasei E, la linia KI-634 [48, 152].

Akhtouch și colab, au încrucișat linii rezistente la rasa F cu linii susceptibile descoperind rapoartele de segregare de 1:15 și 1:3 la generațiile  $F_2$ ,  $F_3$  și  $BC_1$ , care în majoritatea cazurilor indică epistazia dublu dominantă [48]. Cazurile de segregări 3:13 și 1:1 au fost, de asemenea, înregistrate în  $F_2$  și  $BC_1S_1$ , ceea ce reprezintă un indicator al epistaziei recesiv dominante. Perez-Vich B. și colab. au testat un șir de hibridi interspecifici (floarea-soarelui cultivată x *H. divaricatus* și *H. grosserratus*) în combinație cu un genotip susceptibil și s-a descoperit că liniile rezultate din generațiile segregante ( $F_2$  și  $BC_1F_1$ ) au avut o singură genă dominantă pentru rezistență la rasa F [145].

Velasco L. și colab., au încrucișat o linie rezistentă la rasa F (JI) cu trei linii susceptibile și au obținut tipuri de segregare: 3:1, 13:3 și 15 :1 (R+MR+S) în generațiile  $F_2$ ,  $F_3$ , și  $BC_2$ , indicând dominanța incompletă a alelelor *Or6* și prezența a două gene *Or7* a căror exprimare a fost influențată de factorii de mediu [176].

Recent, s-au întreprins încercări de a introduce gena rezistenței la rasa G din specia sălbatică *Helianthus debilis* la specia cultivată de floarea-soarelui [177], fiind raportată ca o singură genă dominantă (*Or deb2*). Ținând cont de co-evoluția patogenului concomitent cu planta gazdă, Alonso L. (2014) recomandă de a cultiva hibridi cu o rezistență superioară doar în cazul când formele cu o rezistență mai redusă sunt ineficiente, pentru a nu favoriza dezvoltarea patotipurilor mai virulente [50].

Schimbările privind compoziția raselor de lupoaie din România au fost analizate de Păcureanu-Joița M. și colab. [141], rezultatele prezentate atestă că într-o perioadă de aproximativ 10 ani, în România a apărut o nouă rasă de lupoaie [140]. Folosind linii diferențiatore pentru rasele E și F, savanții au determinat că există anumite diferențe între rasele de lupoaie descoperite în Turcia și populațiile care apar în zona Constanța din România. A fost demonstrat



că populația de lupoaiie din Serbia și zona Călărași, România, diferă complet de rasele de lupoaiie prezente în Spania și unele zone din România și Turcia [140].

Păcureanu-Joița M. și colab. au testat cea mai recentă și agresivă rasă de lupoaiie din România încrucișând o linie rezistentă AO-548 și linia sensibilă AD-66, iar în generațiile F<sub>2</sub> și BC<sub>2</sub>F<sub>2</sub> s-au observat următoarele tipuri de segregare: 15:1 și 3:1, fapt ce demonstrează că rezistența formei AO-548 este controlată de două gene dominante independente una față de cealaltă [141].

În Trakya, o regiune din Turcia, structura raselor de lupoaiie se schimbă frecvent. Potrivit savantului Bulbul A. și colab., rasa E a fost caracterizată ca rasă dominantă începând cu anul 1983 până în 1990, după care a apărut rasa F [62]. Recent, după cum au raportat Kaya Y. și colab., cel puțin o rasă nouă de lupoaiie, care nu poate fi controlată prin *Or6*, a apărut în țară. Genele de rezistență la cea mai nouă și virulentă rasă de lupoaiie au fost identificate în câteva linii și hibrizi [110].

În Bulgaria rasele A și B au fost în categoria raselor dominante până în 1968. Apoi, Petrov D. a raportat apariția unei noi rase a parazitului, care nu putea fi controlată de genele de rezistență *Or1* și *Or2* [148].

Shindrova P. efectuând o evaluare a raselor de lupoaiie depistate în Bulgaria a conchis că în țară sunt prezente rasele D, E și F. Cea mai des întâlnită este rasa E, concomitent obținând tot mai mult teritoriu rasa F, pe când rasa D este pe cale de dispariție [159]. Ulterior, Shindrova P. și Penchev E. au demonstrat prezența în Bulgaria a unor rase mult mai virulente decât rasa F [161]. Potrivit lui Škorić D. și colab. rasele E și F sunt dominante în populațiile de lupoaiie din Serbia [163, 164].

Studiile efectuate de Antonova T. demonstrează schimbarea dinamicii raselor de *O. cumana* în Rusia [33, 52, 53]. Este cunoscut faptul că rasele de lupoaiie sunt în dinamică permanentă inclusiv și în Republica Moldova. Păcureanu-Joița M. susține ca anumite zone în Republica Moldova, prezintă rase de lupoaiie mai virulente decât rasa F [140].

Se constată că, cercetări ample asupra rezistenței la lupoaiie s-au realizat, în special, în URSS, apoi în România, Bulgaria, Turcia și Spania, țări în care parazitul evoluează rapid, dezvoltând noi rase cu virulență sporită și produce pagube esențiale producției de floarea-soarelui.

Cultivatorii de floarea-soarelui și geneticienii încearcă să obțină genotipuri rezistente la toate rasele acestui parazit. Genele pentru rezistență (*Or*) la rasele A, B, C și D de lupoaiie sunt prezente la populațiile de floarea-soarelui realizate prin programele de ameliorare din centrele de cercetare din Krasnodar, Armavir, Odessa, Fundulea ș.a. Genele care conferă rezistență la rasele E, F, G și la cele mai recente forme au fost identificate la anumite specii sălbatice ale genului

*Helianthus* și au fost încorporate în genotipurile de floarea-soarelui cultivate prin hibridare intraspecifică.

*Helianthus tuberosus* – o specie sălbatică de floarea-soarelui, a fost prima plantă utilizată drept sursă de rezistență la lupoai de Zdanov L. în anii 1930 [37]. Ulterior, savantul Galina Pustovoit și echipa sa, la realizarea soiurilor de floarea-soarelui prin hibridare intraspecifică, au adus o mare contribuție în acest domeniu, folosind în calitate de donator al genelor *Or* *Helianthus tuberosus*. Aceste varietăți au fost folosite la identificarea genelor *Or* 5 și *Or* 6 care și-au primit confirmare datorită studiului efectuat de Venkov V. și Shindrova P. prin testarea a șase soiuri de floarea-soarelui rezistente la rasele de lupoai existente în diferite zone ale Bulgariei [162]. Rezultatele studiului au prezentat varietățile rusești, Progress și Oktobar, varietatea bulgară, Vega și hibridul românesc, Sorem 80 ca soiuri rezistente la cele mai recente rase de *O. cumana* (D și E) descoperite în Bulgaria la acel moment.

Ruso și colab. au testat speciile sălbatice de floarea-soarelui pentru determinarea rezistenței la trei rase virulente de *Orobanche* concluzionând că toate genotipurile perene au prezentat rezistență stabilă la toate genotipurile parazitului. În plus, una din speciile anuale sălbatice și liniile obținute prin hibridare interspecifică, de asemenea, au manifestat rezistență față de atacul cu lupoai [155].

Sukno S. și colab. au încrucișat specii sălbatice de floarea-soarelui (*H. resinosus*, *H. pauciflorus*, *H. laevigatus*, *H. nuttalli*, *H. giganteus*, etc.) cu genotipuri de floarea-soarelui cultivată și au obținut plante din generațiile F<sub>1</sub> și BC<sub>1</sub>, F<sub>2</sub>, precum și câteva din BC<sub>2</sub>. Toate speciile sălbatice, cu excepția speciei *H. nuttalli*, și hibridii interspecifici s-au dovedit a fi rezistente la infestarea cu lupoai, indicând că rezistența este determinată de gene dominante.

Un grup de cercetător, a descris procedura și rezultatele transferului de gene, pentru rezistența la lupoai din speciile perene de floarea-soarelui sălbatică, la genotipurile de floarea-soarelui cultivate. În studiu au fost implicate trei populații spaniole de *O. cumana* Wallr., rezultatele evaluării indicând că două din acestea puteau fi controlate de gene *Or5*, în timp ce a treia era o populație mai virulentă, rasa F [168].

Privind rezistența la rasa virulentă F de lupoai au fost testate 54 de populații de floarea-soarelui, forma sălbatică, și 55 de soiuri de floarea-soarelui cultivate. Majoritatea speciilor sălbatice perene s-au dovedit a fi pe deplin rezistente la rasa F, excepție constituind doar unele populații din patru specii care au prezentat susceptibilitate. Printre speciile anuale sălbatice, *H. anomalus* și *H. agrestis* au fost complet rezistente, în timp ce *H. debilis* ssp *cucumerifolius* și *H. exilis* au manifestat rezistența diferită la *Orobanche*. Pentru a încorpora genele de rezistență la rasa F din câteva specii sălbatice în floarea-soarelui cultivată, Jan C. și Fernandez – Martinez J. au folosit hibridarea interspecifică. Transferul genelor de interes a fost facilitat prin utilizarea

culturii de embrioni și dublarea cromozomială cu colchicină. Genotipurile nou dezvoltate posedau rezistență la rasa F care a fost controlată de o singură genă dominantă [101].

Modul în care rasele de lupoaie au evoluat, în timp, de la rasa A la F în Spania este relevat în lucrările lui Melero–Vara J. și colab., care au descoperit că genotipurile de floarea-soarelui cultivate au o frecvență scăzută a genelor care controlează rasele E și F, în timp ce din cele 18 specii anuale care au fost studiate numai *H. agrostis* și *H. anomalus* au prezentat rezistență totală. Printre speciile perene sălbatice implicate în studiu, 74% din specii erau în totalitate rezistente la rasele E și F în timp ce 11% au segregat referitor la rezistența la rasa F. Analiza genetică a arătat că rezistența la rasele A până la E este pe larg controlată printr-o singură genă dominantă. În unele cazuri a fost relevată rezistența determinată de două gene dominante, constatându-se interacțiunea epistatică [131].

Jan C. și colab. au încrucișat speciile sălbatice de floarea-soarelui *H. maximilianii*, *H. grosserratus* și *H. divaricatus* cu formele cultivate și au realizat patru populații (BR1- BR4) rezistente la rasa F în Spania [102]. Potrivit lui Fernandez–Martinez J. și colab., cercetările cu privire la rezistența germoplasmei de floarea-soarelui la diferite rase de lupoaie au arătat că speciile sălbatice de *Helianthus* sunt sursa principală de rezistență la rasele noi virulente ale acestui parazit [84].

Rezultate importante în identificarea genelor de rezistență la lupoaie, în speciile sălbatice ale genului *Helianthus* și încorporarea lor în genotipurile de floarea-soarelui cultivată au fost obținute de Christov M. și colab. S-au efectuat experimente ce au avut drept scop detectarea genelor *Or* la 11 specii de floarea-soarelui perenă, sălbatică și introducerea acestor gene, prin hibridare interspecifică, în liniile de elită. Pentru obținerea surselor de rezistență la lupoaie este folosită inclusiv tehnica mutagenezei induse [65, 147].

Nu pot fi neglijate complet ca sursă de gene pentru rezistența la lupoaie și genotipurile de floarea-soarelui cultivată, în special, cele obținute prin hibridarea interspecifică. O clarificare și un aport deosebit în procesul de ameliorare a rezistenței florii-soarelui la lupoaie este adus de markerii moleculari folosiți tot mai des în ultimii ani.

#### 1.4. Metode folosite pentru evaluarea rezistenței la atacul parazitului *O. cumana*

Pentru a atinge obiectivele de ameliorare privind rezistența la lupoaie, amelioratorii trebuie să adopte o strategie de ameliorare, să decidă asupra metodei de ameliorare folosite, să asigure existența surselor de germoplasma necesară, precum și liniile diferențiatore pentru identificarea raselor de lupoaie, să selecteze o metodă de inoculare adecvată și markerul molecular (MAS).

Intru a asigura succesul programului, calea cea mai eficientă constă în selectarea unei linii de elită și încrucișarea acesteia cu o sursă de gene *Or*, care apoi să fie încorporate în materialul de ameliorare folosind anumite tehnici pentru a crea variabilitate genetică nouă. La începutul programului sunt necesare cunoștințe detaliate privind sursa de germoplasmă, determinată de hibridi, linii, soiuri omologate în zona, regiunea plasării experimentelor. Pentru a cunoaște la care dintre rasele patogenului este rezistent materialul ameliorativ supus trierii, în experiențe se includ inclusiv linii diferențiatore cu rezistență stabilită și cunoscută pentru o anumită rasă a parazitului. Un set de linii diferențiatore pentru rasele A, B, C, D și E de lupoaie a fost propus de către savantul Vrânceanu A. și colab. [178] în timp ce Păcureanu–Joița M. și colab. [142] au identificat o astfel de linie pentru rasa F. Cu toate acestea, nu există linii diferențiatore pentru rasele noi, virulente ale acestui agent patogen care au apărut în ultimii ani.

Una dintre metodele de testare a materialului ameliorativ folosită de cercetătorii în domeniul studiului florii-soarelui se rezumă la cultivarea genotipurilor analizate în câmp, pe parcele puternic infestate cu lupoaie. Deși este destul de eficientă, această modalitate nu este suficient de exactă, datorită influenței factorilor de mediu și a cantității necunoscute de semințe ale patogenului în sol. În efortul de a depăși această situație, amelioratorii au recurs la colectarea semințelor de lupoaie și introducerea direcționată în materialul semincier de floarea-soarelui preconizat pentru semănat în câmp. Pentru evitarea unor erori experimentale determinate de influența factorilor de mediu din câmp și obținerea rezultatelor de o acuratețe mult mai mare experiențele se pot realiza prin introducerea semințelor de lupoaie în containere umplute cu mediu preparat (sol+câteva alte substanțe nutritive) și plasarea acestora într-un mediu controlat al camerei de creștere, sau în seră.

Totodată, capătă amploare implicarea markerilor moleculari în lucrările de selecție a genotipurilor rezistente. Astfel, Panchenko A. a realizat analiza rezistenței la lupoaie în condiții de seră: toamna și iarna prin metoda *screening*-ului molecular [38]. Mai târziu această metoda a fost folosită de Grezes-Besset (Rustica Prograin Genetique) care a efectuat testări folosind eprubete de plastic pentru testare, ca parte a procedurii. Avantajul acestei tehnici constă în conferirea unui nivel ridicat de fiabilitate, ceea ce face posibilă testarea unui număr mare de genotipuri într-o perioadă scurtă de timp. Labrousse P. și colab., au elaborat o metodă nouă, bazată pe cultura hidroponică care dă rezultate de excepție [113]. Totuși, metoda cea mai sigură

și cel mai ușor de aplicat pentru *screening*-ul materialului de ameliorare rezistent la lupoae este folosirea markerilor moleculari, markerii QTL, RFLP, RAPD, TRAP și SSR fiind folosiți cu succes în acest scop.

Studiul molecular în scopul diferențierii și caracterizării raselor de lupoae, se dezvoltă tot mai rapid în ultimele decenii. Astfel, pentru caracterizarea raselor de lupoae a fost utilizată metoda RFLP [130]. Cercetările savantului Lu Y. și colab. au constatat existența unui grup înlănțuit care conține gena *Or5*, ce conferă rezistență la *O. cumana* Wallr. rasa E, confirmând că acest grup ar putea fi integrat în grupul de înlănțuire 17, al cartării GIE Cartisol RFLP [121]. Conform lui Tang S. și colab. gena *Or5* a fost cartată la sfârșitul grupului LG3 distal, prin markeri de izolare [171].

Perez-Vich B. și colab., au analizat la nivel molecular rezistența liniei P-96 la rasele E și F ale parazitului. În baza unei reprezentări conexe, care cuprinde 103 markeri de izolare distribuiți pe 17 grupe de legătură, s-a determinat că numai cinci QTLs (*or1.1*, *or 3.1*, *or 13.1*, și /*or 13.2*) au fost responsabili de rezistența la rasa E, în timp ce doar șase QTLs (*or1.1*, *or 4.1*, *or 5.1*, *or 13.1*, *or13.2* și /*or 16.1*) controlează rezistența la rasa F, fiind identificați în șapte dintre cele 17 grupe de lincaj. Astfel, rezultatele obținute sugerează faptul că rezistența florii-soarelui la lupoae este controlată combinat prin rezistența calitativă specifică a rasei și cea cantitativă, prezentată de rezistență nespecifică rasei, care afectează numeric tulpinile de lupoae per plantă [146].

Iuoras M. și colab. au folosit tehnica RAPD și SSR pentru detectarea rezistenței la lupoae și au constatat că markerii RAPD: USG 73, UBC 318, UBC 264, UBC 685 și OP- A17 și markerii SSR: ORS 1:14 și ORS 1063 pot fi utilizați cu succes în acest scop [99]. A fost stabilită o asocierie puternică între markerii SSR a grupului de linkage LG3 cu genele de rezistență *Or6*, *Or4* și *Or2* [97].

Marquez-Lema A. și colab. au folosit markerii TRAP și SSR pentru gena *Or5* [127]. Un studiu făcut de Joel D. și colab., confirmă importanța markerilor moleculari pentru studiul rezistenței florii-soarelui la lupoae. Ei au descoperit că ADN-ul extras din semințele de lupoae din sol este identic cu ADN-ul din materialul vegetativ al plantei, ceea ce facilitează realizarea analizei genetice rapide, fără contribuția proceselor de germinare, dezvoltare și creștere a plantelor-parazit [106, 107].

Este foarte important să fie cunoscute toate mecanismele rezistenței la lupoae (fiziologic, biochimic, mecanic etc.) pentru a putea să înțelegem toate aspectele acestui fenomen și a facilita selecția formelor rezistente. Mecanismele de rezistență au fost studiate timp îndelungat. Astfel, Morozov V., citează rezultatele lui Richter care indică faptul, că floarea-soarelui sensibilă la lupoae are sistemul radicular cu pH scăzut. Același autor a descoperit că lupoai din regiunea Saratov, Rusia (rasa A) avea două praguri fiziologice: unul în solurile acide până la care

semințele de lupoaie germinează ușor și unul în solurile alcaline dincolo de care varietățile sensibile devin rezistente și nu are loc nici o infestare cu lupoaie [37].

Morozov V. a vorbit inclusiv despre rezultatele lui Suhorukov cu privire la legătura dintre valorile activității peroxidazei și susceptibilitatea florii-soarelui la lupoaie [39]. Mult mai târziu, Antonova T. a arătat că acțiunea peroxidazei secretată de parazit a fost implicată în procesul de lignificare a celulelor gazdă [54]. Antonova T. și Ter Borg S. au raportat că diferențele producției de peroxidază pot fi folosite pentru interpretarea virulenței diferite a raselor A și B, precum și explicația pentru interacțiunea genă pentru genă între floarea-soarelui și lupoaie [55].

Un șir de cercetători au evidențiat importanța stimulenților de germinare a plantelor de *Orobanche*, cei mai cunoscuți stimulenți fiind strigolul, electrolul, orobancholul, compuși analogi și stimulentele sintetice GR24 [70, 116, 118].

Matusova R. și colab. au argumentat impactul stimulenților de germinare, susținând că semințele plantelor parazite sunt foarte sensibile pentru o perioadă relativ scurtă la stimulentele GR24 [129]. Honiges A. și colab. notează existența genotipurilor de floarea-soarelui care pot fi caracterizate ca corespondente la stimulente sau inhibitori de germinare pentru lupoaie [95, 179]. Pustovoi G., Honiges A. și colab. atribuie barierelor mecanice un rol esențial în cadrul proceselor de rezistență la lupoaie [43, 95]. Labrousse P. și colab. formulează diferite criterii ce precizează rezistența la lupoaie și diversitatea mecanismelor de rezistență [112-114]. Astfel, s-a constatat prezența a trei tipuri de rezistență la lupoaie:

- rezistență care acționează la stadiile incipiente de dezvoltare a lupoaiei (*H. debilis ssp. debilis*), atunci când semințele parazitului sunt prezente pe rădăcina florii-soarelui în stare încapsulată, și blochează penetrarea țesuturilor gazdei;
- rezistență depistată la linia LR1, care implică două tipuri de acțiune: I – reducerea procesului de germinare a lupoaiei (de cca trei ori comparativ cu linia susceptibilă 2603) și II – necroza spontană a tuberculelor la faze incipiente de dezvoltare a parazitului;
- rezistență identificată la etape tardive de dezvoltare a lupoaiei în linia 92 B6, determinată de necroza ce se produce anterior perioadei de înflorire a lupoaiei.

Controlul genetic al rezistenței la lupoaie, poate fi combinat cu introducerea în genotipurile de floarea-soarelui cultivată a genelor pentru rezistență la ierbicide care au în componența sa imidazolinona, fiind eficiente în combaterea acestei plante parazite.

## 1.5. Concluzii la capitolul 1

*O. cumana* Wallr. prezintă un parazit extrem de periculos pentru floarea-soarelui ce afectează esențial producția de semințe și ulei. Cunoașterea zonelor infectate de parazit, a virulenței acestuia și arealului de răspândire a raselor existente, are importanța deosebită pentru obținerea de hibridi comerciali de floarea-soarelui rezistenți și elaborarea recomandărilor privind zonarea lor.

Testarea germoplasmei disponibile de floarea-soarelui privind rezistența la lupoaie prezintă interes semnificativ în vederea identificării surselor de rezistență, precum și pentru cunoașterea comportamentului diferiților hibridi comerciali sau de perspectivă la atacul parazitului.

Studiul diferitor elemente de productivitate a culturii de floarea-soarelui în condiții de infestare, comparativ cu valorile indicilor de productivitate înregistrate în zone neinfestate, poate oferi informații valoroase despre impactul lupoaiei asupra producției de semințe și, respectiv, ulei, pentru hibridi individuali de floarea-soarelui.

În contextul celor expuse, *problema de cercetare* rezidă în 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 hibridilor rezistenți.

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

- 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 hibridi experimentali și comerciali de floarea-soarelui privind rezistența la lupoaie;
- studiul influenței atacului cu lupoaie asupra indicilor de productivitate la floarea-soarelui.

## 2. MATERIALE ȘI METODE DE CERCETARE

### 2.1. Material biologic

În calitate de material biologic au fost utilizate 128 de genotipuri de floarea-soarelui din Republica Moldova și România, inclusiv 43 hibrizi comerciali și experimentali, 20 specii sălbatice și 65 linii consangvinizate. Liniile au fost selectate din cele ce prezintă o serie de caractere agronomice superioare, dar și linii care au fost testate în vederea rezistenței la atacul diferitor populații ale parazitului lupoaia, ce vor putea fi utilizate ca surse de gene de rezistență. Astfel, s-au studiat 36 de linii de floarea-soarelui tip *CMS* (linii androsterile citoplasmatic) și 29 de linii tip *Rf* (restauratoare de fertilitate).

Printre hibrizii comerciali evaluați se enumeră hibrizii Dacia, Zimbru, Codru, Doina, creați de compania AMG Agroselect cu contribuția autorului și omologați în Rusia, Ucraina, Moldova Belarus, Kazahstan (Figura 1-7 din Anexă). Descrierea unor din cele mai importante genotipuri (hibrizi și linii) evaluate se prezintă, după cum urmează:

- Favorit – hibrid semitardiv, prezent în toate zonele de cultură a florii-soarelui. Prezintă talie înaltă, producția de semințe fiind în jur de 3700 kg/ha, cu un conținut de ulei în jurul a 49-51%. Este un hibrid semitardiv, rezistent la boli și la atacul parazitului *O. cumana* Wallr.

- Codru – hibrid semitardiv, cu o capacitate productivă înaltă, peste 3850 kg/ha, conținutul de ulei fiind în jurul valorilor de 50-53%, talie mijlocie, prezintă rezistență medie la atacul agenților patogeni.

- Doina – hibrid cu o producție de circa 3800 kg/ha, cu un potențial de randament al uleiului de 50-54%. Prezintă talie medie, calatidiu dens, bine acoperit de semințe, rezistență la atacul agenților patogeni și la cădere.

- Performer – răspândit în toate zonele favorabile de cultură. Asigură o producție de semințe de 3500-4000 kg/ha, randamentul de ulei fiind de 50-53%. Este un hibrid semitardiv, cu talie înaltă, tulpina viguroasă, rezistentă la frângere și boli criptogamice. Are un calatidiu de mărime mijlocie, bine acoperit de semințe.

- Zimbru – hibrid de talie mijlocie, încadrat în grupa hibrizilor semitardivi, capacitate de producție ridicată de 3500-4000 kg/ha, conținutul de ulei fiind cuprins între 48-53%. Posedă rezistență la boli și secetă.

- Dacia – hibrid semitardiv, talie mijlocie, productivitate bună, asigurând o producție în jurul valorii de 3500 kg/ha, cu 48-54% de ulei în sămânță. Manifestă rezistență la secetă și principalele boli criptogamice ale florii-soarelui.



- HS-5034 – hibrid semitardiv ca perioadă de vegetație, talie medie sau/și înaltă. Potențialul productiv al hibridului este situat în jurul valorii de 3700 kg/ha, conținutul de ulei în semințe prezintă 50-52%, posedă o bună rezistență la atacul principalelor boli ale florii-soarelui.

- HS-4723 – hibrid cu o talie mijlocie, semitardiv, cu o capacitate de producție de peste 4000 kg/ha, conținut de ulei de 48-52%. Calatidiul se caracterizează prin mărime medie spre mare, cu un diametru sec al acestuia destul de mic (procent ridicat de semințe pline). Prezintă o rezistență la principalele boli ale florii-soarelui și la secetă.

- AC-434 – linie semitardivă, capacitate productivă de aproximativ 2300 kg/ha, 48% conținut de ulei, calatidiu de mărime medie.

- AC-489 – linie semitardivă, capacitate de producție de 3500-3600 kg/ha, cu un conținut de ulei de 34%. Este de talie mijlocie, cu un calatidiu mare, convex.

- MS-2067 – linie semitardivă, de talie mijlocie sau/și mică, cu un calatidiu mijlociu, rășfrânt, capacitate de producție de 2300 kg/ha și un randament al conținutului de ulei de 41%.

- MS-2185 – linie semitardivă, de talie mijlocie, calatidiul mic, spre mediu, convex. Capacitate productivă este de 2800 hg/ha, conținutul de ulei în achene – de 45%.

- MS-2075 – linie de talie mijlocie, cu calatidiu convex, de mărime mijlocie. Prezintă o bună capacitate de producție, cca 2700 kg/ha, cu un conținut de ulei de 42%.

- AC-508 – linie de talie medie, capitul de mărime medie și/sau mică. Genotipul manifestă rezistență redusă la atacul de *Phoma macdonaldi*. Capacitatea de producție este în jurul a 2500 kg/ha, conținutul mediu al producției de ulei – de 43%. Linia a fost oferită de Institutul Național de Cercetare-Dezvoltare Agricolă Fundulea (INCDA Fundulea).

- AC-678 – linie de talie mijlocie, cu un calatidiu de mărime mijlocie-mică. Producția de semințe este de 2900-3100 kg/ha, cea de ulei – de 43-49%.

- RF-732 – linie oferită de INCDA Fundulea, caracterizată prin talie medie, calatidiu mijlociu, convex. Linia este rezistentă la atacul agentului patogen *Phomopsis helianthi*. Capacitatea de producție este bună, realizând 2300-2400 kg/ha, cu un conținut de ulei de 42%.

- RF-845 – linie de talie medie, cu un calatidiu la fel de mărime medie, acoperit uniform cu semințe (diametrul sec foarte mic). Este o linie ce formează ramificații, cu o capacitate de producție estimată în jurul a 900 kg/ha, randamentul uleiului în sămânță constituie 44 la sută.

- LC-1093 – linie de talie medie, calatidiu de dimensiuni medii spre mari. Are o bună capacitate de producție, realizând în medie 2300-2400 kg/ha, conținutul de ulei fiind de aproximativ 41%, rezistentă la *O. cumana* Wallr.

- LC-1003 – linie semitardivă, cu talie medie, calatidiu de asemenea mediu, uniform. Capacitate de producție constituie 2200-2300 kg/ha, cu 38% de ulei în sămânță.

Liniile și hibridii de floarea-soarelui prezentați mai sus au fost testați în diverse condiții de cultură (pe fon de infecție, cu diferită intensitate și în lipsa acesteia) pentru evidențierea influenței atacului parazitului asupra unor caracteristici de productivitate ale culturii, dar și pentru identificarea genotipurilor de floarea-soarelui cu diferite grade de rezistență la atacul lupoaiei.

Hibridii Favorit, PR-1 și Performer, cu diverse grade de rezistență la atacul parazitului lupoaia (Favorit - rezistent la rasele A-F; PR-1 – rezistent la rasele cele mai virulente, G și H; Performer – hibrid sensibil) au fost utilizați în calitate de martor în experiențele de câmp și în cadrul testelor efectuate în laborator.

Pentru studiul virulenței diferitor populații de lupoaie s-a folosit setul diferențiator pentru rasele parazitului, de la rasa A la rasa F, precum și hibridi comerciali cunoscuți ca rezistenți la diferite rase.

Semințele de lupoaie folosite în realizarea experiențelor în condiții de infestare artificială au fost recoltate din câmpuri infestate, din diverse localități sau zone geografice. În fiecare localitate probele de lupoaie au fost colectate de pe diferite genotipuri de floarea-soarelui dintr-un singur câmp, fiind ulterior amestecate.

## **2.2. Metode de cercetare**

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.

**Experiențele în câmp** s-au efectuat după metoda blocurilor randomizate, în 3 repetiții a câte șase rânduri distanțate la 70 cm X 35 cm. Testarea pentru rezistență la lupoaie, în condiții de infestare naturală, s-a realizat în câmpuri infestate din zone caracterizate prin prezența populațiilor parazitului, cu grade diferite de virulență, precum și în unele câmpuri neinfestate, din aceleași zone agricole.

**Condițiile de cultivare.** S-a aplicat tehnologia pentru câmpurile de experiență, ce a constat în efectuarea unei arături adânci toamna și administrarea a 300 kg/ha superfosfat pe agrofond, pregătirea patului germinativ prin discuire primăvara, cu administrarea a 200 kg/ha azotat de amoniu și ierbicidarea preemergentă. Semănatul s-a realizat după tehnica experimentală,

asigurându-se o densitate de 43000 plante la hectar. Cultura a fost întreținută prin două prașe mecanice, urmate de două prașe manuale în completare.

Lucrările, în condiții de infestare artificială, s-au realizat în **casa de vegetație**. Metodele de testare în condiții de infestare artificială au fost diferite, în funcție de scopul urmărit. Astfel, pentru simpla testare, în vederea determinării gradului de rezistență al genotipurilor, s-au utilizat cutiile din lemn, cu dimensiuni de 1,0 : 0,5 : 0,01 m, în care s-a introdus un amestec de pământ cu nisip (50 :50), acesta fiind amestecat cu 500 grame de nisip, care la rândul său a fost foarte bine amestecat cu 5 grame de semințe de lupoaie. În aceste cutii, la 10 cm distanță, s-au semănat 9 rânduri de floarea-soarelui. În vederea evidențierii incidenței atacului parazitului, la 32 zile după răsărirea plantelor de floarea-soarelui, acestea au fost scoase de pe rânduri, rădăcinile au fost spălate și examinate pentru a calcula numărul de tuberculi de lupoaie pe fiecare plantă.

Pentru testarea, selectarea și studiul diferitor populații ale parazitului, s-au folosit **vase de vegetație** cu capacitatea de 10 litri, în care s-a introdus amestec de pământ cu nisip, infestat cu 0,5 grame de sămânță lupoaie, amestecată cu nisip, în proporție de 1 : 9. Gradul de atac cu lupoaie a fost evaluat în conformitate cu apariția lăstarilor parazitului la suprafața solului (Figura 2.1).



Fig. 2.1. Testarea rezistenței la lupoaie în condiții de infestare artificială în vase de vegetație.

Incidența lupoaiei a fost evaluată prin aprecierea frecvenței (F%), intensității (I%) și gradului de atac (G.A%) [108].

**Frecvența infecției** (%) a fost apreciată în baza raportului dintre numărul de plante afectate de lupoaie și numărul total de plante analizate, conform formulei

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

unde: N = numărul de plante atacate; N<sub>t</sub> = numărul total de plante analizate.

**Intensitatea atacului (I%)**, care reprezintă numărul de lăstari de lupoaie per plantă de floarea-soarelui, calculat în baza raportului:

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

unde: a= numărul total de lăstari de *Orobanche*; N= numărul de plante atacate

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

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

**Selecția liniilor** cu rezistență la lupoaie s-a efectuat prin *back-cross* și selecția recurentă.

**Determinarea indicilor de productivitate.** Recoltarea s-a efectuat la etapa maturității fiziologice, pe parcele cu combina destinată câmpurilor experimentale, cântărind și evidențiind producția de semințe separat, după metodele utilizate în cercetare și raportarea la unitatea de suprafață.

Valoarea medie a înălțimii plantelor și a diametrului calatidiului s-a determinat în câmp, prin măsurări realizate la 10 plante din fiecare bloc și repetiție. Numărul mediu de semințe per calatidiu s-a apreciat prin numărarea tuturor semințelor pline din calatidiile a 10 plante, pentru fiecare bloc luat în studiu și fiecare repetiție, urmat de calculul valorii medii.

Masa a 1000 de semințe s-a determinat în laborator, prin numărarea a două probe a câte 500 semințe, cântărirea acestora, calculul mediei între probe și înmulțirea la doi, pentru fiecare genotip și repetiție. Masa hectolitrică s-a determinat prin cântărirea a 2 probe a unui volum de un litru de semințe cu ajutorul balanței, calculul mediei probelor pentru 10 plante din fiecare număr luat în studiu și fiecare repetiție.

**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 Academiei de Științe a Moldovei, utilizând metode bazate pe reacția de polimerizare în lanț (PCR).

**Screening-ul molecular al genei *Or5* în liniile de floarea-soarelui cu primeri specifici.** Eșantioanele de ADN s-au obținut din plantule de floarea-soarelui, amplificarea probelor de ADN s-a realizat cu primeri specifici SCAR (*Sequence Characterized Amplified Region*) - RTS05 pentru gena *Or5* (Tabelul 2.1.), ulterior s-a efectuat electroforeza tuturor probelor și analiza postelectroforetică a datelor obținute.

Tabelul 2.1. Primerii specifici SCAR utilizați pentru identificarea genei *Or5*

Primeri	Sucesiunea nucleotidică (5'→3')
<i>sens</i>	TGGTCGCAGATGGACGTGTGGGTG
<i>antisens</i>	GTCGCAGAGAGTGAGAGAGAGTGT

Amestecul de reacție pentru analiza SCAR are un volum de 15μl și următoarea componență: 6,3 μl H<sub>2</sub>O, 2 μl soluție tampon 10 X (Promega), 1,5 μM din fiecare dATP, dTTP, dCTP și dGTP = 1,5 μl, 0,2 μl GreenTaq-polimerază, 2 μl primer (*sens*), 2 μl primer (*antisens*), 1 μl matriță ADN. Proba martor conține toate componentele amestecului de reacție cu excepția ADN-ului. Amplificarea ADN-ului s-a realizat utilizând următorul program de amplificare (Tabelul 2.2.), care a fost setat în memoria termociclului automat GeneAmp® PCR System 9700 (*Applied Biosystems, USA*).

Tabelul 2.2. Programul de amplificare utilizat în analiza SCAR

Etapa	Temperatura	Timpul
<i>Predenaturare</i>	94°C	4 minute
<i>Denaturare</i>	93°C	1 minut
<i>Fixarea primerilor</i>	63°C	1 minut
<i>Elongare</i>	72°C	2 minute
<i>Extensie finală</i>	72°C	6 minute

} 30 cicluri

Temperatura de denaturare desface legăturile de hidrogen și separă cele două catene de ADN, conferindu-le rol de matrițe. Temperatura de hibridare, respectiv de fixare a primerilor, permite amorsoare să se atașeze la secvențele lor omoloage de pe matriță. Temperatura de extensie, asigură funcționarea optimă a Taq polimerazei, respectiv sinteza ADN-ului.

Pentru migrarea în gel de agaroză (1,5 %) în soluția tampon TAE, la tensiunea de 80 V în camera de electroforeză, s-a injectat un volum de 15 μl produs amplificare / probă, în godeurile gelului de agaroză. Gelul a fost vizualizat în camera UV și fotografiat. Pentru determinarea maselor moleculare relative ale produselor de amplificare au fost utilizați 1,5 μl de marker ADN standard 5000 pb Express DNA Ladder (*Thermo Scientific, SUA*).

**Analiza RAPD.** Estimarea variabilității genetico-moleculare a fost realizată prin analiza RAPD (*Random Amplified Polymorphic DNA*), tehnică rapidă de identificare a polimorfismului genomic [59]. Pentru analiză au fost utilizați nouă primeri arbitrari. Reacția PCR a avut loc într-un mediu de 15 μl cu următoarea compoziție: 50 ng ADN, 200 μM dNTP (*ThermoScientific*) de fiecare tip, 0,4 - 0,6 μM primer, 1 unități/ reacție Dream Taq DNA Polymerase (*ThermoScientific*), în soluție tampon corespunzătoare și 2,5 mM MgCl<sub>2</sub> (*Fermentas*). Testarea s-a realizat cu ajutorul amplificatorului GeneAmp PCR System 9700 (*Applied Biosystems*) cu

următorul program: 3 minute la 95<sup>0</sup> C – predenaturare, urmată de 35 de cicluri cu următorul profil de temperatură: 45 secunde la 95<sup>0</sup> C – denaturare; 1 minut la 34 - 36 <sup>0</sup>C - fixarea primerilor; 1 minut la 72<sup>0</sup> C – extensie și 5 minute la 72<sup>0</sup> C – extensia finală.

### **2.3. Metode statistice de calcul**

Prelucrarea statistică a datelor s-a realizat după Dospheov B. [36] și Ceapoiu N. [7], utilizând programul computerizat Microsoft Excel.

Pentru rezultatele obținute în urma investigațiilor au fost determinate: valoarea mediei aritmetice, varianța ( $S^2$ ), abaterea standard (s), coeficientul de variație (S%).

### **2.4. Concluzii la capitolul 2**

Pentru studii a fost selectat și descris un vast materialul biologic, care reprezintă resurse genetice valoroase utilizate în ameliorare, precum și hibrizi de perspectivă.

Metodele de cercetare și condițiile de cultivare utilizate corespund domeniului de investigație și se aplică pe larg în ameliorarea culturii atât în Republica Moldova, cât și în România.

Metodologia cercetării a inclus, alăturat metodelor tradiționale de studii, tehnici de analiză moleculară corespunzătoare tendințelor actuale de cercetare.

### **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.

Evaluarea materialului de ameliorare disponibil, în vederea identificării genelor de rezistență, se realizează în baza metodelor tradiționale, precum analiza reacției plantelor (frecvența, intensitatea și rata de atac) la parazit în condiții controlate (vase de vegetație, seră) sau/și naturale, în câmp [12, 26, 139, 142], dar și prin aplicarea tehnicilor moderne de biologie moleculară, care asigură rezultate într-o perioadă scurtă de timp, evitând experiențele laborioase [10, 11, 58, 76, 75, 98, 111].

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. Investigațiile au fost realizate la INCDA Fundulea, centru cunoscut la nivel internațional prin relevanța lucrărilor în domeniul ameliorării la floarea-soarelui, precum și în cadrul companiei AMG-Agroselect Comerț SRL. Analizele moleculare s-au efectuat în Centrul de Genetică Funcțională, UnAȘM.

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

După cum s-a menționat, cea mai eficace metodă de prevenire și combatere a parazitului florii-soarelui lupoaia (*O. cumana* Wallr.) este cultivarea hibridilor ce prezintă rezistență la atacul acestuia. În acest context, amelioratorii din diverse centre de cercetare, dar și companii private de creare a hibridilor depun eforturi considerabile în studiul evoluției raselor de lupoaie și

identificarea unor noi surse efective de rezistență la populațiile parazitului care devin din ce în ce mai virulente.

Primele soiuri rezistente au fost obținute în Rusia, în perioada 1912 – 1927 (Saratovskiy 169, Kruglik 41, Zelenka 10, Fuksinka 3). Aceste soiuri erau rezistente la rasa A, prima rasă descoperită de lupoaie. Cultivarea soiurilor menționate pe suprafețe întinse a dus la apariția unei noi rase de lupoaie, mult mai virulentă, rasa B. Soiurile Jdanov 8221 și Jdanov 8885, introduse în cultură în perioada 1934 – 1935, prezentau rezistență față de ambele rase (A și B) ale parazitului lupoaia.

Ulterior, la fel în Rusia, au fost create alte soiuri rezistente la cele două rase A și B, soiuri mai valoroase din punct de vedere al capacității de producție de semințe, dar și cu un conținut mai ridicat de ulei. Astfel de soiuri au fost: VNIIMK 8931, Smena, Peredovic, soiuri ce s-au cultivat și în țări din estul Europei.

Treptat, însă, aceste soiuri și-au pierdut rezistența la lupoaie, în cultură fiind introdus pe larg soiul românesc Record, creat la INCDA Fundulea, caracterizat prin capacitate mai ridicată a producției de semințe, comparativ cu soiurile rusești, precum și rezistență la toate rasele de lupoaie cunoscute la moment [30].

Primii hibridi de floarea-soarelui au reacționat diferit la atacul cu lupoaie, unii care la început au fost rezistenți au devenit ulterior sensibili, pe măsura apariției unor rase noi, mai virulente, fapt ce a dus la crearea de forme de floarea-soarelui cu rezistență sporită față de atacul acestui parazit. Cercetările efectuate în câmpuri puternic infestate au permis cunoașterea aprofundată a relației parazit-plantă gazdă, identificându-se noi rase de lupoaie C, D și E și sursele de rezistență, corespunzătoare [31]. Drept rezultat, a fost creat setul diferențiator pentru cele cinci rase ale parazitului, care este utilizat și în prezent de către cercetătorii ce activează în domeniu în toate țările unde este prezent parazitul în cultura florii-soarelui. Ulterior, după apariția în cultura florii-soarelui din România a unei noi rase de lupoaie denumită rasa F, setul diferențiator a fost completat cu diferențiatorul specific pentru rasa F [142].

Rezistența florii-soarelui la toate cele șase rase ale parazitului este controlată de o singură genă cu efect dominant, notată *Or*. Linia LC 1093 conține în stare homozigotă gena *Or6*, care controlează rezistența la toate cele 6 rase de lupoaie (A, B, C, D, E, F), rezistența la celelalte rase ale parazitului, A, A+B, A+B+C, A+B+C+D și A+B+C+D+E, fiind conferită de genele *Or1*, *Or2*, *Or3*, *Or4* și *Or5* (Tabelul 3.1.). Fiecărei gene de rezistență îi corespunde un tip de rezistență: R<sub>1</sub> – R<sub>6</sub>.

Timp de aproximativ 15 ani, după identificarea celor trei rase noi ale parazitului lupoaia (C, D și E), care au fost comunicate în 1981, parazitul nu a dezvoltat rase noi, mai virulente.



Tabelul 3.1. Rase de lupoai și gene de rezistență (Fundulea, 1981; 1998) [24]

Genotipuri diferențiatore	Rase de lupoai						Reacții de rezistență	Gene de rezistență
	A	B	C	D	E	F		
<b>AD-66</b>	S	S	S	S	S	S	R0	-
<b>Kruglik A-41</b>	R	S	S	S	S	S	R1	<i>Or<sub>1</sub></i>
<b>Jdanov 8281</b>	R	R	S	S	S	S	R2	<i>Or<sub>2</sub></i>
<b>Record, H-8280</b>	R	R	R	S	S	S	R3	<i>Or<sub>3</sub></i>
<b>S-1358, O-7586</b>	R	R	R	R	S	S	R4	<i>Or<sub>4</sub></i>
<b>P-1380-2</b>	R	R	R	R	R	S	R5	<i>Or<sub>5</sub></i>
<b>LC-1093</b>	R	R	R	R	R	R	R6	<i>Or<sub>6</sub></i>

R = rezistent; S = sensibil

În fiecare țară unde este răspândită lupoai, materialul de floarea-soarelui identificat ca fiind rezistent este folosit pentru a diferenția rasele locale de virulență. Pentru a ține sub control o eventuală apariție a unor noi rase, în fiecare an se fac testări ale setului diferențiator, cu populații ale parazitului, colectate din diferite zone infestate, în condiții de infestare artificială.

În tabelul 3.2 [24, 138] sunt prezentate rezultatele obținute în cadrul unui astfel de test, rezultate care au pus în evidență apariția celei mai răspândite rase a parazitului, rasa F, care se află în prezent, în toate zonele puternic infestate, pe suprafețe mari din Europa (Bulgaria, Moldova, România, Rusia, Serbia, Spania, Ucraina și Ungaria).

Când parazitul dezvoltă o populație mai virulentă, diferențiatorul pentru ultima rasă identificată până la momentul respectiv este atacat, inițial cu un grad mai scăzut, ulterior, pe măsura trecerii anilor, cu un grad din ce în ce mai ridicat. Astfel, în anul 1996, diferențiatorul pentru rasa E a parazitului, linia P-1380, a fost atacată în zonele Constanța, Brăila și Tulcea, iar în anul 1998 și în zona Ialomița, constatându-se apariția unei rase noi, rasa F a parazitului.

În anul 2006, într-o zonă din județul Tulcea puternic infestată cu lupoai și, prin urmare, cultivată cu hibrizi rezistenți la rasele parazitului prezente în regiune (E și F), toți hibrizii rezistenți au fost atacați de lupoai, unii având un grad de atac foarte scăzut (1,2-2,7%), alții un grad de atac mai ridicat (30 - 40%), iar altă parte de hibrizi – un grad de atac foarte mare (80 – 90%). Printre hibrizii cultivați în zonă au existat și câțiva total rezistenți, care ulterior, s-au dovedit a fi purtători ai unor gene de rezistență la populații mai virulente ale parazitului.

De menționat că actualmente studiile genetice ale parazitului sunt esențiale pentru a avansa cunoștințele asupra parazitului la un nivel similar cu cel al cunoștințelor despre genetica rezistenței florii-soarelui la *O. cumana*. Studiu privind moștenirea genelor de avirulență la lupoai au confirmat interacțiunea *genă-pentru-genă* în patosistemul floarea-soarelui -*O. cumana* pentru rasele E / F și gena dominantă *Or5* la floarea-soarelui [153], dar moștenirea genelor avirulente față de alte surse de rezistență la rasele cele mai virulente este încă necunoscută. O mai bună cunoaștere a rasei patogenului *O. cumana* prezintă interes pentru lucrările de

ameliorare. Din aceste considerente, o atenție deosebită a fost acordată studiului evoluției raselor de lupoai, cercetările fiind realizate în diverse regiuni din România caracterizate prin prezența parazitului cu diverse grade de virulență și dezvoltarea rapidă a acestuia în ceea ce ține de apariția unor rase noi ce depășesc barierele de rezistență ale plantei-gazdă.

Tabelul 3.2. Reacția unor diferențiatori de floarea-soarelui la atacul de lupoai (populații din diferite surse), în condiții de infestare artificială (1995-1998) [24]

Diferențiatori	Anul	Reacția la rasele de lupoai	Sursa semințelor de lupoai și gradul de atac (%)			
			Constanța	Tulcea	Brăila	Ialomița
<b>LC- 1093</b>		E-A	0,0	0,0	0,0	0,0
<b>P-1380-2</b>		E-A	0,0	0,0	0,0	0,0
<b>S-1358</b>		D-A	15,7	9,2	16,8	9,7
<b>Record</b>	1995	C-A	30,1	26,5	37,7	25,2
<b>Jd-01</b>		B-A	51,7	47,7	55,2	47,1
<b>K-A41</b>		A	69,1	63,5	62,5	64,1
<b>AD-66</b>		sensibil la toate rasele	77,2	72,5	69,5	69,7
<b>LC- 1093</b>		E-A	0,0	0,0	0,0	0,0
<b>P-1380-2</b>		E-A	3,8	2,6	3,9	0,0
<b>S-1358</b>		D-A	17,2	10,5	14,7	12,4
<b>Record</b>	1996	C-A	29,4	24,2	41,4	27,5
<b>Jd-01</b>		B-A	47,4	50,8	48,3	38,5
<b>K-A41</b>		A	57,2	49,4	59,2	29,5
<b>AD-66</b>		sensibil la toate rasele	78,5	68,7	71,7	60,3
<b>LC- 1093</b>		F-A	0,0	0,0	0,0	0,0
<b>P-1380-2</b>		E-A	5,4	4,3	5,5	4,7
<b>S-1358</b>		D-A	18,3	11,2	14,7	22,3
<b>Record</b>	1998	C-A	28,4	14,7	24,5	29,8
<b>Jd-01</b>		B-A	48,2	38,5	50,4	58,3
<b>K-A41</b>		A	49,1	57,6	61,3	57,4
<b>AD-66</b>		sensibil la toate rasele	69,2	77,7	70,9	78,5

Având în vedere situația existentă, în vara anului 2006, după maturizarea plantelor de lupoai din câmpurile în care au fost atacați hibridii de floarea-soarelui rezistenți, s-au recoltat semințele parazitului care au fost utilizate în efectuarea unor teste, în condiții de infestare artificială, la INCUDA Fundulea, în seră, în perioada decembrie 2006. Au mai fost utilizate și populații de lupoai din zonele Brăila, Ialomița și Constanța (Tabelul 3.3.) [141].

Pentru efectuarea testelor, s-au folosit diferențiatorii pentru rasele E și F ale parazitului lupoai, precum și alte două linii și alți doi hibridi (Favorit și Fundulea 225) din colecția INCUDA

Fundulea, dar și hibridii Tunca (compania Advanta) și PR64A83 și PR64A71 (compania Pioneer HiBred Seed).

Tabelul 3.3. Reacția la atacul de lupoaie, a diferitor genotipuri de floarea soarelui, Fundulea, 2006-2007

Floarea soarelui, genotipuri	Rezistența la rasele de lupoaie	Sursa de lupoaie			
		Ialomița	Brăila	Tulcea	Constanța
		Gradul de atac (%)	Gradul de atac (%)	Gradul de atac (%)	Gradul de atac (%)
P-1380-2	E - A	51,3	41,7	74,2	65,4
LC-1093	F - A	0,0	0,0	3,7	0,0
Favorit	F - A	0,0	0,0	2,9	0,0
AO-548	F - A	0,0	0,0	0,0	0,0
Tunca	F (G)	0,0	0,0	0,8	0,0
PM- 3242	F - A	0,0	0,0	3,9	0,0
F-225	F - A	0,0	0,0	4,2	0,0
PR64A83	(E)F	0,0	0,0	65,4	8,7
PR64A71	(G)H	0,0	0,0	0,0	0,0

Rezultatele testului arată că, diferențiatorul pentru rasa E a parazitului, a fost atacat în grad ridicat, în toate cazurile. Diferențiatorul pentru rasa F a parazitului lupoaia, a fost atacat doar în cazul populației de lupoaie, provenită din zona Tulcea.

Linia PM-3242 și hibridii Favorit și Fundulea (F) 225 au avut același comportament ca și linia LC 1093, diferențiatorul pentru rasa F a parazitului, fiind atacați doar în cazul populației de lupoaie din zona Tulcea.

Linia AO-548 a fost rezistentă în toate cazurile. Hibridul Tunca a fost atacat doar în cazul populației din zona Tulcea, dar în procent mult mai mic, comparativ cu diferențiatorul pentru rasa F.

Hibridul PR64A83 a fost atacat într-un grad foarte ridicat, în cazul lupoaiei din zona Tulcea, dar și în cazul lupoaiei din zona Constanța, într-un grad relativ mai scăzut.

Hibridul PR64A71 a fost total rezistent, în cazul tuturor populațiilor de lupoaie.

Faptul că diferențiatorul pentru rasa F a parazitului lupoaia a fost atacat în cazul populației de lupoaie provenită din zona Tulcea, demonstrează că în această zonă este prezentă o nouă populație, mai virulentă decât rasa F.

Faptul că într-o perioadă destul de scurtă (aproximativ 10 ani) parazitul a dezvoltat o nouă populație, mai virulentă, demonstrează că în ultimii ani evoluția raselor acestui parazit este destul

de rapidă, comparativ cu primii ani de apariție a primelor rase și continuând cu rasele E, respectiv F. Generalizând datele, evoluția raselor parazitului, în Europa de est, se prezintă în modul următor (Figura 3.1).

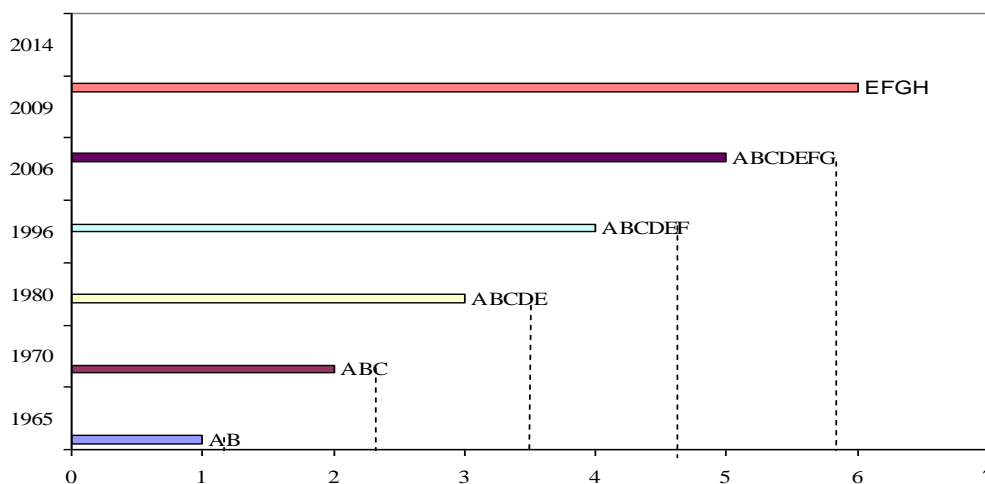


Fig. 3.1. Evoluția raselor parazitului lupoaia (*O. cumana* Wallr.), în cultura florii soarelui, în Europa.

Dacă în perioada 1960-1963 în cultura florii-soarelui în România au fost identificate 2 rase ale parazitului lupoaia (A și B), în perioada 1975-1980 au fost identificate încă 3 rase (C, D și E). După alți 18-19 ani, a fost identificată o nouă rasă, rasa F (în perioada 1996-1999) [30]. După numai 8-10 ani, a fost identificată (în anul 2006) o nouă populație a parazitului, foarte virulentă, care dezvoltă în perioade scurte (aproximativ după 3 ani) noi virulențe, fapt demonstrat de comportamentul hibrizilor rezistenți, cultivați în zonele infestate. În doar 3-4 ani hibrizii rezistenți la rasa G și-au pierdut treptat rezistența, astfel că, putem vorbi de o nouă rasă, rasa H.

Reieșind din cele expuse prezintă interes evaluarea periodică a virulenței populațiilor de lupoaie din diferite zone de răspândire a acestora. Determinarea raselor de *O. cumana* Wall. s-a realizat în condiții de infestare artificială în vase de vegetație. Ținând cont de faptul că experiențele efectuate în condiții de infestare artificială sunt primare în testările inițiale ale materialului de ameliorare și a hibrizilor creați unul dintre obiectivele cercetărilor a constat în optimizarea metodologiei de lucru. Astfel, se cunoaște că, un rol-cheie în procesul selecției formelor rezistente la infecția cu lupoaie este atribuit diagnosticării precoce a atacului parazitului, la fază timpurie de dezvoltare a plantelor de floarea-soarelui. Metodele de testare, utilizate până în prezent, permit evaluarea atacului cu lupoaie la 26-35 sau chiar 40 de zile după răsărirea plantelor gazdă, de aceea au fost realizate investigații axate pe identificarea unei metode care va permite diagnosticarea timpurie a patogenului.

Pentru cultivare au fost utilizate tuburi de plastic (12 cm × 20 cm), în care s-a introdus un amestec de humus, nisip și perlită în proporție de 3:1:1, plus sămânța de lupoaie (0,1 g). În acest

amestec, plantulele de floarea-soarelui se dezvoltă foarte bine într-un mediu cu carență de apă, astfel parazitul se atașează și se dezvoltă destul de rapid pe rădăcinile plantei gazdă.

În experiențe a fost inclusă linia de floarea-soarelui AD-66, foarte sensibilă la atacul parazitului. Planta gazdă a fost studiată în diverse faze de dezvoltare: 10, 26 și 43 zile după răsărire. S-a constatat că la faza de 10 zile după răsărire, se poate observa formarea nodulilor lupoaiei pe rădăcinile plantulelor de floarea-soarelui. La 26 zile după răsărire, numărul acestora crește considerabil (Figura 3.2), iar la 43 zile după răsărire, nodulii sunt foarte bine dezvoltați și numeric prevalează faza a doua.



Fig. 3.2. Genotip rezistent comparativ cu genotipul sensibil, testare prin metoda rapidă (26 zile de la răsărire).

Genotipurile rezistente pot fi selectate, prin transplantare în vase de vegetație (Figura 4.3) mai mari (găleți), în care de asemenea se adaugă amestec de pământ și semințe de lupoaie, ceea ce va permite, finalmente, evidențierea celor mai rezistente genotipuri.



Fig. 3.3. Aspecte ale testării rezistenței în condiții artificiale de infestare.

Putem concluziona că metoda elaborată poate fi folosită pentru evaluarea incidenței atacului parazitului la 10 zile după răsărire, în vederea trierii rapide a materialului de ameliorare

(un număr mare de genotipuri, într-un timp scurt), privind rezistența la atacul parazitului și stabilirea virulenței lupoaiei.

La faza ulterioară, în scopul studiului evoluției populațiilor de lupoaie au fost montate experiențe, în condiții de infestare artificială, ce au inclus un șir de genotipuri de floarea-soarelui (linii și hibrizi), printre care și diferențiatorii pentru D, E și F ale parazitului care au fost infectați cu semințe aparținând unor populații ale parazitului, colectate în vara anului 2012, din mai multe zone din România, cu grad variat de infestare. Datele sunt reflectate în tabelul 3.4.

Tabelul 3.4. 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 de lupoaie							
	Mircea Vodă (Brăila)	Cuza Vodă (Constanța)	Agighiol (Tulcea)	Valul lui Traian	Ștefan Vodă (Călărași)	Cetatea (Giurgiu)	Iazu (Ialomița)	Podu Iloaiei (Iasi)
	Grad de atac (%)	Grad de atac (%)	Grad de atac (%)	Grad de atac (%)	Grad de atac (%)	Grad de atac (%)	Grad de atac (%)	Grad de atac (%)
<b>AD-66</b>	87,4	79,7	89,3	88,5	67,5	55,4	64,3	55,7
<b>S-1358</b>	29,5	37,8	36,4	42,5	39,8	14,9	51,6	25,3
<b>P-1380</b>	18,7	27,7	29,6	31,5	28,6	0,0	44,3	0,0
<b>LC 1093</b>	2,0	33,7	49,4	37,2	0,0	0,0	0,0	0,0
<b>LC 101</b>	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
<b>LG 5661</b>	0,0	1,0	1,3	1,8	0,0	0,0	0,0	0,0
<b>PR64A71</b>	0,0	11,3	15,4	8,9	0,0	0,0	0,0	0,0
<b>Tunca</b>	0,0	24,7	27,9	12,8	0,0	0,0	0,0	0,0
<b>PR64G46</b>	0,0	2,0	1,7	0,9	0,0	0,0	0,0	0,0
<b>Favorit</b>	4,8	29,4	25,7	18,3	0,0	0,0	0,0	0,0

S-a constatat că noua populație foarte virulentă a parazitului *O. cumana* Wallr. s-a extins și în zona Constanța. Diferențiatorul rasei F, linia LC 1093, a fost atacat atât în zona Valul lui Traian, Constanța, cât și în zona Cuza Vodă, Constanța (grad de atac 33,7 %). Linia 1093 a fost atacată într-un grad mai scăzut (2,0%) și în cazul lupoaiei provenită din zona Brăila. În cazul lupoaiei din zona Tulcea, gradul de atac de 49,4 arată că în cazul noii populații de lupoaie apărută în anul 2006 în zona Tulcea, s-a intensificat gradul de atac și genotipurile de floarea-soarelui care au fost rezistente în această zonă în anii 2007 - 2010 au prezentat un anumit grad de atac (15,4 %, la hibridul PR64A71). Acest hibrid care a fost folosit în cazul populațiilor de

lupoaie din Turcia ca hibrid rezistent la rasa G, a fost atacat la testul realizat de populația parazitului provenită din zonele Valul lui Traian și Cuza Vodă, din județul Constanța.

Conform rezultatelor obținute, noua populație a parazitului nu s-a răspândit în zonele Călărași și Ialomița unde este prezentă rasa F și nicidecum în zonele Giurgiu sau Iași, unde putem vorbi doar de existența rasei E.

Faptul că hibridul PR64A71, a început să fie atacat într-un grad mai ridicat, de la un an la altul, demonstrează că în cadrul noii populații a parazitului, prezentă în zonele Tulcea și Constanța, există mai multe rase noi ale parazitului (cel puțin două), astfel, se poate afirma că parazitul a devenit extrem de virulent în ultimii ani, iar acest lucru se întâmplă și în cazul zonelor infestate din alte țări din Europa.

Se cunoaște că rasele fiziologice noi pot migra din zonele de înmulțire și diversificare genetică a parazitului extinzându-se pe noi teritorii. Craiciu D. și coautorii menționează că transportarea semințelor de lupoaie se face cu ajutorul păsărilor călătoare, a vântului, prin importul de semințe din alte țări etc. [8]. Respectiv, în investigațiile ulterioare, alături de populații provenite din diferite zone din Republica Moldova și România au fost studiate și populații ale parazitului originare din Turcia, Spania, Serbia și Rusia.

În tabelul 3.5. sunt prezentate rezultatele obținute în experimentul ce a inclus mai multe populații de lupoaie și diferențiatorii pentru rasele E, F și G ale parazitului. Au fost utilizate ambele forme (forma sterilă, A și forma menținătoare, B) ale liniilor diferențiatoare, iar în cazul rasei E și G, s-au utilizat inclusiv linii restauratoare de fertilitate, care au fost identificate ca fiind rezistente la aceste rase ale parazitului. Importanța acestui studiu este dată de faptul că la obținerea unui hibrid comercial de floarea-soarelui pentru producerea de sămânța sunt utilizate linia sterilă A și linia restauratoare R.

Din rezultatele obținute se constată că în cazul raselor E și F ale parazitului, numărul de plante de lupoaie pe o planta de floarea-soarelui este mai mare pentru linia B, la toate populațiile de lupoaie, iar în cazul liniei R, aceste valori sunt mai mici. Privind rasa G, numărul plantelor parazite raportate unei plante de floarea-soarelui este mai mare în cazul lupoaiei din România și din Turcia și mai mic la probele din Spania, pentru linia B, dar minim în cazul liniei R, în toate variantele.

Ținând cont de apariția unor noi populații, mai virulente, ale parazitului în multe zone din Europa au fost studiate, în condiții de infestare artificială, un șir de populații provenite din diferite zone ale unor țări, cunoscute prin prezența și evoluția rapidă a lupoaiei. Rezultatele acestor testări sunt prezentate în tabelul 3.6.

Tabelul 3.5. Numărul mediu al plantelor de lupoai (O. cumana Wallr.), pentru o plantă de floarea-soarelui, în cazul experimentului cu diferențiatorii pentru rasele E, F și G ale parazitului și cu populații de lupoai din diferite regiuni din Europa (infestare artificială)

<i>Orobanche cumana</i>					
Genotipuri diferențiatoare de floarea-soarelui	Serbia	R. Moldova	România	Turcia	Spania
Diferențiator pentru rasa E (linia A)	32,4	36,5	24,6	21,9	23,3
Diferențiator pentru rasa E (linia B)	39,5	41,7	29,5	24,4	25,2
Diferențiator pentru rasa E (linia R)	31,3	30,6	21,3	20,7	24,8
Diferențiator pentru rasa F (linia A)	0,0	8,4	18,7	22,4	24,2
Diferențiator pentru rasa F (linia B)	0,0	8,9	21,9	24,6	23,9
Diferențiator pentru rasa G (linia A)	0,0	0,0	2,4	17,5	1,9
Diferențiator pentru rasa G (linia B)	0,0	0,0	3,2	20,3	1,4
Diferențiator pentru rasa G (linia R)	0,0	0,0	1,7	12,9	1,5

Tabelul 3.6. Gradul de atac al parazitului lupoai în condiții de infestare artificială, cu populații provenite din diferite țări din Europa, Fundulea, 2013

Diferențiatori	Rase lupoai	Populații de lupoai							
		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

În cazul diferențiatorului pentru rasa F a parazitului, linia LC-1093, se constată că acesta a fost atacat, în proporție ridicată, în cazul populațiilor provenite din România (Tulcea și Constanța), Republica Moldova, Rusia (Stavropol, și două probe din Rostov, 1 și 2), Turcia și Spania, ceea ce demonstrează că în aceste zone putem vorbi de rase mai agresive decât rasa F a parazitului.

Hibridul de floarea-soarelui PR64A71 a fost atacat, în special, în cazul populațiilor din zonele Tulcea și Constanța (România), Rostov 1 și Rostov 2 (Rusia), precum și în variantele populațiilor provenite din Turcia. Deoarece acest inițial prezenta rezistență totală față de noua rasă mai virulentă (G), putem vorbi despre apariția unor mutații ale parazitului, în anumite zone.

În tabelul 3.7 sunt analizate, din punct de vedere al virulenței, populații de lupoai, provenite din zone în care nu fuseseră încă identificate noile forme foarte virulente.



Tabelul 3.7. Virulența populațiilor parazitului *O. cumana* în condiții de infestare artificială, Fundulea 2012.

Diferențiatorul	Rase de lupoai	Surse semințe de lupoai/ Grad de atac (%)				
		Brăila România	R. Sancev Serbia	Bălți Moldova	Radnevo Bulgaria	Jilin China
<b>S-1358</b>	D	47,3	31,4	39,5	45,4	24,8
<b>P-1380</b>	E	25,7	22,3	20,9	29,3	0,0
<b>LC-1093</b>	F	1,2	0,0	0,0	2,0	0,0
<b>PR64A71</b>	G	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0

Rezultatele obținute arată că diferențiatorul pentru rasa D și E a parazitului a fost atacat de majoritatea populațiilor, excepție constituind doar populația provenită din China, în cazul diferențiatorului pentru rasa E. Aceasta demonstrează că în cadrul populațiilor parazitului, în zonele infestate din China, cea mai virulentă rasă prezentă este rasa E.

Diferențiatorul pentru rasa F nu a fost atacat, cu excepția populațiilor provenite din zona Brăila, România și din Bulgaria, în cazul cărora, genotipul a prezentat un grad de atac de 1,2%, respectiv 2,0%, ceea ce indică asupra faptului că în unele zone cultivate cu floarea-soarelui, parazitul dezvoltă populații mai virulente decât rasa F.

Studiul populațiilor de lupoai, de proveniență diferită, cu diferențiatorii pentru rasele E și F, ale parazitului (Figura 3.4) a relevat că în cazul probelor din Serbia, Ucraina și Republica Moldova, diferențiatorul pentru rasa F nu a manifestat semne de infecție, deci putem constata că în aceste zone sunt prezente 6 rase. Populația de lupoai provenită din China nu a atacat nici diferențiatorul pentru rasa E și nici cel pentru rasa F, respectiv, aici nu sunt prezente mai mult de 5 rase.

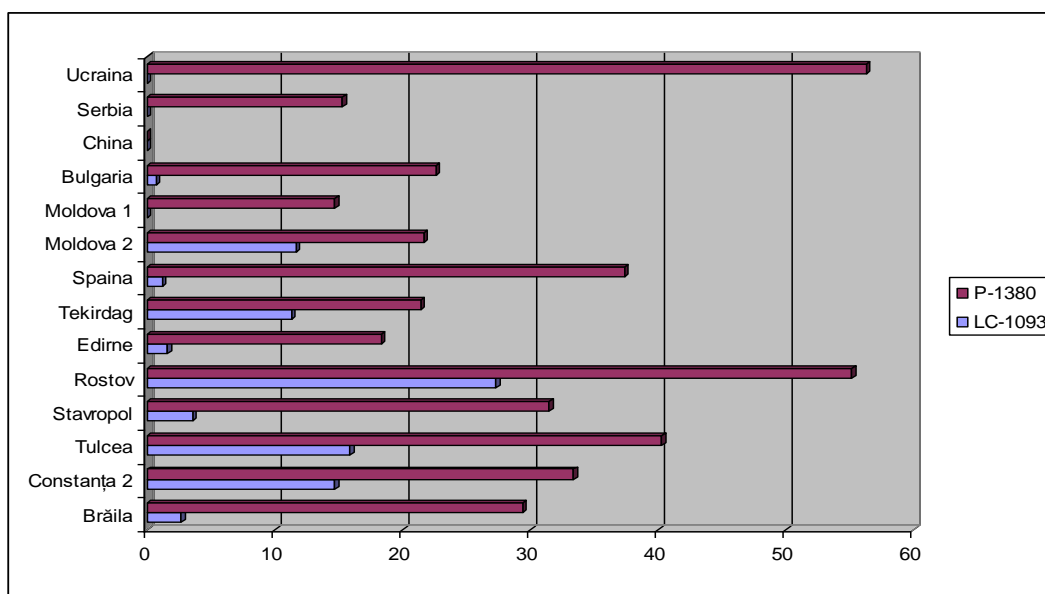


Fig. 3.4. Reacția diferențiatorilor pentru rasele E și F ale parazitului lupoai, la populații provenite din diferite țări.

În figura 3.5 sunt reflectate rezultatele studiului întreprins asupra diferitor populații de lupoaie și trei hibrizi de floarea-soarelui, ce atestă rezistență la rase mai agresive decât rasa F.

Se constată că hibridul PR64A71 este foarte mult atacat în cazul lupoaiei din Rostov, Rusia, Tulcea și Constanța – România, Tekirdag – Turcia și mai puțin în cazul lupoaiei din Spania, Stavropol - Rusia, Republica Moldova, Brăila, România și Bulgaria. Hibridul PR64G46 a fost atacat doar de lupoaia din Rusia-Rostov și Turcia - Tekirdag.

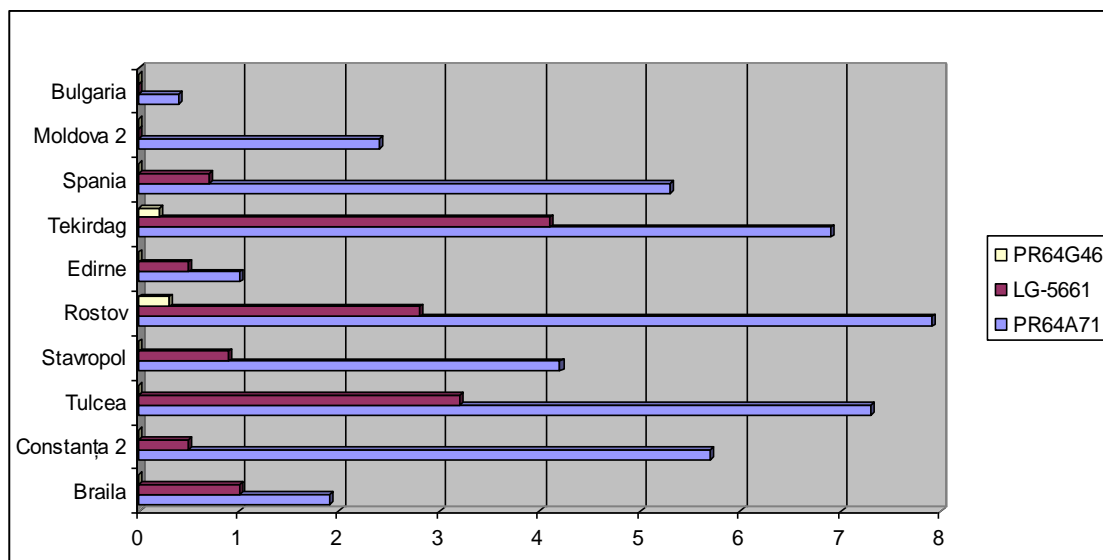


Fig. 3.5. Reacția unor genotipuri rezistente la rasele G și H ale parazitului lupoaia, la populații provenite din diferite țări.

Datele studiului ponderii raselor de lupoaie în cadrul populațiilor parazitului din trei zone infestate din România, prezentate în figura 3.6, evidențiază prezența raselor A, B, C și D, în proporție mai ridicată în zona Brăila. În ultimii ani au apărut rase noi, fiind fixată o pondere mai joasă a acestora în urma studiului.

Astfel, putem constata că virulența parazitului lupoaia a evoluat rapid în ultimii ani, hibridii cultivați pierzându-și rezistența. Populațiile noi de lupoaie devin mai virulente acaparând noi arealuri și substituind populațiile anterioare. Populațiile de lupoaie ale aceleiași rase ale parazitului diferă după intensitatea atacului în limita diferitor zone ale aceleiași țări. Virulența parazitului *O. cumana* se manifestă diferit, în cazul liniilor de floarea-soarelui androsterile, linia menținătoare (B) fiind mai mult atacată, comparativ cu forma sterilă (A).

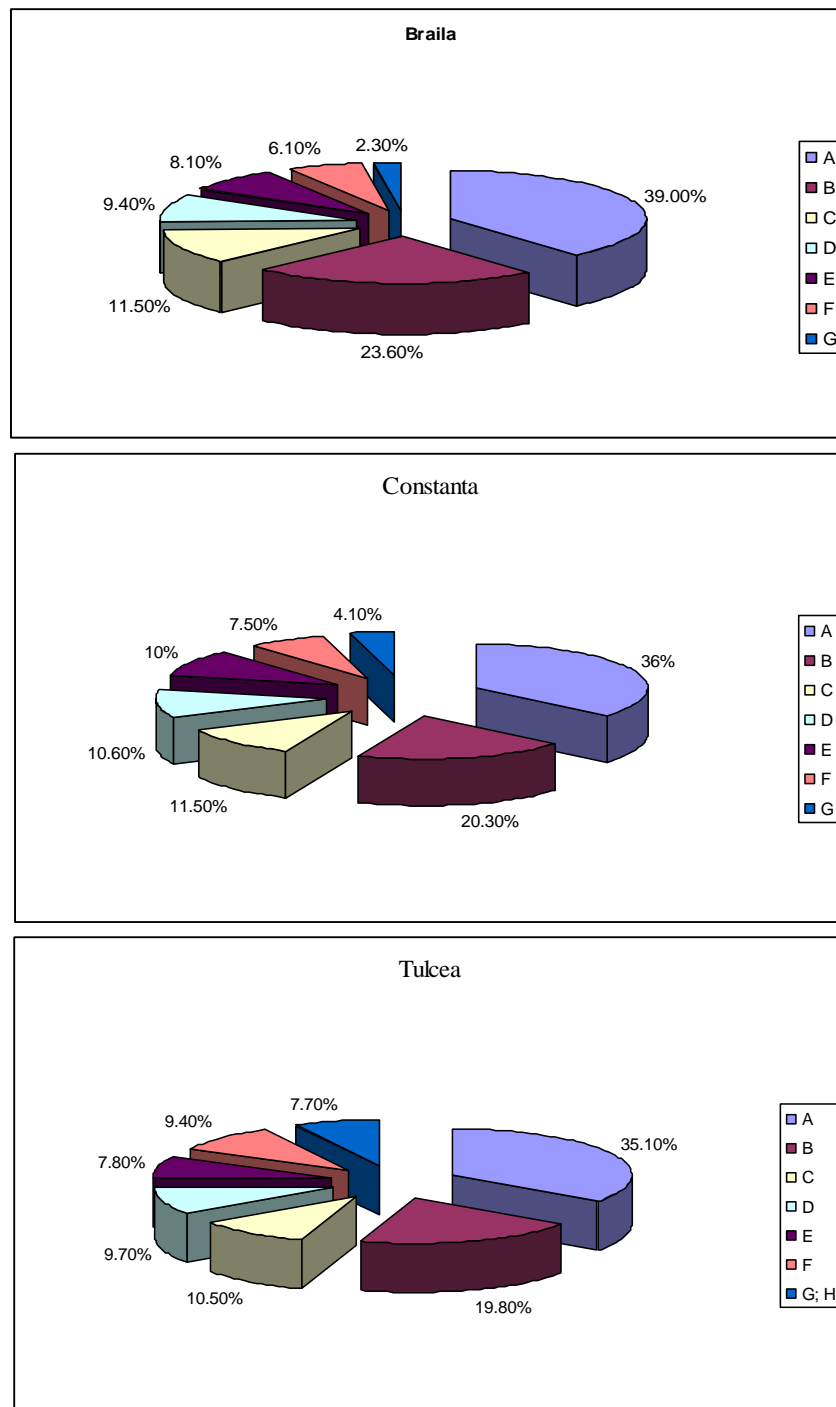


Fig. 3.6. Rata raselor de lupoaiie (*O. cumana*) din trei zone diferite, în anul 2012.

Populațiile noi, foarte virulente ale parazitului lupoaiia, sunt întâlnite în prezent în cultura florii-soarelui din România, Republica Moldova, Rusia, Spania și Turcia, ceea ce argumentează importanța pentru lucrările de ameliorare a studiilor permanente privind evoluția parazitului și identificarea 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 *Orobanche cumana* Wallr.

Este cunoscut faptul că în cadrul tuturor diferențiatorilor pentru rasele parazitului, inclusiv rasa F, genele de rezistență sunt de tip dominant, în rezistență fiind implicată o singură genă *Or*.

Pentru a cunoaște determinismul genetic în cadrul liniilor de floarea-soarelui selectate ca rezistente la noile rase, mai virulente ale parazitului, s-a studiat, în primul rând, reacția unor linii la atacul a două populații de lupoaie, una provenită din zone în care este prezentă rasa F a parazitului și cealaltă din zone unde s-au dezvoltat populații mai agresive.

Conform rezultatelor prezentate în tabelul 3.8, diferențiatorul pentru rasa F a parazitului, linia LC-1093, a fost atacată cu o frecvență de 100% în cazul populației mai virulente. Similar au fost atacate și alte linii care prezintă același tip de rezistență față de rasa F a parazitului. Liniile S-4465, P-547, S-101 și P-3034 au fost total rezistente.

Tabelul 3.8. Reacția a noua genotipuri de floarea-soarelui la atacul a doua populații de lupoaie

Linia	Populația I (rasa F)			Populația II (rasa G)		
	Nr. plante analizate	Plante atacate		Nr. plante analizate	Plante atacate	
		Nr.	%		Nr.	%
LC - 1093	80	0	0	42	42	100
P-4432	46	0	0	44	44	100
O- 2325	84	0	0	56	56	100
O-432	23	0	0	41	41	100
S-4465	74	0	0	43	0	0
P-547	42	0	0	54	0	0
S-101	51	0	0	24	0	0
P-3034	34	0	0	22	0	0
AD - 66	78	78	100	63	63	100

Pentru a studia determinismul genetic s-au efectuat încrucișări între liniile menționate și linia sensibilă AD-66, fiind ulterior analizate descendențele în generațiile F<sub>2</sub> și test-cross. Acestea au fost evaluate în condiții de infestare cu lupoaie, fiind comparat raportul plantelor sensibile și rezistente de floarea-soarelui obținut, cu segregarea teoretică așteptată. S-a stabilit că (Tabelul 3.9), în cazul liniilor rezistente la noile populații virulente ale parazitului (S-4465, P-547 și S- 101) este prezent un tip de rezistență la lupoaie, controlat de două gene dominante (raportul de segregare 15:1 în generația F<sub>2</sub> și 3:1 în generația test-cross).

Tabelul 3.9. Raportul segregării în generațiile F<sub>2</sub> 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)		$\chi^2$	P (%)
		Existență	Teoretic așteptată		
<b>LC - 1093</b>	F <sub>1</sub>	32 : 0	-	-	-
	F <sub>2</sub>	72 : 24	3 : 1	0,158	0,50 - 0,70
	test-cross	-	-	-	-
<b>P- 4432</b>	F <sub>1</sub>	35 : 0	-	-	-
	F <sub>2</sub>	31 : 9	3 : 1	0,133	0,70 - 0,90
	test-cross	42 : 46	1 : 1	0,188	0,50 - 0,70
<b>O- 2325</b>	F <sub>1</sub>	61 : 0	-	-	-
	F <sub>2</sub>	26 : 9	3 : 1	0,009	>0,95
	test-cross	45 : 41	1 : 1	0,186	0,50 - 0,70
<b>O- 432</b>	F <sub>1</sub>	24 : 0	-	-	-
	F <sub>2</sub>	23 : 7	3 : 1	0,810	0,30 - 0,50
	test-cross	22 : 16	1 : 1	0,947	0,30 - 0,50
<b>S- 4465</b>	F <sub>1</sub>	49 : 0	-	-	-
	F <sub>2</sub>	189 : 14	15 : 1	0,118	0,80 - 0,90
	test-cross	50 : 15	3 : 1	0,012	0,50 - 0,70
<b>P- 547</b>	F <sub>1</sub>	35 : 1	-	-	-
	F <sub>2</sub>	78 : 6	15 : 1	0,114	0,70 - 0,90
	test-cross	28 : 13	3 : 1	0,009	>0,95
<b>S- 101</b>	F <sub>1</sub>	42 : 0	-	-	-
	F <sub>2</sub>	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 hibridilor comerciali de floarea-soarelui, iar una din linii este cu androsterilitate citoplasmatică și poate fi folosită ca linie maternă.

Hibridii obținuți la încrucișarea între aceste linii au prezentat rezistență parțială la atacul parazitului, atunci când în componența hibridului a intrat ca linie rezistentă doar forma paternă, respectiv una din cele 2 linii, ceea ce demonstrează că determinismul genetic al rezistenței la lupoaie, în cadrul liniilor date, nu permite obținerea de hibridi total rezistenți în generația F<sub>1</sub> prin utilizarea unei singure forme parentale ce atestă rezistență. În acest sens, un obiectiv principal ar constitui acțiunea cumulativă a genelor căpătate de la ambele forme parentale, atât cea maternă cât și cea paternă.

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 hibridilor, 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

După, cum s-a menționat anterior, speciile sălbatice de floarea-soarelui constituie o sursă de gene favorabile diferitor caracteristici valoroase pentru specia cultivată. O serie de specii sălbatice, mai ales perene, prezintă rezistență totală la atacul parazitului lupoaia, astfel că acestea pot fi utilizate pentru transferul genelor de rezistență, în floarea-soarelui de cultură. Astfel, Ruso J. și coautorii evaluând un set de specii sălbatice, anuale și perene, de floarea-soarelui a constatat că două dintre speciile anuale (*H. anomalous* și *H. exilis*) și toate cele 26 de specii perene analizate au manifestat rezistență la rasele spaniole de lupoaie [155]. Având în vedere că există și specii anuale, total rezistente (*H. anomalous*) se poate face mai ușor transferul din acestea, prin metode clasice. În acest context, lucrările de identificare a surselor de rezistență la atacul parazitului *O. cumana* Wallr. au inclus ca material biologic un șir de specii sălbatice, precum și linii de floarea-soarelui din colecția INCDA Fundulea.

Au fost testate privind rezistența la lupoaie 30 specii sălbatice de floarea-soarelui (Tabelul 3.10). În calitate de inocul pentru infectarea artificială au fost folosite semințe de lupoaie provenite din zona Brăila. De remarcat că 20 de specii au fost total rezistente, printre care *H. agrestis*, *H. anomalous*, *H. giganteus*, *H. glaucophylus*, *H. grosseserratus*, *H. nuttallii*, *H. salicifolius*, *H. hirsutus*, *H. laevigatus*, *H. pumilus*, *H. ciliaris* etc. Speciile rezistente prezintă interes pentru crearea unor hibrizi interspecifici și transferul genelor de rezistență la floarea-soarelui cultivată. Unele dintre speciile analizate au fost stabilite ca fiind rezistente la lupoaie și în cadrul studiilor realizate de cercetători din Spania, Bulgaria, Serbia etc. Ca exemplu, Sukno S. și coautorii au determinat că speciile perene *H. giganteus*, *H. laevigatus*, *H. pauciflorus* și *H. resinous* posedă rezistență la rasa spaniolă SE194 [168]. O echipă de cercetători din Serbia a constatat rezistența la rasa E și F de lupoaie la o linie *Rf* derivată din specia sălbatică anuală *H. deserticola* [94]. Velasco L. și coaut. au relevat rezistența speciei *H. debilis subsp. tardiflorus* la rasa G de *O. cumana* [177]. Christov M. a raportat prezența genelor de rezistență la rasele A până la G, în Bulgaria, la 17 specii sălbatice de floarea-soarelui, după cum urmează: *H. tuberosus*, *H. pauciflorus*, *H. eggertii*, *H. laetiiflorus*, *H. decapetalus*, *H. hirsutus*, *H. divaricatus*, *H. giganteus*, *H. maximiliani*, *H. nuttallii ssp. rydbergii*, *H. salicifolius*, *H. smithii*, *H. annuus*, *H. argophyllus*, *H. debilis*, *H. petiolaris* și *H. praecox* [66].

Tabelul 3.10. Reacția unor specii salbatice de floarea soarelui la atacul parazitului *O. cumana* Wallr. (infestare artificială, Fundulea, 2013)

Specie	Numar variante	Numar de plante infestate/ total plante floarea soarelui	Numar de plante de lupoaie/ o planta floarea soarelui
<i>Helianthus agrestis</i>	1	0/39	0
<i>Helianthus annuus</i>	1	44/44	12-15
<i>Helianthus anomalus</i>	1	0/41	0
<i>Helianthus argophyllus</i>	1	41/41	14-16
<i>Helianthus debilis</i>	3	19/40	9-10
<i>Helianthus deserticola</i>	1	39/39	5-6
<i>Helianthus exilis</i>	1	21/44	1-2
<i>Helianthus petiolaris</i>	1	42/42	7-8
<i>Helianthus praecox</i>	1	38/38	3-4
<i>Helianthus atrorubens</i>	2	0/42	0
<i>Helianthus decapetalus</i>	2	0/44	0
<i>Helianthus divaricatus</i>	3	11/42	1-2
<i>Helianthus giganteus</i>	1	0/38	0
<i>Helianthus glaucophyllus</i>	1	0/42	0
<i>Helianthus gracilentus</i>	1	0/39	0
<i>Helianthus grosseserratus</i>	5	0/43	0
<i>Helianthus maximiliani</i>	5	0/41	2-3
<i>Helianthus microcephalus</i>	1	35/41	0
<i>Helianthus nuttallii</i>	6	0/42	0
<i>Helianthus salicifolius</i>	1	0/44	0
<i>Helianthus smithii</i>	1	0/39	0
<i>Helianthus hirsutus</i>	1	0/43	0
<i>Helianthus laevigatus</i>	1	0/40	0
<i>Helianthus pumilus</i>	1	0/41	0
<i>Helianthus strumosus</i>	3	0/42	0
<i>Helianthus californicus</i>	1	0/38	0
<i>Helianthus ciliaris</i>	1	0/39	0
<i>Helianthus xlaetiflorus</i>	1	0/44	0
<i>Helianthus pauciflorus</i>	2	5/38	1-2
<i>Helianthus tuberosus</i>	3	0/41	0
LC 1093 ( <i>Or6</i> )	-	12/43	5-6

În tabelul 3.11, sunt prezentate rezultatele testării unor linii de floarea-soarelui din colecția de germoplasmă a INCDA Fundulea, la atacul parazitului lupoaia, în condiții de infestare artificială, prin utilizarea semințelor de lupoaie din 5 zone diferite din România.

S-a constatat prezența a 2 linii, S-4465 și S-101, total rezistente la populațiile de lupoaie provenite din zone caracterizate prin prezența celor mai virulente forme ale parazitului. Fiind identificate ca rezistente la noile rase de lupoaie, aceste linii au fost utilizate drept surse de gene

de rezistență pentru a fi transferate liniilor valoroase din punct de vedere agronomic, fie pentru obținerea de noi hibrizi.

Tabelul 3.11. Testarea unor linii de floarea-soarelui din colecția INCDA Fundulea, pentru rezistență la atacul parazitului *O. cumana* Wallr., în condiții de infestare artificială

Genotip (linie)	Surse de semințe de lupoai / Grad de atac (%)				
	Agighiol-Tulcea	Cuza Vodă Constanța	Valea Cânepii-Brăila	Țândărei-Ialomița	Cogealac, Constanța
LC-1093	14,3	2,1	0,0	0,0	7,4
S- 101	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
LC-985	29,7	7,4	11,3	10,5	11,9
AC-5549	3,7	0,9	0,0	0,0	2,9
AC-2570	7,8	2,4	0,0	0,0	8,7
S- 4465	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
AC-2702	23,5	5,7	9,2	7,3	10,4
RF-680	12,7	4,3	0,9	1,3	9,2
MS- 2075	2,3	2,9	1,7	0,8	0,6
MS- 2067	23,5	19,6	12,4	12,7	9,5
RF-441	5,9	2,0	0,0	0,0	4,2
RF-694	19,7	7,1	3,4	2,0	4,5
Martor sensibilitate	51,7	44,3	41,6	50,9	61,7

În cadrul liniilor testate, au existat unele linii care au prezentat un grad de atac scăzut, chiar și în cazul populațiilor agresive din zonele Tulcea și Constanța (AC-5549 și RF-441). Liniile date prezintă interes pentru obținerea unor hibrizi cu grad ridicat de rezistență la atacul parazitului.

Pentru elaborarea unor hibrizi comerciali competitivi pe piața internațională lucrările de selecție presupun selectarea unor genotipuri rezistente la lupoai de diferită origine și transferul genelor identificate în linii cu caracteristici agronomice superioare. În acest context, au fost realizate testări ale materialului de ameliorare în condiții de infestare cu parazitul provenit din diverse țări, cunoscute prin prezența unor populații virulente de lupoai, precum România, Republica Moldova, Rusia și Turcia. În urma cercetărilor efectuate au fost puse în evidență linii cu rezistență foarte bună la atacul lupoaii, care ulterior au fost folosite pentru transferul de gene în linii valoroase de floarea-soarelui.

În tabelul 3.12 sunt prezentate unele dintre acestea, cel mai mult utilizate ca surse de rezistență fiind liniile S-101 și P- 547.

Astfel, au fost introduse în procesul transferului genelor de rezistență mai multe linii de floarea-soarelui, atât linii cu androsterilitate citoplasmică, 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 3.13.).



Tabelul 3.12. Surse de rezistență la atacul parazitului *O. cumana* Wallr, identificate în urma testărilor cu lupoaie de proveniență diferită, 2011

Sursa de rezistență	Populații lupoaie/ Grad de atac (%)			
	România (Constanța)	Republica Moldova	Rusia (Rostov)	Turcia
P- 3034	0,4	0,0	0,9	0,5
S-101	0,0	0,6	1,3	0,8
P-547	0,0	0,5	1,0	0,4
S-4465	0,0	0,2	1,7	0,9
AD-66	70,3	67,0	77,9	74,3

Tabelul 3.13. Genotipuri de floarea-soarelui aflate în diferite generații de selecție, pentru rezistența la parazitul *O. cumana* Wallr., 2011

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

Unele linii sunt în generații *backcross* mai avansate cum ar fi BC<sub>3</sub> sau BC<sub>4</sub>, altele în BC<sub>1</sub> sau BC<sub>2</sub>. 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.

În tabelul 3.14 sunt prezentate câteva caracteristici importante ale unor hibrizi experimentali, rezistenți la noile populații virulente ale parazitului, alături de trei hibrizi comerciali, rezistenți la rasa F a acestuia.

Tabelul 3.14. Caracteristici selective a unor noi hibrizi de floarea-soarelui, cu grad ridicat de rezistență la atacul parazitului *O. cumana* Wallr.

Hibridul	Perioada de vegetație (zile)	Înălțimea plantei (cm)	Diametrul calatidiului (cm)	Masa hectolitică (Kg)	Masa 1000 boabe (g)	Procentul de autofertilitate (%)
HS 4183	128	174	25	41,4	74	69,8
HS 2378	112	160	23	38,2	68	72,4
HS 5789	118	164	24	38,3	71	70,7
Neptun	120	165	24	42,3	69	75,3
Flordani	114	159	23	37,4	65	65,4
Favorit	130	171	22	35,2	69	41,1

Se constată că noii hibrizi de floarea-soarelui prezintă grad ridicat de rezistență la lupoaie, precum și valori superioare ale unor caracteristici, cum ar fi: diametrul calatidiului, masa hectolitică, masa a 1000 boabe și un grad sporit de autofertilitate.

În tabelul 3.15 sunt prezentate performanțele hibrizilor privind producția de semințe, conținutul de ulei în semințe și rezistența la unii factori de stres abiotic și biotic.

Tabelul 3.15. Producția de semințe, conținutul de ulei în semințe și rezistența la principalii factori de stres biotic și abiotic, pentru hibrizii noi de floarea-soarelui cu grad ridicat de rezistență la atacul parazitului *O. cumana* Wallr.

Hibridul	Producția de semințe (kg/ha)	Conținut de ulei (%)	Rezistența la:						
			cădere	frângere	secetă	mană	putregai alb	pătarea brună	lupoaie
HS 4183	3556	50,3	5,0	4,5	5,0	1	3	3	1
HS 2378	3950	52,7	4,5	4,5	4,5	2	3	1	1
HS 5789	3851	51,4	4,0	4,5	3,5	2	3	2	1
Neptun	3370	48,4	3,5	4,0	3,0	2	2	2	1
Flordani	3585	52,9	4,0	4,5	4,0	1	3	2	1
Favorit	3758	52,3	4,0	4,5	3,5	2	2	3	1

Astfel, s-a constatat că acești hibrizi realizează o producție de semințe de peste 3500 kg/ha, au un conținut ridicat de ulei, peste 50% și rezistență bună la cădere, frângere și secetă. Pe lângă rezistența la lupoaie, unii dintre hibrizi sunt rezistenți la mană, boală produsă de patogenul *Plasmopara halstedii* (HS-4183) și la pătarea brună, produsă de *Phomopsis helianthi* (HS-2378).

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 [20].

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

Ameliorarea rezistenței este crucială pentru protejarea florii-soarelui de prejudiciile cauzate de lupoaie și reprezintă o sarcină dificilă, deoarece noi rase ale agentului patogen apar continuu depășind, în cele din urmă, genele de rezistență cunoscute. Dezvoltarea liniilor rezistente la lupoaie nu este o misiune ușoară, în special din cauza multor dificultăți în a testa rezistența în condiții experimentale, unde existența erorilor, efectele condițiilor genetice și interacțiunile genotipului cu mediul duc deseori la o selecție inefficientă. Astfel, evaluarea rezistenței folosind marcheri ADN prezintă interes grație fiabilității și rapidității. 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) prin marcherii moleculari [29, 89, 117].

La momentul actual, în studiul molecular al genomului florii-soarelui, o direcție importantă este identificarea unor marcheri moleculari cu ajutorul cărora devine posibilă asocierea polimorfismului de ADN cu caractere valoroase în ameliorare, precum rezistența la planta parazită lupoaia. 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. Cercetarea asocierii diferiților marcheri SCAR cu anumite caractere ale plantelor de cultură (ex.: rezistența la atacul agenților patogeni, productivitate sporită, rezistență la frig, secetă etc., *linkage* genetic cu QTL de valoare) a început să fie desfășurată relativ recent în mai multe laboratoare ale lumii [15, 79, 120, 155, 157].

Au fost efectuate studii moleculare, care au avut ca scop să carteze genele ce conferă rezistență la rasele E și F. Gena *Or5*, ce conferă rezistență la rasa E, a fost cartată la o regiune telomerică a grupului de linkage 3 pe harta genetică a florii-soarelui (Fig. 3.7.). Analizele QTL (*Quantitative Trait Loci - Locusul Caracterelor Cantitative*) au arătat că variația fenotipică pentru rasa E a fost în principal explicată de un QTL major, corespunzând genei *Or5*, asociată cu caracterul de rezistență sau sensibilitate, pe când rezistența la rasa F a fost explicată de câteva QTL cu efecte de la mic la moderat, în special, asociate cu numărul de tulpini de lupoaie pe plantă. Aceste rezultate au sugerat că rezistența la lupoaie în floarea-soarelui este controlată de o combinație de componente calitative specifice rezistenței la rasă, afectând prezența sau absența lupoaiei, și de componente cantitative nespecifice rezistenței la rasă, care influențează numărul de tulpini pe plantă [146].

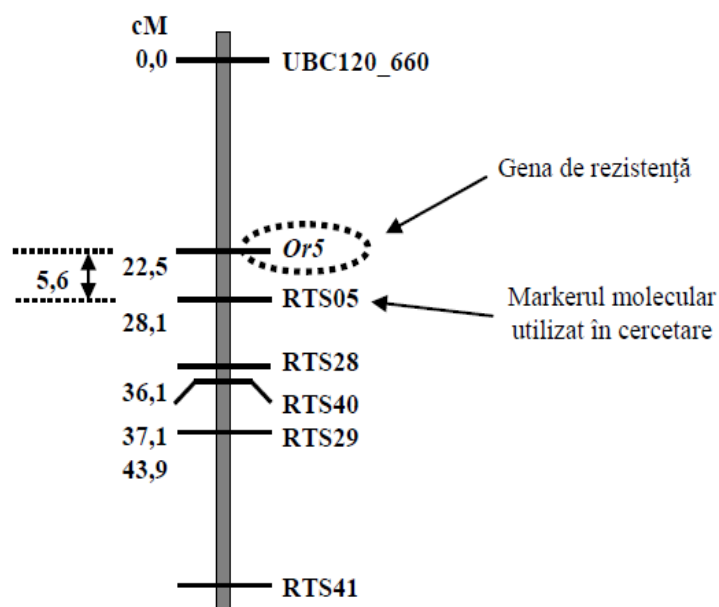


Fig. 3.7. Harta grupului de lincaj elaborată în baza markerilor SCAR, care conține locusul *Or5*, ce conferă rezistență la rasa E de *O. cumana* [122].

Actualmente nu se cunoaște care este produsul genei *Or5*, atât la nivel de ARNm, cât și proteină. În asemenea caz, unica soluție pentru a identifica locusul genomic al acestei gene și a produsului său este depistarea markerilor, care sunt cel mai aproape linkați cu această genă. Studii moleculare anterioare au fost în mare parte legate de cartografierea genei *Or5*, care conferă rezistență la rasa E de lupoaiie. Lu Y. și colab. a identificat cinci marcheri RAPD și SCAR semnificativ asociați de gena *Or5*. Marcheri RTS05, RTS28, RTS40, RTS29 și RTS41 au fost cartografiați la 5,6, 13,6, 14,1, 21,4 și 39,4 cM, iar markerul RAPD UBC 120\_660 a fost localizat distal la o distanță de 22,5 cM de la locusul *Or5*. Cercetătorii au asociat markerul RTS05 cu marcheri RFLP S009 și S010, plasându-i în grupul de lincaj 17 (LG17) al mapei CARTISOL RFLP [122]. Tang S. și colab. au descoperit ca *Or5* este situată pe harta LG3 elaborată de Yu O. și colab. și a identificat ORS1036 ca marker apropiat linkat [171].

Întrucât rezistența la lupoaiie este introdusă în plantele cultivate de floarea-soarelui din diferite surse, originea materialului este un factor important în ceea ce ține de modul de moștenire și poziția genelor de rezistență. Păcureanu M. și colab. a constatat că rezistența la rasa F poate fi controlată fie de două gene recesive sau de o genă dominantă în linii consangvinizate, în funcție de originea acestora [138]. Diferențele date sunt evidente la nivel molecular și adesea este cazul în care markerul trebuie să fie specific pentru materialul analizat [98].

Din toți marcherii de tip SCAR asociați cu rezistența florii-soarelui față de lupoaiie, markerul RTS05 este cel mai apropiat - 5,6 centimorgans (cM) în aval de gena *Or5* cu care, respectiv, se moștenește înlănțuit și posedă o rată de recombinare redusă [122].

Acest lucru permite selectarea timpurie a materialului ameliorativ printr-un *screening* de prezență/absență a factorilor de rezistență la *O. cumana* Wallr. Studiile efectuate de Lu Y. și colaboratorii pe linii rezistente și susceptibile au demonstrat prezența ampliconului de 650 pb, generat de primerii specifici RTS05, doar la genotipurile rezistente. Atestarea ampliconului respectiv se asociază cu prezența genei *Or5*, ce conferă rezistență la rasa E [11].

Reieșind din cele expuse, unul din obiectivele lucrării date a fost identificarea markerului RTS05 strâns lincat cu gena *Or5* la diferite genotipuri de floarea-soarelui. Studiul amplificării mediate de perechea de primeri SCAR pe matriță de ADN genomic al 42 genotipuri de floarea-soarelui (hibridi și linii de perspectivă din colecția companiei AMG-Agroselect) în vederea evidențierii locusului lincat cu gena *Or5*, utilizând markerul RTS05 cartat la distanța de 5,6 cM proximal de gena rezistenței, a relevat prezența produsului de amplificare de 650 pb la majoritatea genotipurilor investigate (Figura 3.8, 3.9 – linii paterne, 3.10 – linii maternale și hibridi).

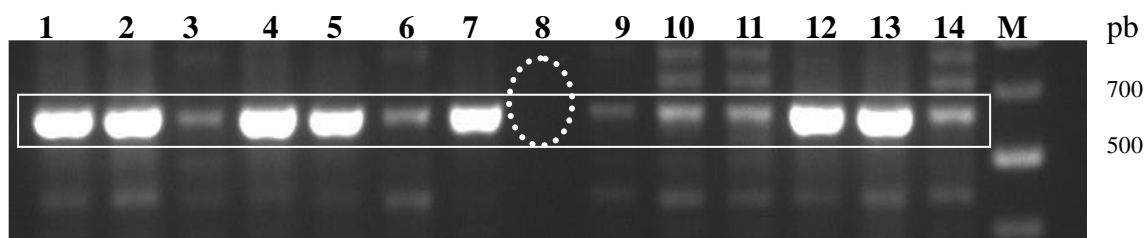


Fig. 3.8. Electroforeza produsului de amplificare (650 pb) cu primerul specific RTS05: M – marker (100 – 1000 pb); linii paterne numerotate convențional (1 – MS-2440C; 2 – MS-2064C; 3 – MS-1942C; 4 – MS-1944C; 5 – MS-1950C; 6 – MS-2080C; 7 – MS-1985C; 8 – MS-1995C; 9 – MS-2570C; 10 – MS-2275C; 11 – MS-3470C; 12 – MS-1920C; 13 – MS-2555C; 14 – MS-2540C).

Analizând rezultatele obținute în urma reacției PCR cu primerii specifici menționați s-a constatat lipsa produsului teoretic așteptat de 650 pb la formele paterne MS – 1995C (Figura 3.8) și MS – 2400C (Figura 3.9). Lipsa ampliconului sugerează că genotipurile respective nu conțin gena de rezistență la această rasă de lupoaie și deci sunt susceptibile.

În cadrul liniilor paterne MS-2570C, MS-2005C și MS-2020C, ampliconul de 650 pb s-a evidențiat slab. Aceste date ne permit să presupunem că genotipurile date ce prezintă atestă produsul de amplificare așteptat posedă gena *Or5*.

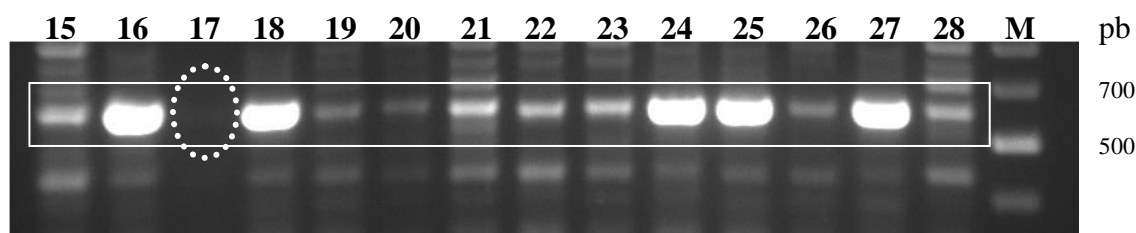


Fig. 3.9. Electroforeza produsului de amplificare (650 pb) cu primerul specific RTS05: M – marker (100 – 1000 pb), linii paterne (15-22) și maternale (23-28) numerotate convențional (15 – MS-2203C; 16 – MS-2583C; 17 – MS-2400C; 18 – MS-2565C; 19 – MS-2005C; 20 – MS-2020C; 21 – MS-2090C; 22 – MS-2550C; 23 – MS-2077A; 24 – MS-2067A; 25 – MS-2091A; 26 – MS-1589A; 27 – MS-2039A; 28 – MS-2098A).

Testarea liniilor materne și a hibridilor de floarea-soarelui la prezența/absența locusului lincat cu gena *Or5* a scos în evidență prezența produsului de amplificare la toate genotipurile investigate (Figura 3.10).

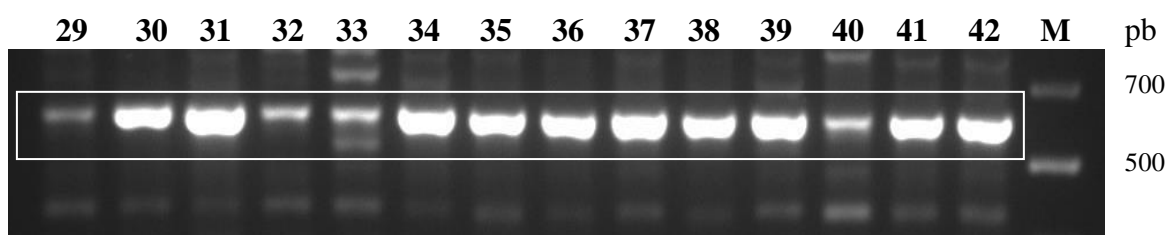


Fig. 3.10. Electroforeza produsului de amplificare (650 pb) cu primerul specific RTS05:  
M – marker (100 – 1000 pb), linii materne (29-34) și hibridi (35-42) numerotate convențional:  
(29 – MS-2161A; 30 – MS-2073A; 31 – MS-2185A; 32 – MS-2075A; 33 – MS-2036A; 34 – MS-2026A; 35 – Codru; 36 – Dacia; 37 – Nistru; 38 – Zimbru; 39 – Talmaz; 40 – Doina; 41 – Cezar; 42 – Oscar).

Astfel, datele obținute ca rezultat a reacției PCR cu primeri specifici a permis să facem o clasificare a genotipurilor testate la prezența/absența locusului lincat cu gena *Or5* (Fig. 3.11) și separarea în două grupe: rezistente și susceptibile la rasa E de lupoaie [11].

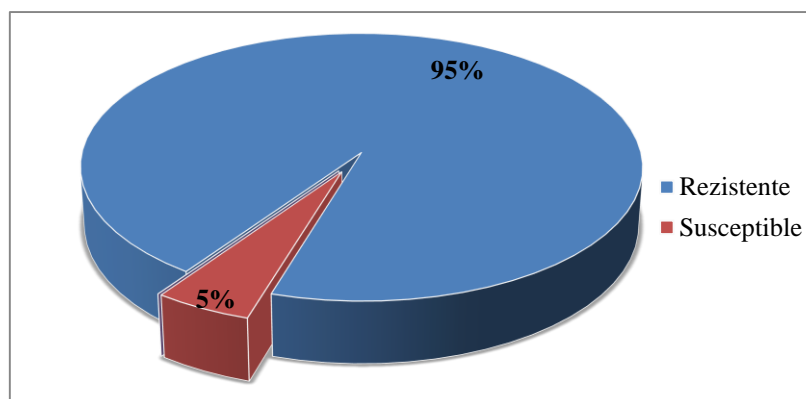


Fig. 3.11. Clasificarea genotipurilor de floarea-soarelui în rezistente și susceptibile după prezența markerului RTS05.

Pornind de la rezultatele obținute și datele existente în literatura de specialitate putem constata că *screening*-ul molecular în baza markerului SCAR a relevat prezența genei *Or5*, ce conferă rezistență la rasa E, la 40 din 42 genotipuri cercetate și lipsa acesteia la formele paterne MS – 1995C și MS – 2400C, ce ne permite să presupunem că aceste genotipuri sunt susceptibile la atacul *O. cumana*, rasa E.

### 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 florii-soarelui a devenit utilizarea

metodelor moleculare, inclusiv tehnica PCR-RAPD, care a fost foarte puțin explorată în cadrul florii-soarelui de cultură în Republica Moldova, dar și în lume.

Tehnica RAPD (*Random Amplified Polimorphic DNA*) constă în amplificarea aleatorie a ADN polimorfic - cu primeri arbitrari. Primeri folosiți pentru RAPD, au dimensiuni relativ mici (8-12 nucleotide), o secvență arbitrară de nucleotide, și (G + C)-a cel puțin 50%. Aceasta exclude cerința de a obține secvența de nucleotide din regiunea amplificată a ADN-ului, ceea ce simplifică foarte mult analiza. Probele pentru separarea electroforetică a ADN-ului amplificat (RAPDs) din diferite surse genetice pot fi supuse unei analize comparative pe baza căreia este determinat nivelul de similaritate genetică [111, 170].

Marcherii lincați cu genele rezistenței la *O. cumana* Wall. facilitează o selecția timpurie a materialului ameliorativ printr-un *screening* de prezență / absență a anumitor marcheri ADN specifici asociați cu rezistența la *O. cumana* [122].

Nivelul variabilității în cadrul florii-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 [124, 149].

Astfel, analiza RAPD, realizată la diverse linii consangvinizate și la 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. 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 polimorfismului genetic cu primerul arbitrar OPA-11***

În rezultatul amplificării ADN-ului genomic cu primerul arbitrar **OPA-11** s-au identificat 13 ampliconi cu mărimi cuprinse între 320 – 1960 pb. Numărul maxim de ampliconi (11) generați de primerul menționat s-a înregistrat la genotipul patern de floarea-soarelui MS-2275C și MS-2540C, iar numărul minim de ampliconi (6) a fost depistat la șapte genotipuri: o formă paternă MS-1985C, patru forme materne MS-1589A, MS-2161A, MS-2185A, MS-2026A și doi hibridi.

Din numărul total de ampliconi vizualizați cei comuni sunt cei cu lungimi de 1100, 800, 570 (cu excepția genotipului MS-1995C) și 400 pb. Analiza electroforegramei produselor de

amplificare cu primerul arbitrar OPA-11 a demonstrat prezența ampliconilor specifici pentru două genotipuri paterne MS-1995C și MS-2550C cu lungimea de 600 pb (Figura 3.12).

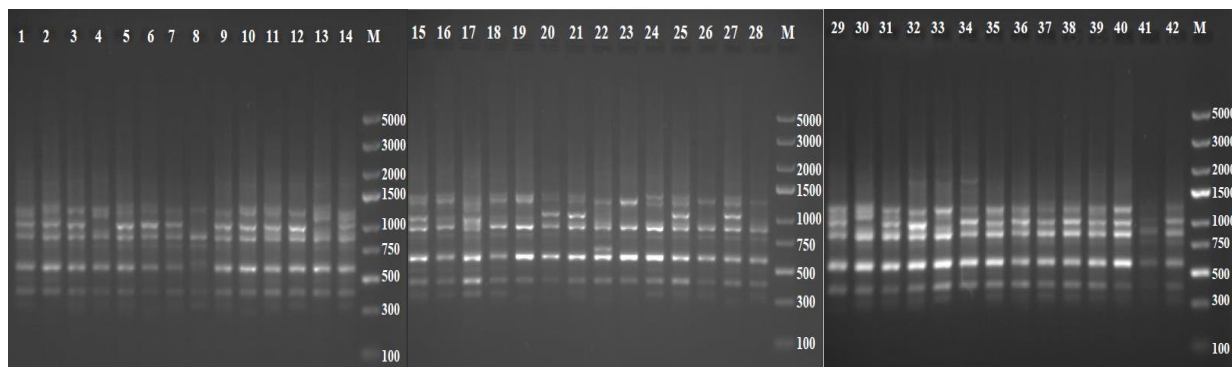


Fig. 3.12. Produsele de amplificare cu primerul OPA-11.

(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).

La majoritatea formelor paterne de floarea-soarelui, cu excepția genotipului MS-3470C și MS-1920C s-au evidențiat ampliconi de 760 pb, precum și la majoritatea formelor materne (MS-2077A, MS-2067A, MS-2091A, MS-1589A, MS-2039A, MS-2098A, MS-2073A, MS-2075A) și la cinci hibridi Dacia, Nistru, Zimbru, Cezar și Oscar.

Banda aparentă cu lungimea de 960 pb asociată pentru acest primer cu rezistența la lupoaie, conform datelor obținute de către Duca M. și colaboratorii [10], s-a evidențiat pentru genotipurile paterne MS-2440C, MS-1944C, MS-2555C, MS-2540C, MS-2400C și două genotipuri materne MS-2161A și MS-2073A. De asemenea, pentru acest primer asociat cu rezistența mai sunt caracteristice și benzile cu lungimea de 850 și 570 pb.

Analiza electroforegramei a permis evidențierea tuturor ampliconilor asociați cu rezistența florii-soarelui la lupoaie pentru trei genotipuri paterne (MS-2440C, MS-2540C și MS-2400C) și un genotip matern MS-2161A. Astfel, putem presupune că aceste genotipuri posedă rezistență la lupoaie. De asemenea, putem menționa că pentru genotipurile paterne MS-1944C și MS-2555C și cel matern MS-2073A sunt prezente două benzi asociate cu rezistența de 960 și 570 pb.

Ampliconul de 500 pb a putut fi evidențiat la genotipurile MS-2440C, MS-2064C, MS-2275C, MS-3470C, MS-2555C, MS-2540C, MS-2203C, MS-2583C, MS-2400C și la trei forme materne MS-2067A, MS-2039A și MS-2098A. Acest amplicon nu a fost vizualizat nici la unul din hibridii supuși cercetărilor. Benzile aparente cu lungimea de 1960 și 1200 pb care au fost depistate la o bună parte din formele materne și paterne nu au fost observate la nici un hibrid.



Analiza dendrogramei (Figura 3.13) evidențiază două grupuri de linkage A și B, care la rândul lor sunt divizate în câte două subgrupuri A1, A2 și B1, B2.

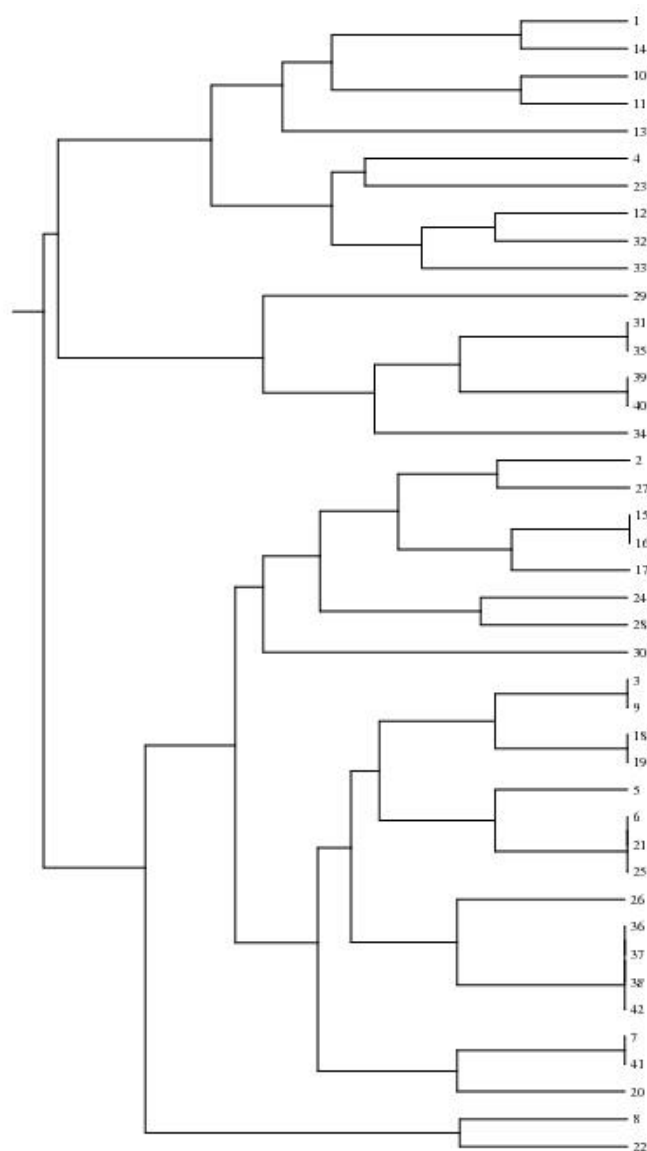


Fig. 3.13. Dendrograma genotipurilor de *H. annuus* L. în baza profilelor RAPD (OPA-11).

Subgrupul A1 se împarte în alte două subgrupuri A1.1 din care fac parte cinci forme parentale (MS-2440C, MS-2275C, MS-3470C – caracterizate ca forme mediu rezistente spre rezistente și MS-2555C, MS-2540C – caracterizate ca forme mediu sensibile spre sensibile).

#### ***Analiza polimorfismului genetic cu primerul arbitrar OPA-02***

Cercetările axate pe amplificarea ADN-ului genomic a 42 genotipuri de floarea-soarelui, cu primerul arbitrar OPA-02 au pus în evidență generarea a 14 produse de amplificare care au fost polimorfice pentru toate genotipurile analizate (Figura 3.14.). Ampliconii analizați au fost caracterizați prin lungimi de 250 – 2500 pb. Genotipurile paterne de floarea-soarelui MS-1985C și MS-2550C s-au evidențiat prin apariția benzii de 250 pb, care a fost caracteristică pentru toate formele maternelor cu excepția MS-2098A și MS-2036A, acest amplicon lipsind în totalitate la

formele hibride de floarea-soarelui incluse în studiu. Produsul de amplificare cu lungimea de 480 pb este comun pentru toate genotipurile de floarea-soarelui investigate cu excepția formei paterne MS2565C și a celei materne MS-2098A. De asemenea, benzi comune pentru toate genotipurile au fost cele cu lungimea de 750, 1100 și 2500 pb (excepție forma paternă MS-1995C).

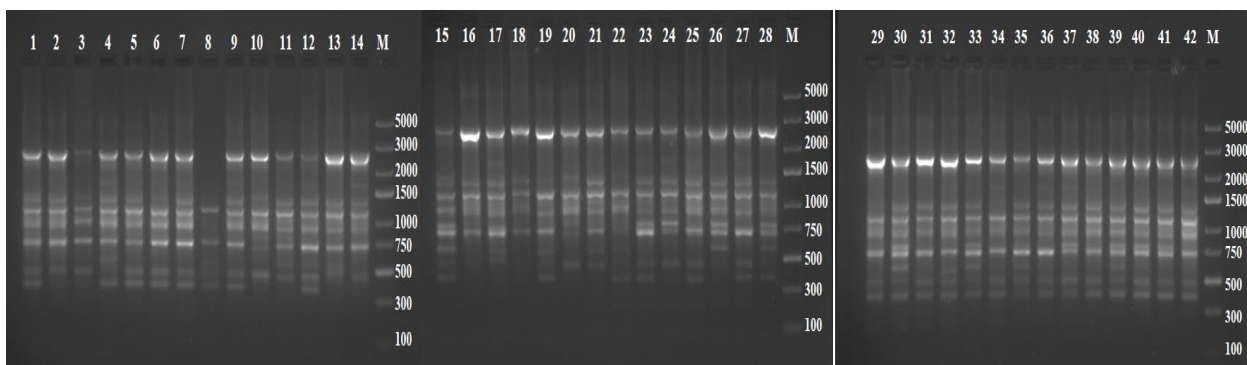


Fig. 3.14. Produsele de amplificare cu primerul OPA-02.

(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).

Formele paterne MS-2275C, MS-2203C, MS-2565C, MS-2005C, MS-2020C și MS-2550C s-au caracterizat, în special, prin relevarea ampliconului specific cu lungimea de 1500 pb, care nu a fost depistat nici pentru o formă maternă sau hibrid. Este de menționat faptul că produsul de amplificare cu lungimea de 1400 pb a fost evidențiat la toate formele materne studiate, la toți hibridii și la majoritatea formelor paterne (cu excepția genotipului MS-2275C, MS-2565C, MS-2020C și MS-2550C). Spectrele electroforetice investigate în cazul amplificării probelor de ADN genomic a florii-soarelui cu primerul arbitrar OPA-02 a mai relevat faptul că ampliconul de 440 pb este caracteristic pentru toți hibridii investigați, majoritatea formelor materne (excepție fiind forma MS-2067A și MS-1589A) și doar 11 forme paterne (MS-2440C, MS-1944C, MS-1950C, MS-2080C, MS-1985, MS-1995C, MS-2570C, MS-2203C, MS-2005C și MS-2550C).

Distanța genetică între genotipurile supuse cercetărilor, stabilită în baza matricei distanțelor genetice este reprezentată sub forma unei dendrograme din Figura 3.15. Analiza dendrogramei relevă prezența a două clusteruri mari A și B. Grupul A se împarte în două subgrupe A1 alcătuit la rândul său din alte 2 subgrupe A1.1 (s-au grupat două forme paterne medii rezistente spre rezistente MS-2440C și MS-3470C, patru forme paterne medii sensibile spre sensibil MS-2583C, MS-2090C, MS-2555C și MS-2400C, forma maternă MS-2098A și hibridul Doina mediu rezistente spre rezistente) și A1.2 și subgrupul A2 în care s-au grupat trei forme parentale MS-2275C, MS-2020C și MS-2565C. Grupul B este cel mai mare și reunește alte două subgrupuri B1 și B2.

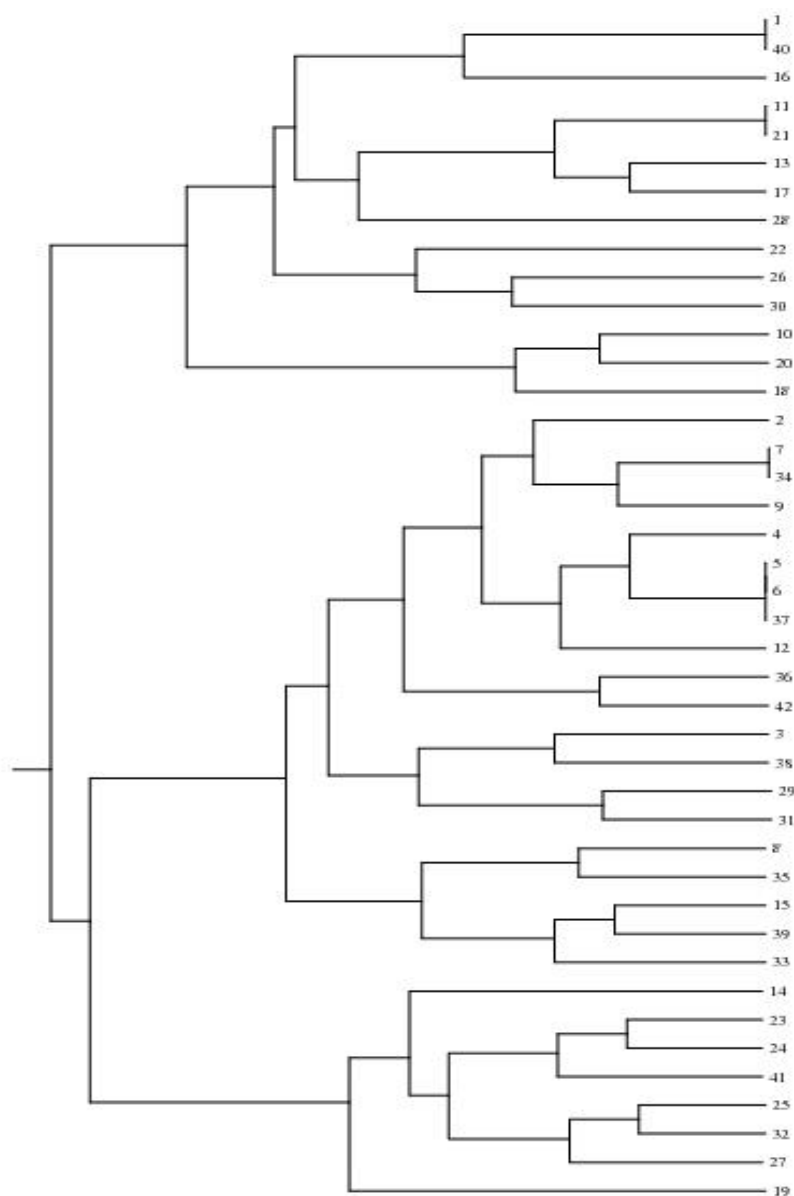


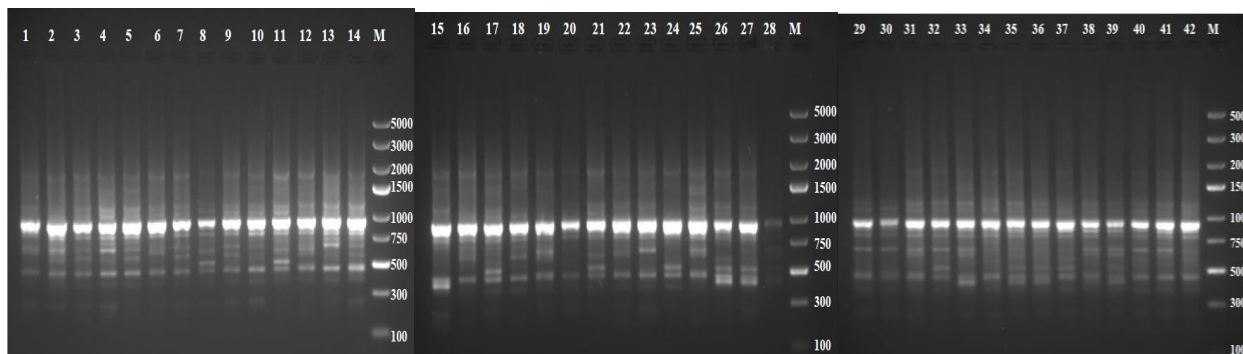
Fig. 3.15. Dendrograma genotipurilor de *H. annuus* L. în baza profilelor RAPD (OPA-02).

Subgrupul B1 este foarte variat și reunește atât forme parentale, cât și forme materne și toți hibridii incluși în studiu cu excepția hibridului Doina alăturat grupului A. Din subgrupul B2 fac parte două forme paterne MS-2540C, aliniată în subclusterul B2.1.1 și unicul genotip aliniat în subclusterul B2.2 care este forma paternă mediu sensibilă spre sensibilă - MS-2005C. În rest în acest subgrup sunt patru forme materne rezistente (MS-2077A, MS-2067A, MS-2039A și MS-2075A) o formă mediu rezistentă spre rezistentă (MS-2091A) și hibridul mediu rezistent spre rezistent – Cezar.

Genotipurile paterne de floarea-soarelui MS-2540C, MS-2400C și hibridii Codru și Dacia s-au remarcat prin numărul maxim de produse de amplificare (14). Spectrul electroforetic al formei paterne MS-2440C a fost determinat prin prezența unui număr minim de ampliconi generați (8).

### ***Analiza polimorfismului genetic cu primerul arbitrar OPK-17***

Analiza profilelor RAPD obținute prin amplificarea probelor de ADN genomic al floarii-soarelui cu primerul arbitrar OPK-17 a generat un număr total de 15 produse de amplificare care au fost polimorfice pentru toate genotipurile analizate. Ampliconii investigați au fost caracterizați prin lungimi de 170 – 1900 pb (Figura. 3.16).



**Fig. 3.16. Produsele de amplificare cu primerul OPK-17.**

(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).

Din numărul total de ampliconi vizualizați, cei comuni pentru toate genotipurile investigate s-au dovedit a fi cu lungimea de 440, 800, 880 și 1900 pb (cu excepția genotipurilor materne MS-2161A și MS-2073A). De asemenea, fragmentele de ADN cu lungimea de 420 pb au fost atestate la majoritatea genotipurilor studiate (cu excepția formelor paterne MS-2440C, MS-2203C și formelor materne MS-2039A, MS-2098A).

Pentru genotipurile paterne de floarea-soarelui MS-2540C și MS-2203C, materne MS-2039A, MS-2098A și MS-2036A și formele hibride Codru, Dacia, Zimbru și Talmaz a fost înregistrată prezența ampliconului specific cu lungimea de 430 pb.

De menționat este faptul că produsul de amplificare cu lungimea de 560 pb a fost evidențiat pentru majoritatea formelor paterne (lipsește la MS-2203C, MS-2583C), pentru cinci forme materne (MS-2067A, MS-2091A, MS-1589A, MS-2039A și MS-2075A) și hibrizii Nistru și Oscar. De asemenea, la toate formele materne cu excepția genotipului MS-2098A, la toți hibrizii și la o parte din formele paterne (MS-2064C, MS-1944C, MS-1950C, MS-1995C, MS-1920C, MS-2555C, MS-2540C, MS-2203C, MS-2583C, MS-2400C, MS-2565C, MS-2005C) a fost caracteristică evidențierea produsului de amplificare cu lungimea de 680 pb, care conform datelor din literatura de specialitate se asociază cu rezistența la lupoaie. Spectrele electroforetice au relevat pentru toate formele hibride produse de amplificare cu lungimi de 290, 1200 și 1530 pb. Aceste produse au fost întâlnite și la majoritatea formelor materne.

Generalizând datele obținute menționăm că 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 hibrizi) 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 lupoai

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, ținând cont de impactul parazitului asupra culturii de floarea-soarelui, precum și pentru identificarea unor surse de rezistență, care vor putea fi utilizate ca donor de gene. De menționat, inclusiv importanța testării anuale, în zonele cele mai infestate cu parazitul lupoai, 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.

Genotipurile de floarea-soarelui au fost testate privitor rezistenței la lupoai în condiții de infestare naturală, în câmp, în diferite zone din țară, cât și în condiții de infestare artificială în seră și în casa de vegetație. Testările unui set de hibrizi comerciali s-au realizat în anul 2012 și 2013, în trei zone diferite din România, infestate cu lupoai.

În studiu au fost incluși 9 hibrizi și 2 forme-martor ce posedă rezistență, precum și martori de sensibilitate. Testările efectuate în zona Tulcea au scos în evidență un grad ridicat al atacului parazitului, cu valori maxime în cazul martorului sensibil (peste 60%) și un atac diferit pentru diferite genotipuri, în funcție de gradul lor de rezistență (Figura 3.17.).

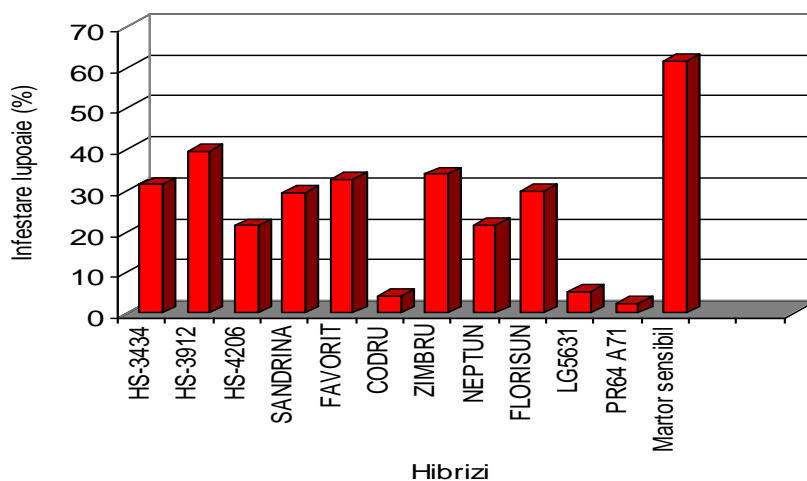


Fig. 3.17. Gradul de atac al parazitului lupoai, asupra unui set de hibrizi de floarea soarelui, în zona Tulcea, în anul 2012.

Cel mai mic grad de atac l-a prezentat hibridul PR64A71, urmat de hibridul Codru.

În cazul testării genotipurilor de floarea-soarelui în condițiile din zona Ialomița (Figura 3.18.), gradul de atac al parazitului a fost mult mai scăzut, comparativ cu zona Tulcea, doar pentru martorul de sensibilitate, atacul fiind similar.

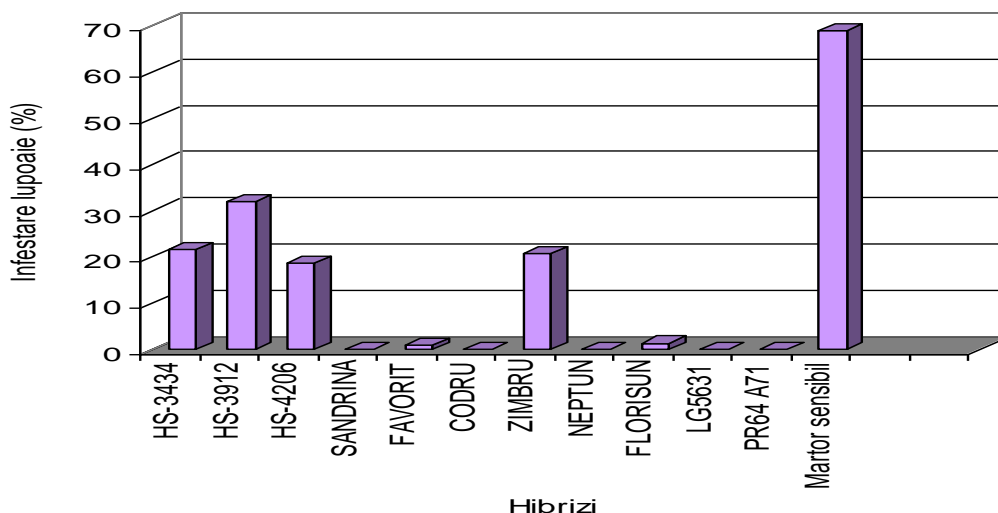


Fig. 3.18. Gradul de atac al parazitului lupoaia, asupra unui set de hibrizi de floarea soarelui, în zona Ialomița, în anul 2012.

Cea mai mare expresie a sensibilității la atacul lupoaiei l-au avut hibrizii HS 3912 și Zimbru. Un număr mare de hibrizi au fost total rezistenți, în această zonă fiind prezente doar primele șase rase ale parazitului (A-F).

Rezultatele testărilor din zona Constanța, prezentate în figura 3.19, au pus în evidență un număr mare de hibrizi sensibili, trei hibrizi (martorii rezistenți și hibridul Codru) manifestând rezistență. Martorul de sensibilitate a prezentat cel mai mare grad de atac (peste 70%).

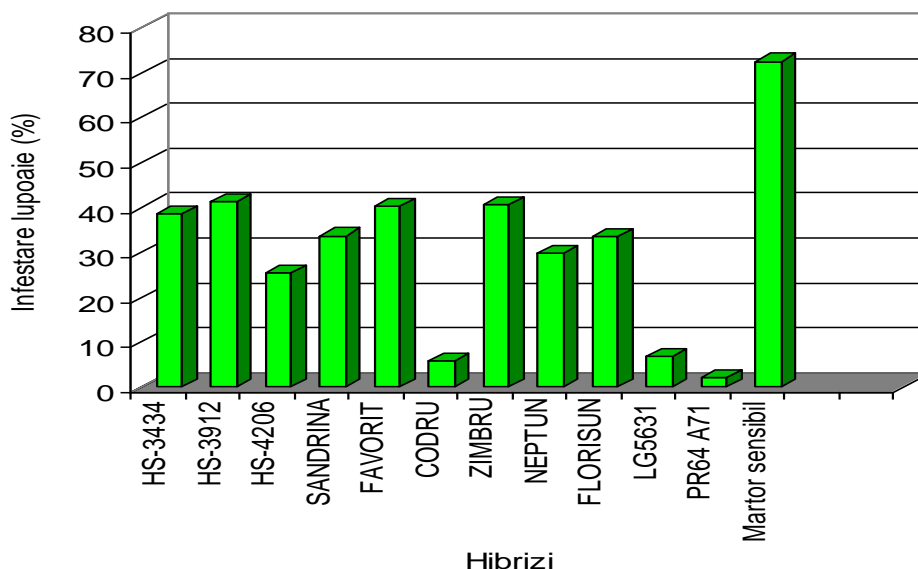


Fig. 3.19. Gradul de atac al parazitului lupoaia, asupra unui set de hibrizi de floarea soarelui, în zona Constanța, în anul 2012.

Setul menționat de hibrizi a fost analizat în aceleași localități și în anul 2013. Rezultatele sunt reflectate în figurile 4.20-4.22. În Figura 3.20. sunt prezentate rezultatele testării în zona Tulcea. S-a constatat că toți hibrizii sunt atacați, gradul de atac fiind ușor mai scăzut comparativ cu anul 2012. Cel mai puțin a fost atacat hibridul PR64A71, care a prezentat un grad de atac mai mic de 5%. Un nivel scăzut al atacului a fost remarcat și în cazul hibridului Codru.

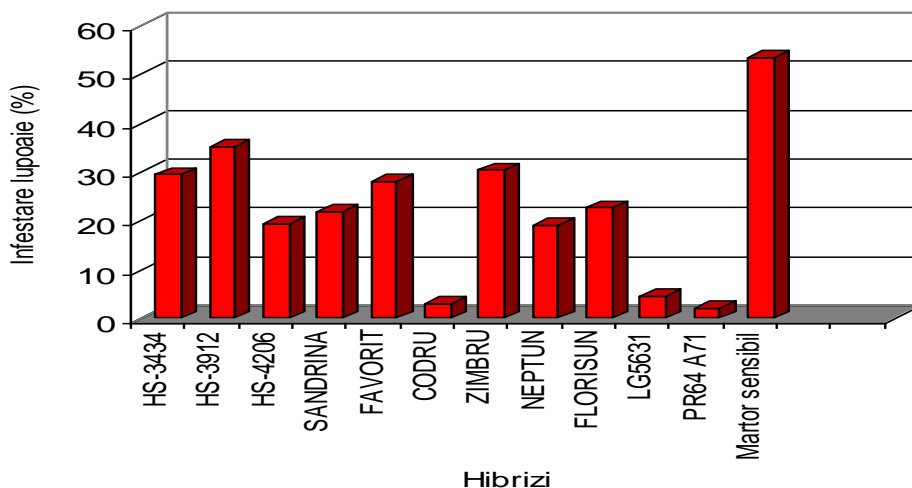


Fig. 3.20. Gradul de atac al parazitului lupoaia, asupra unui set de hibrizi de floarea soarelui, în zona Tulcea, în anul 2013.

Conform datelor obținute în zona Ialomița, în anul 2013 (Figura 4.21.), gradul de atac a fost de asemenea mai mic comparativ cu anul 2012, cei mai atacați fiind hibrizi: HS 3912, HS 3434, HS 4206 și Zimbru. Hibrizii Codru, Sandrina, Favorit, Neptun, LG 5631 și PR64A71 au fost total rezistenți.

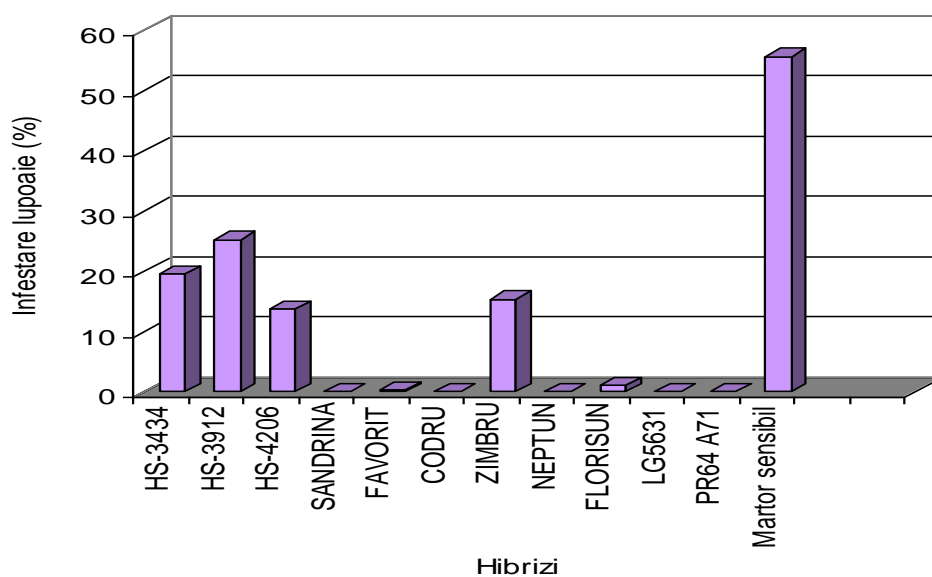


Fig. 3.21. Gradul de atac al parazitului lupoaia, asupra unui set de hibrizi de floarea soarelui, în zona Ialomița, în anul 2013.

Investigațiile efectuate pe câmpurile din Constanța (Figura 3.22.) au demonstrat sensibilitatea hibrizilor la rasele prezente în această zonă, astfel că niciun hibrid, inclusiv martorii de rezistență, nu este total rezistent. Gradul de atac este mai scăzut și în acest caz, comparativ cu anul 2012.

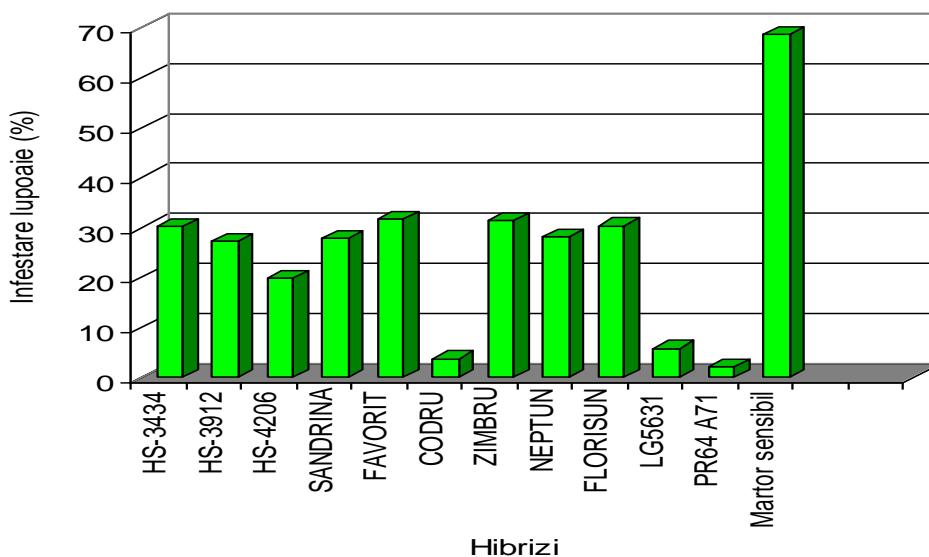


Fig. 3.22. Gradul de atac al parazitului lupoai, asupra unui set de hibrizi 12 hibrizi de floarea-soarelui, în zona Constanța, în anul 2013.

În scopul evaluării comportamentului unor hibrizi experimentali față de parazitul care dezvoltă destul de rapid forme noi cu virulență sporită, în anii 2012 și 2013 au fost efectuate testări pentru un număr de 25 genotipuri de floarea-soarelui, în zonele Brăila și Tulcea (Tabelul 3.16, 3.17).

Majoritatea hibrizilor analizați au fost semnificativ infectați cu lupoai în ambele regiuni, printr-un grad mai înalt de atac remarcându-se variantele cultivate pe câmpurile din Tulcea (Figura 3.23, 3.24.).



Fig. 3.23. Plante de floarea-soarelui afectate de lupoai (regiunea Brăila).





Fig. 3.24. Plante de floarea-soarelui afectate de lupoai (regiunea Tulcea).

În zona Brăila, în anul 2012, gradul de atac a fost mai ridicat, comparativ cu anul 2013 (Tab. 3.16).

Tabelul 3.16. Rezultate privind atacul de lupoai (*O. cumana* Wallr.) asupra unor genotipuri de floarea-soarelui, Brăila

Nr. varianta	Nr. total de plante floarea-soarelui/parcela		Nr. plante lupoai/o plantă de floarea-soarelui		Grad de atac (%)	
	2012	2013	2012	2013	2012	2013
1	33	30	0	0	0	0
2	31	30	0	0	0	0
3	31	29	0	0	0	0
4	29	28	17-20	5-6	31,4	10,7
5	30	31	0	0	0	0
6	32	34	0	0	0	0
7	30	34	0	0	0	0
8	34	33	11-14	3-4	27,7	17,4
9	30	33	8-9	2-3	24,9	11,7
10	28	34	1-2	0-1	5,8	3,2
11	30	31	0	0	0	0
12	32	32	3-4	0-1	3,7	0,9
13	33	34	7-8	1-2	11,7	1,8
14	30	33	1-2	0-1	1,9	0,2
15	30	31	8-9	2-3	19,6	8,5
16	29	31	6-7	2-3	22,8	10,8
17	32	33	0	0	0	0
18	30	31	17-18	11-12	38,4	25,7
19	33	30	19-20	10-12	51,4	33,4
20	28	30	2-3	0-1	4,9	0,8
21	27	30	14-15	9-10	38,9	28,5
22	34	32	1-2	0-1	3,2	1,4
23	31	33	4-5	1-2	7,3	3,5
24	30	34	0	0	0	0
25	32	33	1-2	0-1	4,1	1,7
Martor	33	34	23-24	12-14	100	100

Acest fenomen s-a manifestat în toate cazurile, datorită faptului că, după cum s-a menționat anterior, anul 2013 a fost un an mai ploios și atacul parazitului s-a manifestat mai puțin. S-a constatat prezența a 9 hibrizi experimentali total rezistenți, în zona dată, în ambii ani.

Conform rezultatelor testării din zona Tulcea (tabelul 3.17) în anul 2013 au fost puse în evidență 3 genotipuri total rezistente și 4 genotipuri cu grad foarte scăzut, de atac.

Tabelul 3.17. Rezultate privind atacul de lupoaiie (*O. cumana* Wallr.) asupra unor genotipuri de floarea-soarelui, infestare naturală, Tulcea

Nr. varianta	Nr. total plante floarea-soarelui/parcela		Nr. plante lupoaiie/o plantă de floarea-soarelui		Grad de atac (%)	
	2012	2013	2012	2013	2012	2013
1	44	44	8-10	4-5	21,7	7,9
2	41	41	12-14	10-12	67,3	20,4
3	40	40	1-2	0	3,7	0
4	42	42	28-30	21-22	100	41,8
5	39	39	0-1	0	1,3	0
6	41	41	4-6	3-4	9,7	8,5
7	40	40	8-9	8-9	48,3	31,4
8	38	38	10-12	12-14	52,8	40,7
9	42	42	21-22	14-15	100	100
10	42	42	12-14	11-12	44,6	29,7
11	40	40	8-10	5-6	18,9	14,2
12	43	43	8-10	7-8	27,5	11,3
13	44	44	4-6	3-4	11,8	5,4
14	40	40	1-2	1-2	7,9	1,9
15	38	38	7-8	4-5	21,9	15,6
16	40	40	6-7	6-7	45,7	25,8
17	44	44	2-3	1-2	3,2	1,7
18	42	42	12-14	10-12	45,5	31,7
19	41	41	18-20	14-16	100	100
20	39	39	4-5	4-5	22,3	10,4
21	38	38	21-22	14-15	100	100
22	41	41	2-3	2-3	9,7	3,2
23	40	40	7-9	5-6	22,7	18,9
24	42	42	1-2	0	2,7	0
25	40	40	1-2	1-2	7,6	4,1
Martor	44		31-33	28-30	100	100

Aceleași genotipuri, testate în anul 2012 au prezentat un comportament diferit. Astfel, nici unul din genotipurile evaluate nu a fost total rezistent, manifestând un grad de atac scăzut, cuprins între 1,3 și 3,7%. S-a înregistrat o creștere cu 3-14%, sau chiar mai mult, în cazul unor genotipuri.

Investigațiile ulterioare au fost axate pe evaluarea unor hibrizi de floarea-soarelui creați în cadrul INCDA Fundulea și AMG-Agroselect (hibrizii Codru și Zimbru), precum și hibrizi cu grad ridicat de rezistență aparținând unor companii producătoare de material semincer, în condiții de infestare artificială cu semințe de lupoaie colectate în anul 2013 din Republica Moldova și zonele Brăila, Constanța și Tulcea, România (Tabelul 3.18).

Hibrizii inoculați cu probe de lupoaie din zona Brăila au avut un grad de atac relativ scăzut (Tabelul 3.18), cei mai rezistenți fiind hibrizii Codru și LG 5661.

Tabelul 3.18. Testarea unor genotipuri de floarea soarelui, în condiții de infestare artificială, Fundulea, 2013

Genotipul	Populații de lupoaie/ Grad de atac			
	Brăila (%)	Constanța (%)	Tulcea (%)	Republica Moldova (%)
<b>Favorit</b>	8,7	29,6	30,4	14,6
<b>Codru</b>	1,1	3,3	5,9	2,8
<b>Zimbru</b>	47,3	50,4	45,3	48,6
<b>LG 5631</b>	1,8	3,8	4,2	4,0
<b>PR64A71</b>	2,7	11,3	13,9	12,6
<b>LG 5661</b>	0,6	6,2	5,4	5,0
<b>PR64LE25</b>	27,4	33,4	30,6	29,5
<b>Performer</b>	69,5	71,4	70,9	67,8

Comparativ cu populațiile de lupoaie provenite din Brăila, cele din Tulcea au determinat un grad de atac mai ridicat, acesta prezentând valori de la 4,2% la 70,9%. Hibrizii Codru și LG 5661 care în zona Brăila erau considerați drept rezistenți au manifestat un nivel al atacului ce a atins cote de peste 5%. O situație similară a fost depistată și în cazul populațiilor din zona Constanța.

La probele inoculate cu lupoaie din Republica Moldova, cu excepția hibridului Favorit care a prezentat un grad de atac mai scăzut, comparativ cu zonele Tulcea și Constanța, din România, rezultatele obținute sunt analoge celor urmărite în variantele enunțate.

### 3.7. Concluzii la capitolul 3.

S-a constatat că parazitul lupoaia evoluează rapid, noile populații foarte virulente fiind întâlnite în prezent în cultura floare-soarelui din Republica Moldova, România, Rusia, Spania și Turcia. Populațiile de lupoaie ale aceleiași rase ale parazitului diferă după intensitatea atacului în limita diferitor zone ale aceleiași țări. Virulența parazitului *O. cumana* se manifestă diferit, în cazul liniilor de floarea-soarelui androsterile, linia menținătoare (B) fiind mai mult atacată, comparativ cu forma sterilă (A).

A fost elaborată o metoda eficientă de diagnosticare precoce a atacului parazitului, ce permite trierea rapidă și eficientă a materialului de ameliorare privind rezistența la atacul lupoaiei și stabilirea virulenței acesteia.

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 hibridilor, decât în situația în care ambele forme parentale ale acestora sunt rezistente.

La încrucișarea unor specii sălbatice de floarea-soarelui, rezistente la atacul de lupoaie, cu specia cultivată, s-au obținut surse importante de rezistență. 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. Hibridii de floarea-soarelui rezistenți la lupoaie prezintă inclusiv caracteristici valoroase, care asigură obținerea unor producții ridicate de sămânță și ulei.

*Screening*-ul molecular în baza markerului SCAR a permis identificarea unor genotipuri cu rezistență genetică la rasa E de lupoaie, clasificarea germoplasmei în trei grupe distincte după gradul de rezistență, precum și modul de moștenire a noilor gene *Or*.

Clusterizarea genotipurilor de floarea-soarelui (linii parentale și hibridi) după ampliconii RAPD a permis gruparea acestora în funcție de rezistență, rezultatele obținute confirmând posibilitatea utilizării analizei RAPD în studiul polimorfismului genetic la diverse genotipuri și aplicabilitatea acesteia în programele de ameliorare la floarea-soarelui.

Au fost obținute date noi privind rezistența la lupoaie a unor hibridi 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

Conform datelor prezentate de Ministerul Agriculturii și Industriei Alimentare suprafața ocupată de floarea-soarelui în ultima perioadă a constituit între 226 mii și 385 mii hectare (Figura 4.1.), ceea ce depășește cu mult cota limită a acestei culturi în asolamente [1, 71]. Creșterea spectaculoasă a suprafețelor cultivate cu floarea-soarelui se explică prin cererea înaltă existentă pe piață, stabilitatea producției datorată toleranței sporite a culturii la secetă și, respectiv, posibilitatea de a obține venituri anuale stabile din realizarea semințelor, precum și implicarea fabricilor de ulei în cultivarea și subvenționarea florei-soarelui.

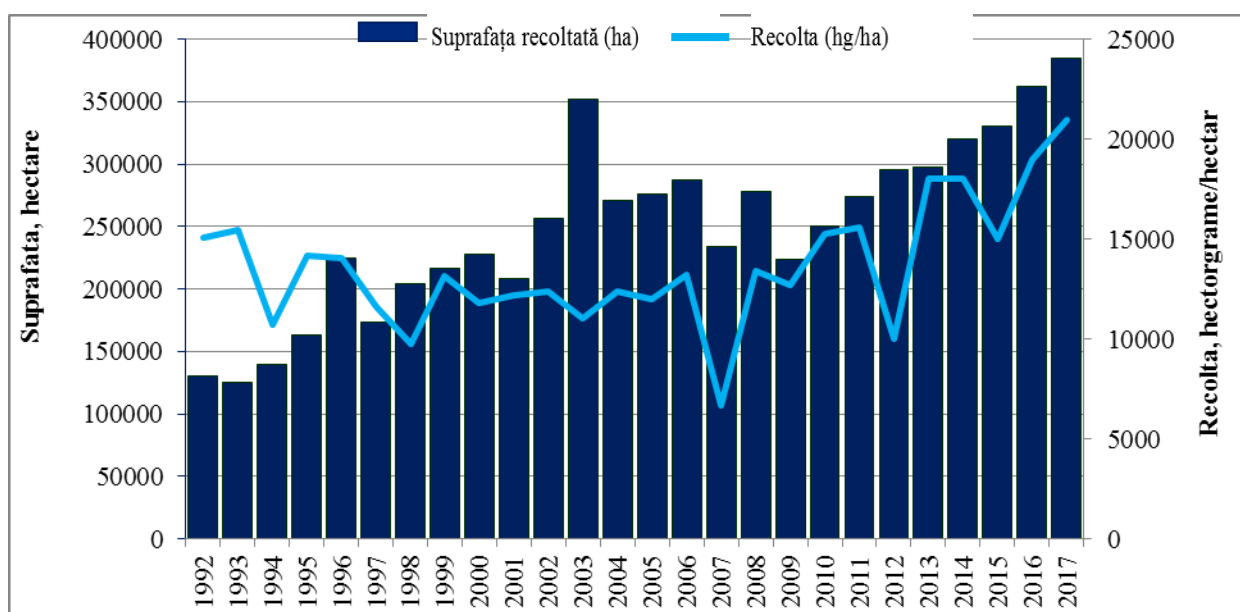


Fig. 4.1. Suprafața însămânțată și roada medie de floarea-soarelui în Republica Moldova [21].

De remarcat însă că, concomitent cu majorarea suprafețelor de însămânțare are loc, adesea, micșorarea semnificativă a recoltei de floarea-soarelui fapt ce se datorează, în mare parte, extinderii și exploatării iraționale a terenurilor care a condus la agravarea situației fitosanitare și nerespectarea asolamentelor, parcelarea excesivă a terenurilor cu aplicarea tehnologiilor agricole simplificate; excluderea utilizării fertilizanților, inclusiv a mranitei, subestimarea mijloacelor chimice de protecție contra bolilor și dăunătorilor; cultivarea în republică a hibrizilor și soiurilor de import, care nu au trecut testările științifice și de producție prevăzute de actele normative în vigoare; utilizarea pentru semănat a semințelor cu calități biologice inferioare, procurate de la firme neautorizate; uzarea fizică a mașinilor agricole de semănat, din cauza căreia în gospodării deseori se seamănă cu norme de semănat sporite, cu aranjarea neuniformă a plantelor în rânduri, încorporarea întârziată a semințelor, cu mari abateri de la termenii optimi; încălcarea termenelor de recoltare; creșterea pierderilor excesive în timpul recoltării din lipsa tehnicii corespunzătoare.

Nerespectarea asolamentelor determină creșterea evidentă a frecvenței și agresivității patogenilor [1, 9, 71] specifici culturii, precum fungii miceliali *Plasmopara halstedii*, *Puccinia helianthi*, *Sclerotinia sclerotiorum*, *Septoria helianthi*, *Verticillium dahliae*, angiosperma parazită *Orobanche cumana* [15, 79, 128, 150, 165, 166] etc. Ținând cont de cele expuse, este necesar de planificat în programul de dezvoltare a agriculturii reducerea suprafețelor ocupate de floarea soarelui, stabilind un nivel de 70 mii de hectare, cu o producție medie de 2-3,0 t/ha și o producție totală de 140-200 mii tone [23]. Totodată este necesară amplasarea acestei culturi cu respectarea strictă a cerințelor asolamentelor.

Strategia de dezvoltare a agriculturii prognozează că în viitor suprafețele cultivate cu floarea-soarelui vor crește în continuare, însă într-un ritm mai scăzut, tendința generală fiind de stabilizare a suprafețelor, datorită restricțiilor tehnologice (ponderea în structura culturilor) și implementării unor hibrizi noi rezistenți la atacul agenților fitopatogeni, cu performanțe productive și calitative ridicate.

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 pe plantă, masa hectolitrică și masa a 1000 boabe [93]. Numărul de semințe per plantă, care influențează producția de semințe, depinde de diametrul calatidiului, dar și de rata de semințe pline.

În acest context, este foarte important să se cunoască influența a diferiți 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. *O. cumana* reduce biomasa genotipurilor susceptibile în proporție de 50%, pierderea fiind compensată de biomasa parazitului [30, 114]. Principalii indici afectați de patogen sunt înălțimea plantei, diametrul calatidiului, numărul de semințe per calatidiu, conținutul de lipide și proteine în semințe etc. [49, 77, 82]. Pierderile de randament variază esențial în funcție de agresivitatea lupoaiei și condițiile climatice. Astfel, o ușoară manifestare a infecției poate reduce producția cu 5-20%, o infecție medie - cu 20-50% [69, 151], iar una cu nivel puternic între 80-90% [120].

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 hectolitrică 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.

#### 4.1. Talia plantei

Evaluarea taliei diferitor hibrizi de floarea- soarelui, în lipsa infecției, pe parcursul a 2 ani (2012, 2013) pune în evidență valori ce variază în limita de 144-178 cm, cu nivel maxim marcat de hibridul Performer și minim de genotipul HS 5822. De remarcă că în anul 2012, hibrizii analizați au prezentat valori mai înalte ale taliei, cuprinse preponderent în intervalul 167-178 cm, comparativ cu anul 2013 cu o valoare medie de 160 cm.

Pe de altă parte, valorile gradului de infestare cu lupoaie au fost mai scăzute în anul 2013, comparativ cu anul 2012, ceea ce se datorează faptului că în anul 2013, cantitatea de precipitații a fost mai înaltă, iar în condiții de umiditate ridicată, parazitul lupoaia se dezvoltă mai lent (Figura 4.2).

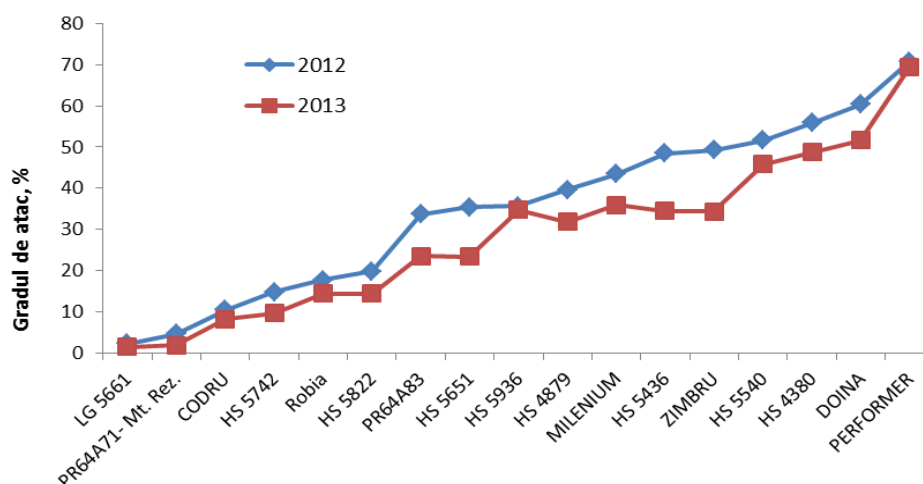


Fig. 4.2. Gradul de infestare cu *Orobancha cumana* Wallr. a diverși hibrizi de floarea-soarelui, 2012-2013.

Din cei 17 hibrizi incluși în cercetare, un grad ridicat de infestare cu lupoaie, în ambii ani, au prezentat hibrizii Doina, Performer, HS 4380, HS 5540 și hibridul Milenium, acesta din urmă manifestând un grad de toleranță la atacul parazitului, după cum reiese din studiul efectuat. Cel mai scăzut grad de infestare cu lupoaie l-au prezentat hibrizii LG 5661, Codru, Robia, HS 5742, HS 5822 și HS 5651. Hibridul PR64A71 a constituit martorul de rezistență, incidența gradului de infestare cu lupoaie fiind foarte scăzut (1,9% – 2013 și, respectiv, 4,7% în 2012) (Figura 4.2).

Ținând cont de cele expuse în lucrare sunt reflectate mai detaliat valorile indicilor de productivitate obținute în anul 2012, datele din 2013 servind în special pentru confirmarea sau infirmarea corelațiilor urmărite.

Conform datelor din anul 2013 (Figura 4.4), lupoaia nu a influențat înălțimea plantei, aceasta variind în limitele de 149-172 cm în lipsa infecției și 152-177 cm în prezența acesteia. În baza rezultatelor prezentate în Figura 4.4. se constată că la majoritatea hibrizilor analizați, în caz de infecție, valorile parametrului dat sunt la nivelul celor remarcate în lipsa infecției sau le depășesc neesențial, pe când în anul 2012 (Figura 4.3) acest indice a scăzut în medie cu 10%.

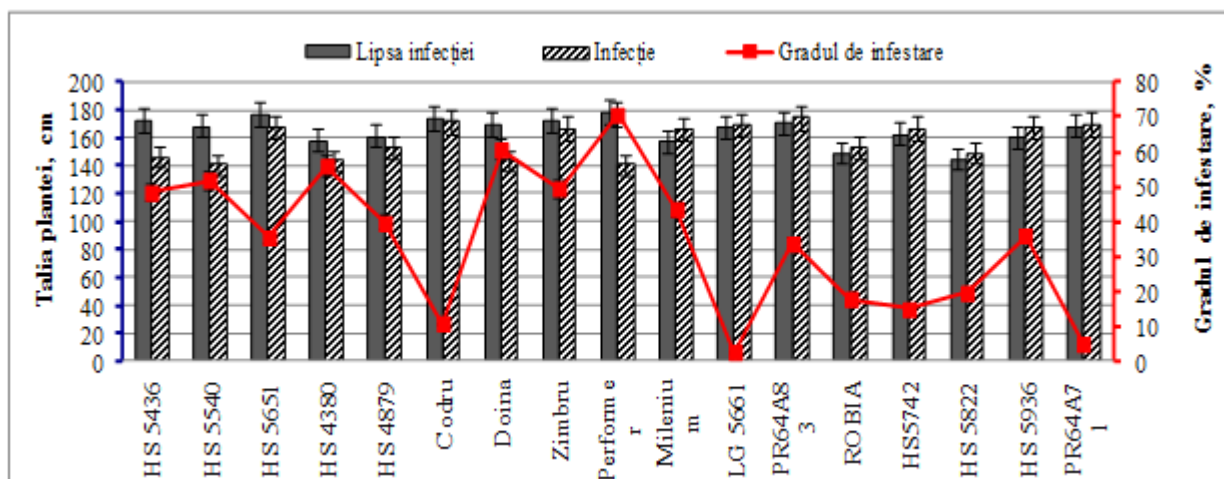


Fig. 4.3. Influența gradului de infestare cu *O. cumana* Wallr. (condiții de infectare naturală) asupra taliei plantei de floarea-soarelui, anul 2012.

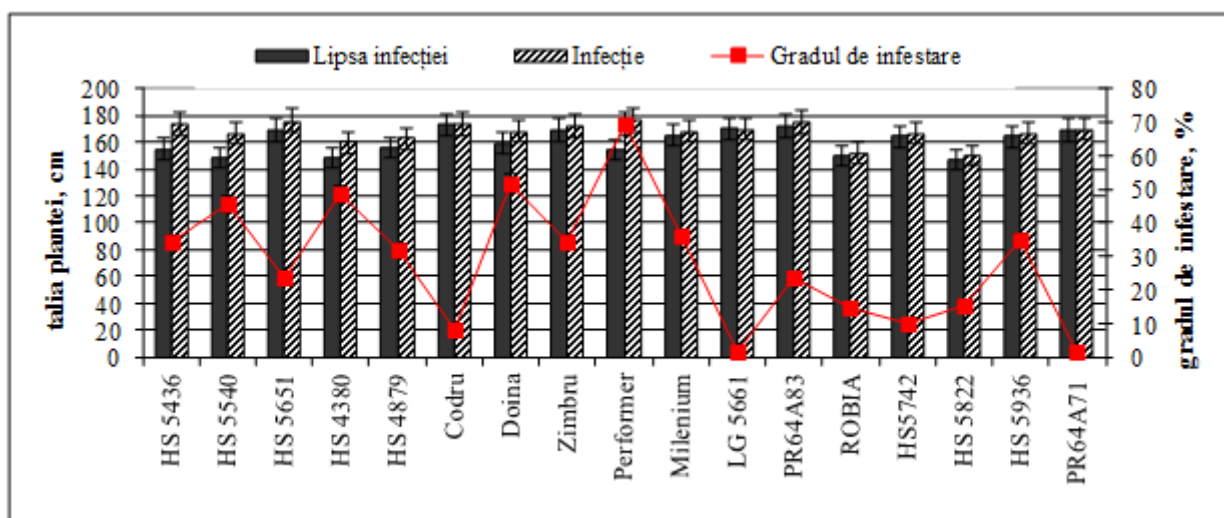


Fig. 4.4. Influența gradului de infestare cu *O. cumana* Wallr. (condiții de infectare naturală) asupra taliei plantei de floarea-soarelui, anul 2013.

Cel mai mult au fost afectați hibridii HS 5436, HS 5540, Doina și Performer, care prezentând valori cuprinse între 140-145 cm, comparativ cu 168-178 cm înregistrate în variantele cultivate pe câmpuri lipsite de infecție, indică o scădere de 15-21%. Diminuarea maximă a taliei plantei (21%) a fost constatată la hibridul Performer, care este sensibil la acțiunea parazitului lupoaiea și a manifestat cel mai înalt grad de infectare (70,8% în 2012 și 69,4% în 2013).

În cazul hibridilor HS 5651, HS 4380, HS 4879, Zimbru, Milenium, PR64A83 și HS 5936 nu au fost observate corelații dintre gradul de atac și talia plantei. 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.

Lipsa corelațiilor dintre talia plantei și gradul de atac cu lupoaie au fost constatate de Louarn J. și coautorii în cadrul analizei unei linii de floarea-soarelui [120].



## 4.2. Masa hectolitrică și masa a 1000 boabe

A fost studiată influența atacului parazitului lupoaia, în condiții de infestare naturală, asupra masei hectolitrică și masei a 1000 de boabe, pe parcursul a doi ani (2012 și 2013).

Valorile privind parametrul *masa hectolitrică* au variat în limitele de 32,0-43,7 kg în lipsa infecției și 25,3-40,7 kg în prezența acesteia, productivitatea maximă fiind prezentată de hibridul HS 5936 (Figura 4.5).

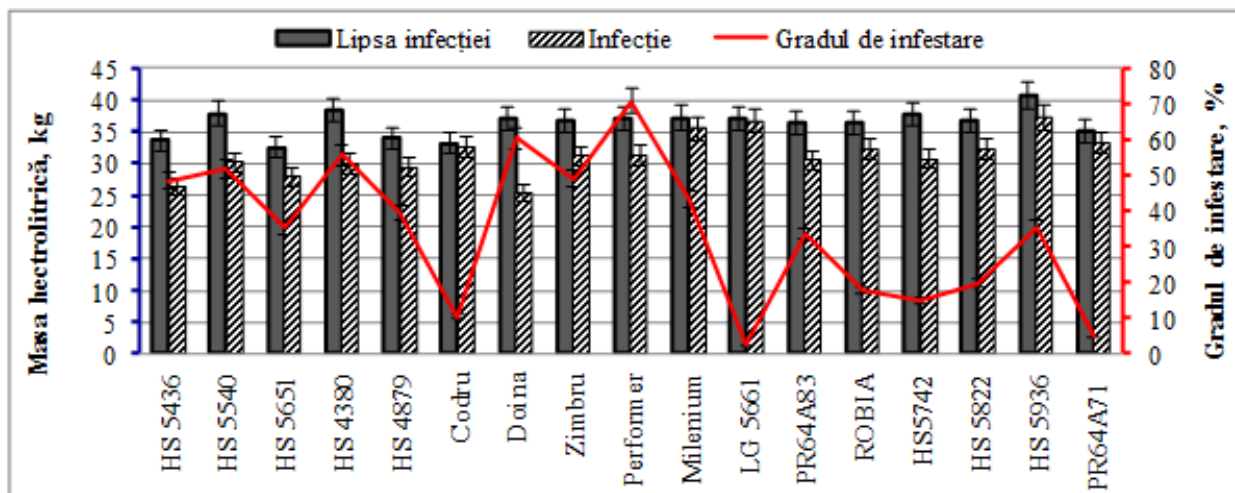


Fig. 4.5. Influența gradului de infestare cu *O. cumana* Wallr. (condiții de infectare naturală) asupra masei hectolitrică a semințelor de floarea-soarelui, anul 2012.

Masa hectolitrică a scăzut în medie cu 14% în condițiile anului 2012 și cu 10% în 2013 (Figura 4.6), corespunzător. În anul 2013 indicele analizat varia între 35,0-43,7 kg în lipsa infecției și 30,0-40,7 kg în prezența acesteia, prezentând diminuări mai majore – 11,5 și, respectiv, 16,6%, în cazul hibridelor HS 5436 și Performer.

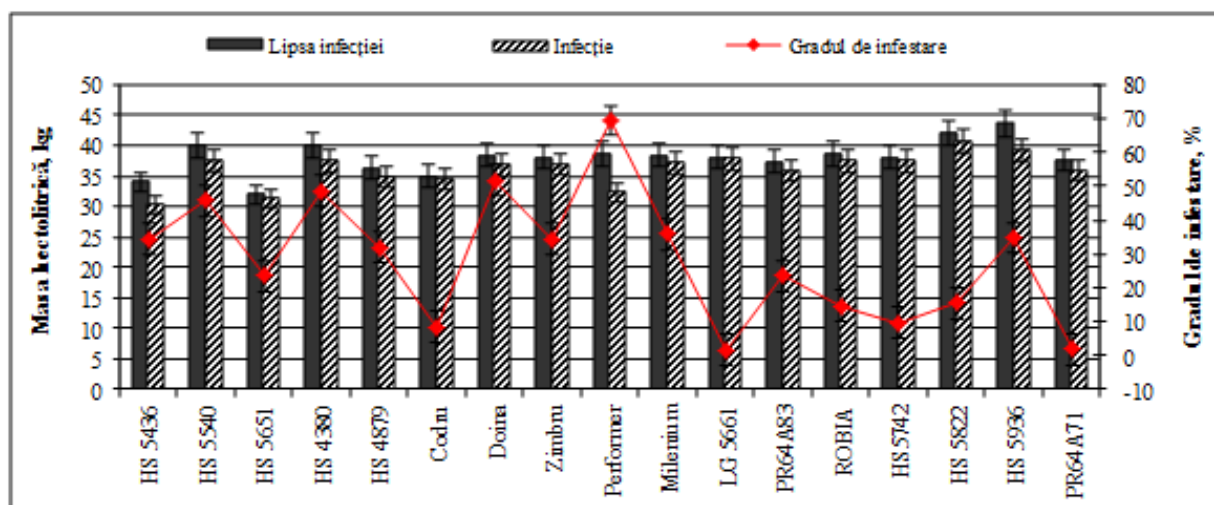


Fig. 4.6. Influența gradului de infestare cu *O. cumana* Wallr. (condiții de infectare naturală) asupra masei hectolitrică a semințelor de floarea-soarelui, anul 2013.

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 lupoaie, gradul de infestare variind între 48,5-60,4%.

La hibridul Performer cu cel mai înalt nivel de atac masa hectolitrică a fost însă influențată într-o măsură mai mică, constituind 31,3 kg față de 37,0 kg în anul 2012 și, respectiv, 32,2, comparativ cu 38,6 kg în 2013, diminuarea fiind în jur de 15%.

Masa a 1000 semințe a înregistrat, la fel, valori din cele mai scăzute, în cazul unui grad ridicat de infestare (Figura 4.7, 4.8). În anul 2012, masa a 1000 semințe a constituit valori scăzute în condiții de infestare cu lupoaie, comparativ cu condiții de lipsă de infestare, constituind în mediu 58,6 g, față de 65,2 g. Indicii inferiori au fost obținuți pentru hibridii HS 5651 – 50,7 g în prezența infecției, față de 59,7 g în prezența acesteia; HS 5436 – 43,4, față de 60,3 g; HS 5540 – 40,8, comparativ cu 61,5 g și Doina cu valori de 52,4 și, respectiv, 68,1 g, pierderile variind între 15-33,7%, cu maxim la hibridul HS 5540 (33,7%), urmat de HS 5436 (28,0%).

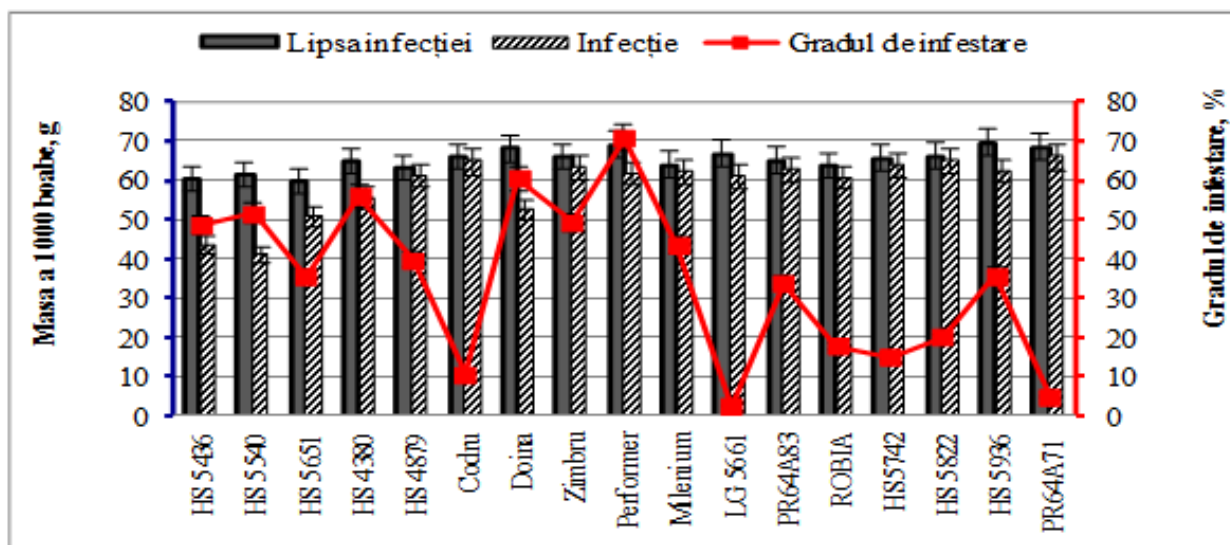


Fig. 4.7. Influența gradului de infestare cu *O. cumana* Wallr. (condiții de infectare naturală) asupra masei a 1000 semințe de floarea-soarelui, anul 2012.

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 anul 2013, parametrul masa a 1000 boabe în condiții de infestare a fost cel mai mult afectat pentru hibridii: HS 5540 – 59,7, față de 74,2 g; HS 4879 – 60,7 și 70,4 g, corespunzător; Doina – 63,0 și, respectiv, 72,0 g și HS-5936 cu valori de 61,2 comparativ cu 72,4 g, diminuarea constituind 12,5 -19,5% (Figura 4.8).

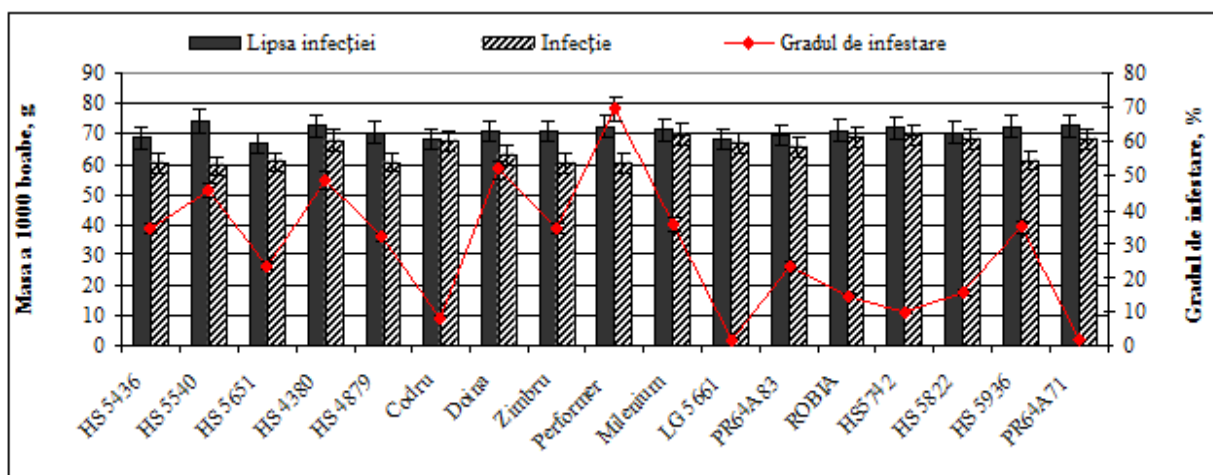


Fig. 4.8. Influența gradului de infestare cu *O. cumana* Wallr. (condiții de infectare naturală) asupra masei a 1000 semințe de floarea-soarelui, anul 2013.

În cazul hibridului Milenium, care s-a caracterizat printr-un grad ridicat de infestare cu lupoaie, valorile masei hectolitric și masei a 1000 semințe, în ambii ani, nu au prezentat diferențe majore, comparativ cu varianta neinfectată.

Astfel, 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. Masa a 1000 boabe este influențată de atacul parazitului *O. cumana*, valorile cele mai scăzute înregistrându-se la hibridii sensibili la atacul parazitului.

### 4.3. Diametrul calatidiului și rata semințelor pline per calatidiu

Rezultatele privind influența atacului parazitului asupra parametrilor *diametrul calatidiului* și *rata de semințe pline per calatidiu* sunt prezentate în Figura 4.9-4.12.

S-a constatat că acești indici sunt puternic influențați de atacul de lupoaie. 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 4.9, 4.11). Pierderi semnificative de productivitate (19%) la hibridul Performer, lipsit de gene de rezistență, au fost raportate și de Pricop S.-M. și coaut. [151].

Printr-o diminuare esențială a nivelului parametrilor analizați se distinge și hibridul susceptibil Doina care prezintă valori ale diametrului calatidiului de 13,4 cm, în condiții de infecție, față de 21,1 cm, în 2012 și respectiv, 14,8 comparativ cu 20,4 cm în 2013 (Fig. 4.10), diminuarea constituind 36,5 și 27,5%, corespunzător. De asemenea hibridul denotă o rată scăzută de semințe pline per calatidiu, acesta fiind mai redusă cu 23,9, respectiv, 27,4%.

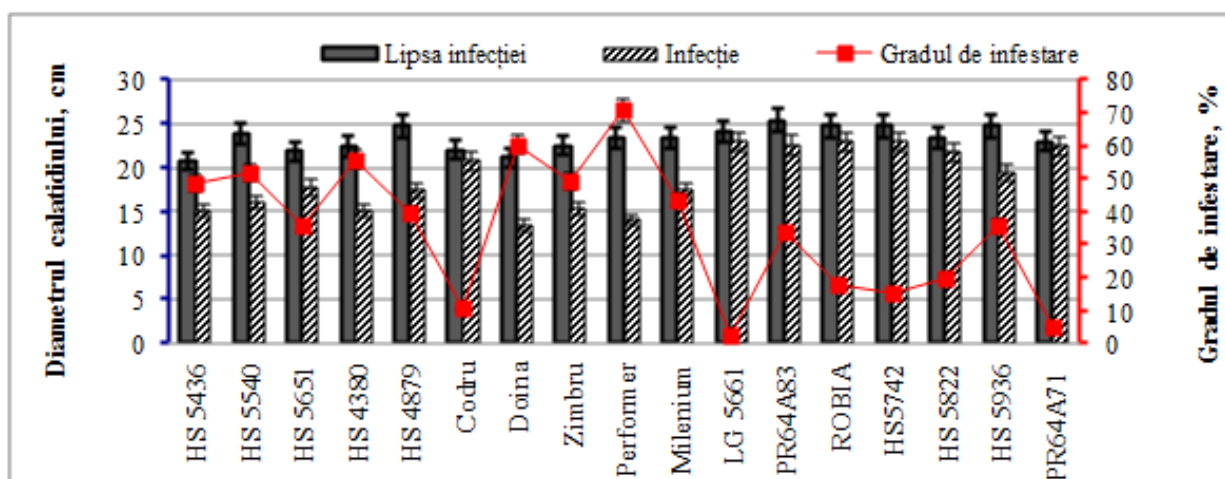


Fig. 4.9. Influența gradului de infestare cu *O. cumana* Wallr. (condiții de infectare naturală) asupra diametrului calatidiului de floarea-soarelui, anul 2012.

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 jos grad de infestare calatidiile au practic aceleași dimensiuni ca și probele cultivate în lipsă de infecție.

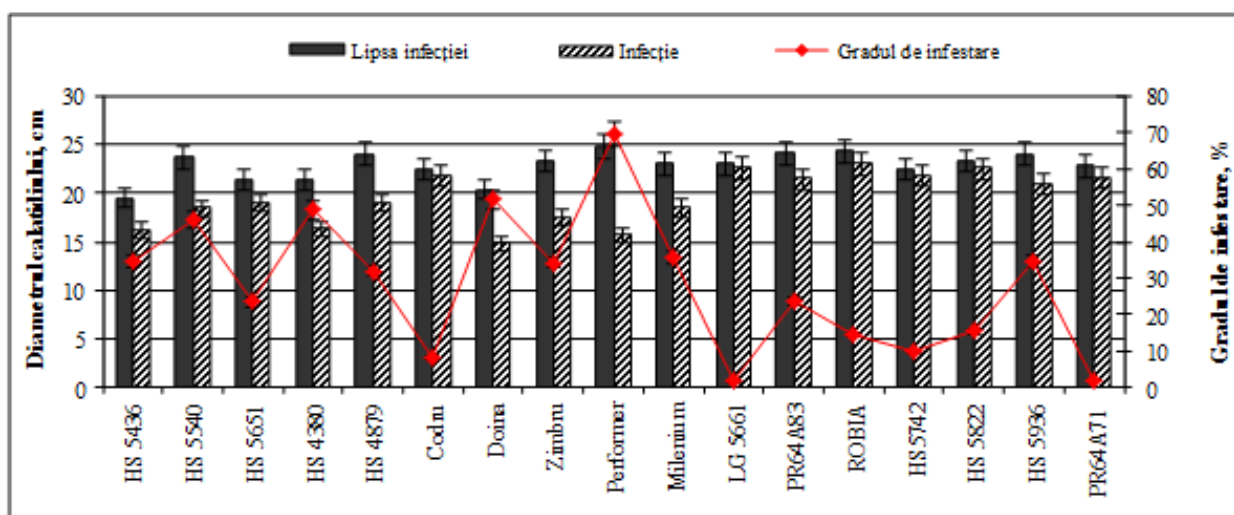


Fig. 4.10. Influența gradului de infestare cu *O. cumana* Wallr. (condiții de infectare naturală) asupra diametrului calatidiului de floarea-soarelui, anul 2013.

O scădere mai pronunțată (15,6-23,0%) a ratei de semințe pline per calatidiu în condiții de infestare cu lupoaiă a fost fixată la hibridii, HS-4380, HS 5540, HS-4879, Zimbru, Doina și Performer (Figura 4.11 și 4.12).



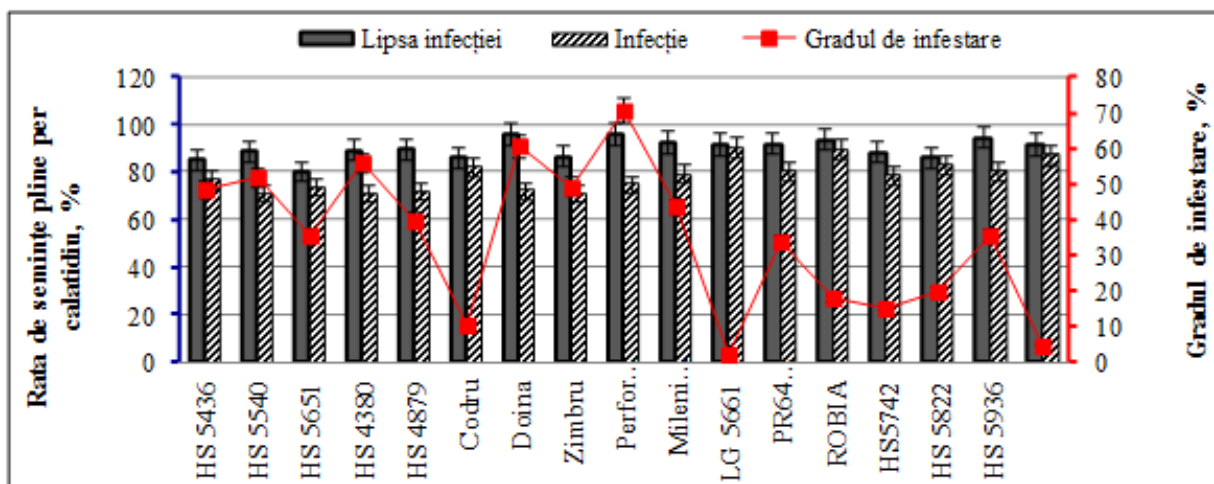


Fig. 4.11. Influența gradului de infestare cu *O. cumana* Wallr. (condiții de infectare naturală) asupra ratei de semințe pline per calatidiu, anul 2012.

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

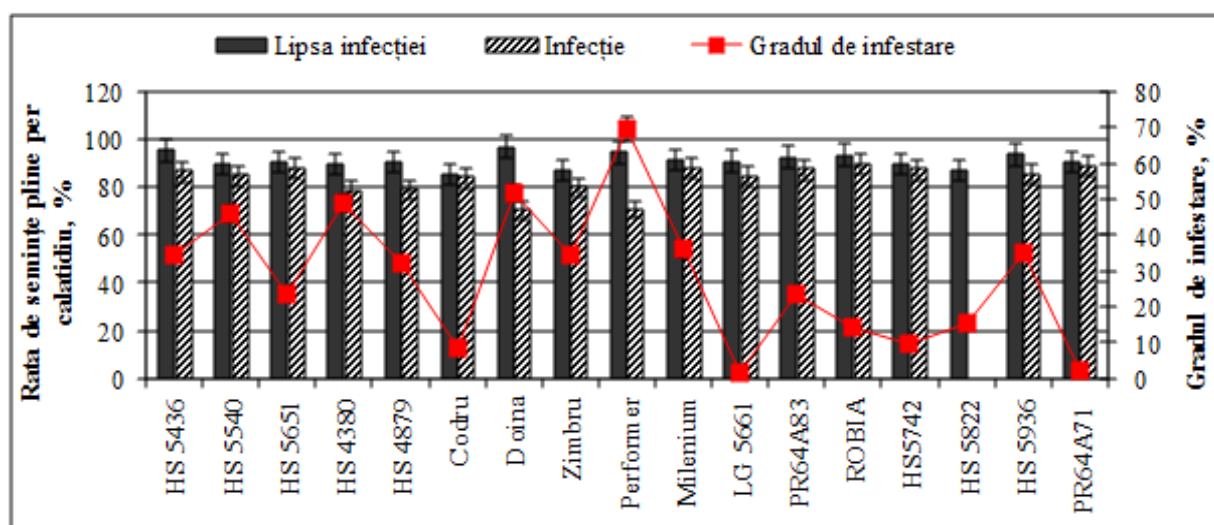


Fig. 4.12. Influența gradului de infestare cu *O. cumana* Wallr. (condiții de infectare naturală) asupra ratei de semințe pline per calatidiu, anul 2013.

Generalizând rezultatele obținute se atestă că parametrii analizați sunt afectați de atacul lupoaiei, 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 P. și coautorii [160]. Corelațiile stabilite sunt confirmate prin datele anului 2013 (Figura 4.12), 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 lupoaie, pe câmpuri infectate parametrii de productivitate nu au fost afectați, diferențele dintre variantele cultivate în lipsă de infecție fiind încadrate în limita a 5% [87].

Alcantara și colab., care similar au stabilit influența negativă a infecției cu lupoaie asupra înălțimii plantei și diametrului calatidiului, au propus două ipoteze privind mecanismele de acțiune a parazitului asupra parametrilor dați. Astfel, una dintre ipoteze se rezumă la faptul că lupoaia având nevoie de gibereline pentru asigurarea creșterii lăstarilor îi preia din organismul gazdei, provocând o deficiență de hormoni și, finalmente, un retard în dezvoltarea culturii. Conform celei de-a doua ipoteze modificările observate sunt rezultatul unor perturbații a fiziologiei plantei gazdă provocată de parazit sau a competiției directe pentru nutrienții minerali [49].

#### **4.4. Producția de semințe**

Producția de semințe la floarea-soarelui este foarte mult influențată de diferiți factori de stres, parazitul lupoaia constituind unul dintre cei mai importanți, în ultima perioadă. Studiul diferiților hibridi de floarea-soarelui, atât comerciali cât și experimentali, în condiții de infestare, dar și de lipsă a infecției, a permis obținerea de informații privind influența atacului parazitului asupra producției de semințe, precum și comportarea acestor hibridi, în condiții de infestare. Au fost studiați un șir de hibridi din România, precum și hibridi experimentali și comerciali creați în cadrul companiei AMG-Agroselect cu reacții diferite la atacul *O. cumana* Wallr. Cercetările au fost realizate în condiții de infestare naturală în câmpuri unde se întâlnesc populații ale parazitului cu grade diferite de virulență, precum și în câmpuri neinfestate, pe parcursul a doi ani (2012, 2013). Hibridii au fost evaluați 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.

În tabelul 4.1, sunt prezentate rezultatele privind gradul de atac cu lupoaie, în anul 2012, în localitățile menționate, în particular pentru fiecare hibrid. Cel mai mare grad de infestare a fost înregistrat în localitatea Valea Cânepii, Brăila, urmată de localitățile Cuza-Vodă, Constanța și Țândărei, Ialomița. A pusă în evidență lipsa sau/și nivelul scăzut al infecției în câmpul din localitatea Peștera, unii hibridi fiind slab afectați – 2,6-5,9%.

Tabelul 4.1. Gradul de atac al parazitului *O. cumana* Wallr., pentru zece hibrizi de floarea-soarelui, studiați în șase localități, în anul 2012

Hibridul	Localitatea/Gradul de atac (%)					
	Valea Cânepii, Brăila	SCA, Braila	Țândărei, Ialomița	Iazul, Ialomița	Cuza Vodă, Constanța	Peștera, Constanța
Favorit	38,7	20,2	19,4	0,4	39,6	0,0
PR 1	4,7	0,9	0,0	0,0	4,3	0,0
Codru	5,9	0,5	0,7	0,0	6,3	0,0
Doina	65,6	45,2	39,6	28,4	51,6	2,6
HS 4723	58,4	44,2	36,5	30,4	48,8	3,5
Performer	70,3	44,7	51,3	47,9	69,7	3,8
LG 5661	2,3	0,0	0,0	0,0	0,9	0,0
HS 5034	33,4	20,4	23,5	19,7	38,9	4,7
HS 3045	52,3	39,7	32,4	27,8	55,5	5,9
HS 3655	42,4	23,8	27,9	24,2	47,8	4,9
Martor sensibil	81,2	45,3	63,5	55,9	82,7	5,5
Martor rezistent	2,0	0,0	0,0	0,0	1,4	0,0

Printre hibrizii puternic atacați se enumeră HS-4723 (30,4-58,4%), HS 3045 (27,8-55,5%), Doina (28,4-65,6%) și Performer (44,7-70,3%).

De menționat că în anul 2013, gradul de atac al parazitului a fost mai scăzut (Tabelul 4.2.), comparativ cu anul 2012. Gradul mai ridicat de atac, în anul 2012, fiind explicat prin faptul că acest an a fost mai sărac în precipitații, comparativ cu anul 2013, iar parazitul se dezvoltă mai greu, în condiții de umiditate ridicată a solului (așa cum a fost în 2013).

Tabelul 4.2. Gradul de atac al parazitului *O. cumana* Wallr., pentru zece hibrizi de floarea-soarelui, studiați în șase localități, în anul 2013

Hibridul	Localitatea/Gradul de atac (%)					
	Valea Cânepii, Brăila	SCA, Braila	Țândărei, Ialomița	Iazul, Ialomița	Cuza Vodă, Constanța	Peștera, Constanța
Favorit	30,2	18,4	13,7	0,0	30,2	0,0
PR 1	3,2	0,0	0,0	0,0	2,9	0,0
Codru	5,0	0,0	0,0	0,0	5,7	0,0
Doina	58,8	40,3	32,6	25,5	50,2	3,9
HS 4723	50,4	39,4	33,7	31,0	55,6	2,0
Performer	55,3	45,3	30,2	33,5	41,7	4,2
LG 5661	1,8	0,0	0,0	0,0	0,4	0,0
HS 5034	24,8	14,7	16,5	11,6	21,8	2,9
HS 3045	43,4	27,2	21,5	19,6	41,8	3,2
HS 3655	30,6	14,2	18,5	12,7	33,5	2,3
Martor sensibil	69,6	37,4	53,5	42,9	70,7	4,0
Martor rezistent	1,2	0,0	0,0	0,0	0,9	0,0

În anul 2013, gradul de atac al parazitului a fost, similar anului 2012, mai ridicat în zona Brăila, Valea Cânepii, urmat de Cuza Vodă, Constanța și Țândărei, Ialomița. Aceeași tendință este urmărită și în cazul hibrizilor prin cel mai înalt nivel de infestare caracterizându-se hibrizii HS-4723, HS 3045, Doina și Performer menționați anterior.

După cum s-a constatat în cercetările descrise mai sus, producția de semințe este unul dintre parametrii cei mai afectați de atacul parazitului lupoaia. Testările ce au inclus hibrizi cu reacții distincte la patogen (rezistenți – Codru, LG 5661, Favorit și sensibili– HS 4723 și Doina), cu extinderea semnificativă a numărului de câmpuri analizate, vor oferi informații importante privind diferențele de producție între hibrizi, în locuri infestate și neinfestate cu lupoaie, amplasate în diferite zone geografice, variate după condițiile climaterice, indicii pedo-microbiologice și incidența parazitului.

Hibrizii testați pentru producția de semințe realizată în condiții de infestare și lipsă de infecție, în anul 2012 (Tabelul 4.3). au prezentat diferențe în ceea ce privește producția realizată, în cele 6 localități.

Tabelul 4.3. Producția de semințe a hibrizilor de floarea-soarelui, testați în prezența și lipsa infecției cu lupoaie, în anul 2012 (kg/ha)

Hibridul	Localități						Media	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

În Peștera, Constanța s-a înregistrat o producție maximă de semințe, pentru toți hibrizii testați în prezența și lipsa infecției cu lupoaie. Hibrizii HS 4723, Codru, Doina, Favorit, LG 5661 au prezentat cea mai mică producție de semințe în localitățile Valea Cânepii, Brăila, iar hibrizii Doina și LG 5661 - în Cuza Vodă, Constanța. 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 - hibridul Doina (2024 kg/ha).

Cel mai mic coeficient de variație fiind înregistrat în cazul hibridului Codru (10,00), 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%.



În anul 2013 (Tabelul 4.4), coeficientul de variație în ceea ce privește producția de semințe realizată în cele 6 localități, a avut valoarea cea mai mică, în cazul hibridului rezistent Codru (9,1%), urmat de hibridul Favorit cu valoarea de 24,3%. Pentru hibridii sensibili la atacul lupoaiei productivitatea de semințe a variat cu 39,3; 41,9%.

Tabelul 4.4. Producția de semințe a hibridilor de floarea-soarelui, testați în prezența și lipsa infecției cu lupoaie, în anul 2013 (kg/ha)

Hibridul	Localități						Media	Coeficient de variație (%)
	Valea Cânepii Brăila	SCA, Braila	Țândărei, Ialomița	Iazul, Ialomița	Cuza Vodă, Constanța	Peștera, Constanța		
HS 4723	1234	2980	2900	3589	1450	3544	2616	39,3
Doina	1195	2343	2417	2524	1083	3520	2180	41,9
Codru	2840	3520	3486	3654	3575	3695	3462	9,1
Favorit	2275	3686	2560	3685	2238	3683	3021	24,3
LG 5661 (martor)	3875	3794	3735	3774	3670	3784	3772	1,8

Analizând valoarea medie a producției de semințe a hibridilor de floarea-soarelui, se constată că cea mai mare valoare medie a producției de semințe a fost atestată la hibridul LG 5661 (3772 kg/ha), cea mai mică - hibridul Doina (2024 kg/ha), la fel ca și în anul 2012. Hibridii Doina, Codru au prezentat o producție maximă de semințe a hibridilor de floarea soarelui în localitatea Peștera, Constanța, hibridii HS 4723 și Favorit – Iazul, Ialomița, hibridul LG 5661 - Valea Cânepii, Brăila. Cea mai mică producție de semințe a fost înregistrată în cazul a patru dintre hibridii cercetați (HS 4723, Codru, Doina și LG 5661) în localitatea Valea Cânepii, Brăila, în timp ce hibridii Doina, Favorit și LG 566 au arătat producție minimă în localitatea Cuza Vodă, Constanța.

Analiza producției de semințe a genotipului Favorit în comparație cu hibridii Performer (susceptibil) și PR 1 (rezistent), în șase localități din România în care parazitul lupoaia prezintă grade diferite de infestare, indică faptul că, în anul 2012, coeficientul de variație a avut cea mai mare valoare (52,53%) (Tabelul 4.5).

Tabelul 4.5. Producția de semințe realizată în anul 2012, de hibridul Favorit, comparativ cu hibridii Performer și PR 1, în zone cu diferite grade de infestare cu lupoaie

Hibridul	Localități						Media	Coeficient de variație (%)
	Tulcea	Cuza Vodă	Gradina	Iazul	Crucea	Brăila		
Favorit	1896	1187	1290	3475	943	2876	1945	52,53
Performer	1067	772	832	1654	573	1472	1062	39,84
PR 1	3756	3148	3485	3654	2357	3863	3377	16,55

Diferențele semnificative în producția de semințe se datorează faptului că hibridul Favorit, rezistent la rasa F de *O. cumana*, este mai slab afectat în localitățile în care sunt prezente rase mai puțin agresive ale parazitului și puternic afectat în zone caracterizate prin prezența raselor de lupoaie mai sus de F. În anul 2013, hibridul Favorit a prezentat de asemenea cea mai mare variație a producției de semințe realizată în cele șase localități, valoarea coeficientului fiind mai mică, având în vedere gradul de atac mai scăzut al parazitului (Tabelul 4.6).

Tabelul 4.6. Producția de semințe realizată în anul 2013, de hibridul Favorit, comparativ cu hibridii Performer și PR 1, în zone cu diferite grade de infestare cu lupoaie

Hibridul	Localități						Media	Coeficient de variație (%)
	Tulcea	Cuza Vodă	Gradina	Iazu	Crucea	Brăila		
Favorit	2236	1870	1945	3660	1176	2984	2312	38,18
Performer	1270	1185	1289	2140	987	1895	1461	30,86
PR 1	3634	3420	3557	3670	3180	3746	3535	5,83

Pentru că hibridul Favorit este un hibrid de floarea-soarelui foarte cunoscut, ca fiind rezistent la șase rase ale parazitului lupoaia (A-F), rase 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). În figura 4.13 și 4.14 sunt prezentate rezultatele privind producția hibridului HS 4723, un hibrid sensibil la atacul de lupoaie, comparativ cu hibridul Favorit, în anul 2012 și 2013.

Cele mai mari diferențe de producție, între cei doi hibridi, au fost constatate în câmpurile din Valea Cânepii, Brăila, Cuza Vodă, Constanța și Mircea Vodă, Brăila. În localitățile Iazu și Peștera, unde gradul de infestare cu lupoaie a fost scăzut, producția realizată de cei doi hibridi a fost practic similară, prezentând valori înalte de 3496 kg/ha și 3790 kg/ha, respectiv, 3585 kg/ha și 3704 kg/ha (Figura 4.13).

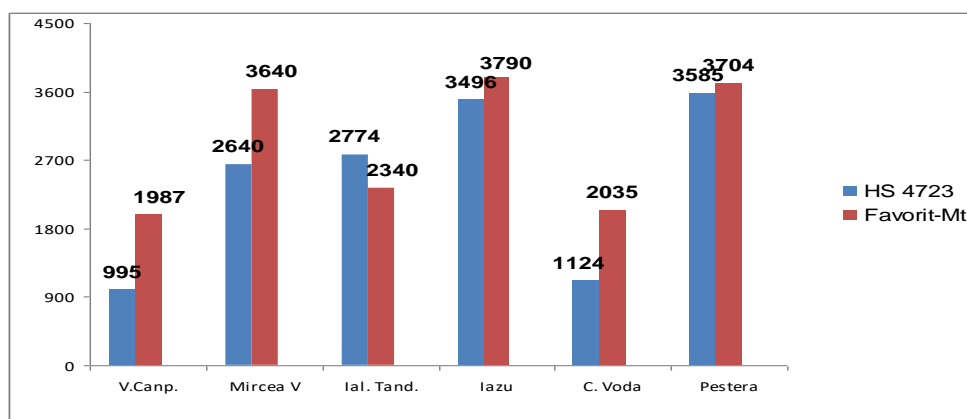


Fig. 4.13. Producția de semințe la hibridul de floarea-soarelui HS 4723, comparativ cu hibridul Favorit, în prezența și lipsa infecției cu parazitul lupoaia, în anul 2012.

În anul 2013, producția realizată de cei doi hibrizi a fost mai mare, comparativ cu anul 2012, ajungând până la 3685 kg/ha, cea mai mare diferență fiind înregistrată la fel în localitatea Valea Cânepii – Brăila, unde gradul de atac al parazitului a fost cel mai mare (Figura 4.14).

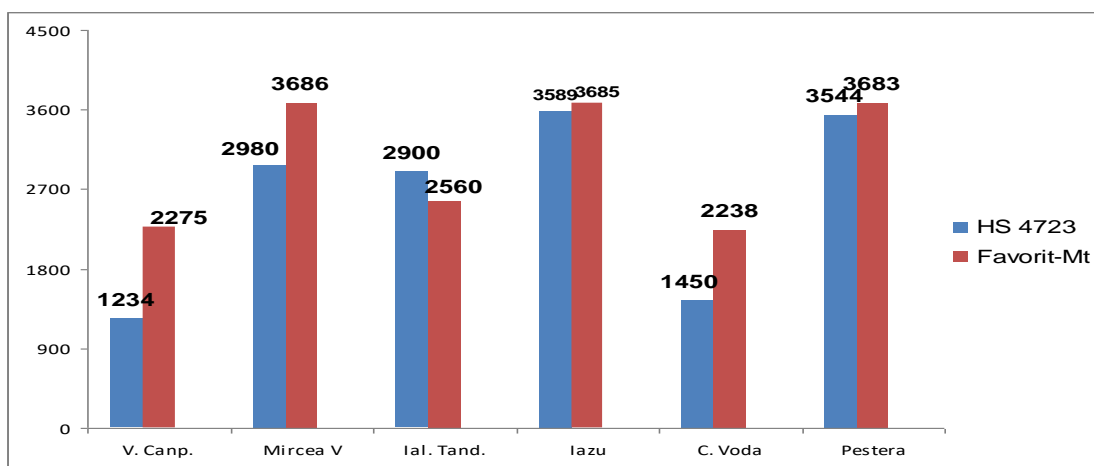


Fig. 4.14. Producția de semințe la hibridul de floarea soarelui HS 4723 comparativ cu hibridul Favorit, în prezența și lipsa infecției cu parazitul lupoaia, în anul 2013.

Similar, hibrizii s-au caracterizat prin productivitate stabilă, cu valori practic identice în localitatea Iazu și Peștera cu un grad redus de infecție.

La faza ulterioară a investigațiilor, s-a făcut o comparație, în ceea ce privește producția de semințe, între hibridul Favorit și hibridul Performer, total sensibil la atacul parazitului, dar și hibridul PR 1, care este rezistent la rasele cele mai virulente (rasele G, H) de lupoaie.

În primul caz, s-a constatat că în anul 2012, când atacul parazitului a fost mai intens, ambii hibrizi au realizat producții foarte scăzute în zonele puternic infestate (Valea Cânepii, Cuza Vodă și Țândărei) (Figura 4.15).

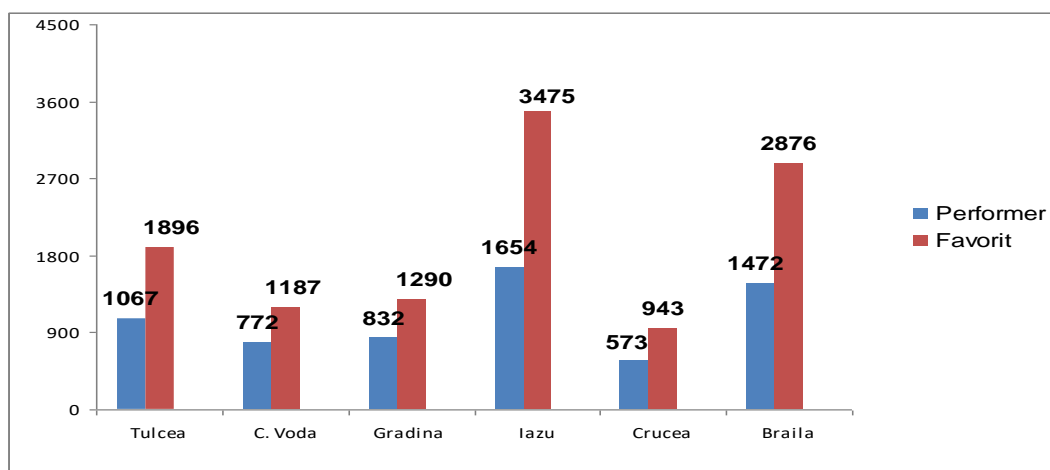


Fig. 4.15. Producția de semințe în diferite zone infestate cu lupoaie la hibridul Favorit, comparativ cu hibridul Performer, în anul 2012.

Hibridul Favorit a manifestat valori mai înalte ale producției de semințe 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 la ambii hibrizi, în localitatea Crucea-Constanța.

În anul 2013, producția realizată de hibrizii Performer și Favorit a fost mai mare, comparativ cu anul 2012, urmărindu-se însă un tablou similar. Astfel, cele mai mici valori ale roadei s-au înregistrat în cazul genotipului Performer, în localitățile Crucea, Cuza Vodă și Grădina, toate situate în zona Constanța (Figura 4.16.).

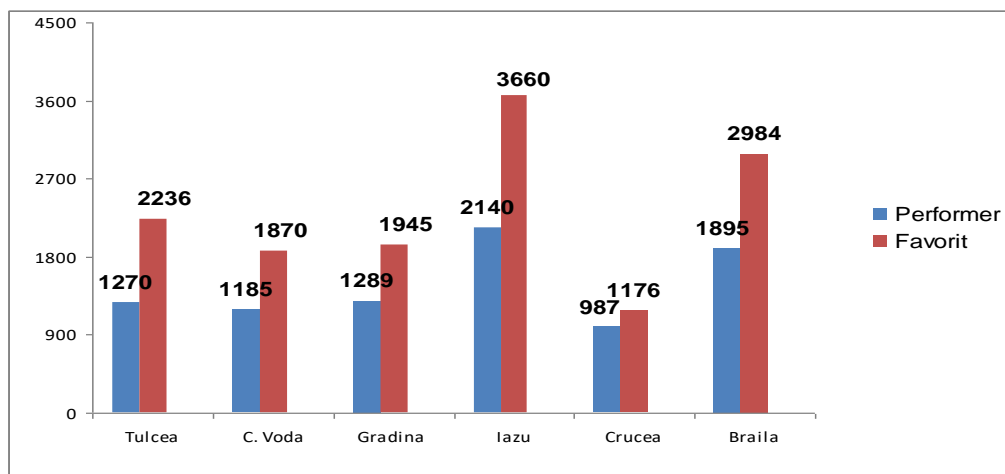


Fig. 4.16. Producția de semințe în diferite zone infestate cu lupoai la hibridul Favorit, comparativ cu hibridul Performer, în anul 2013.

Producția de semințe realizată de hibridul Favorit, comparativ cu hibridul PR 1 rezistent la rase foarte agresive de lupoai, în anul 2012 (Fig. 4.17) 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.

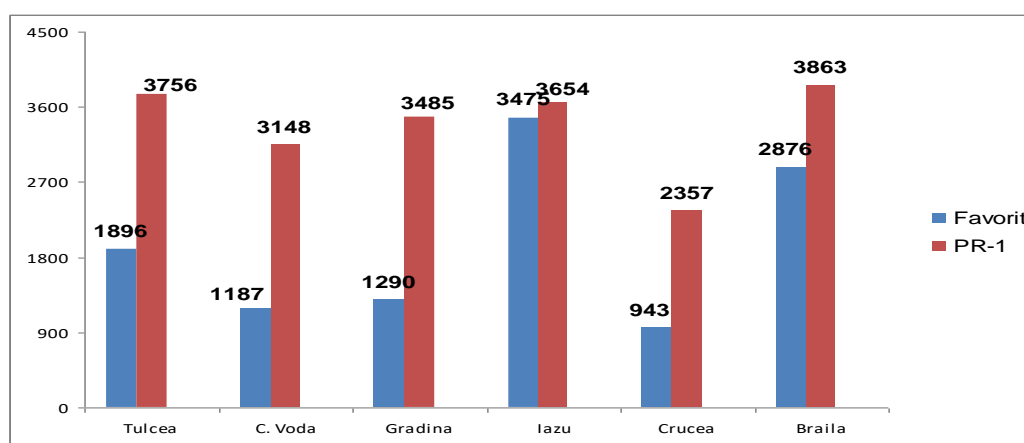


Fig. 4.17. Producția de semințe la hibridul Favorit, comparativ cu hibridul PR-1, în diferite zone infestate cu parazitul lupoai, în anul 2012.

În anul 2013, 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 (Fig. 4.18.).

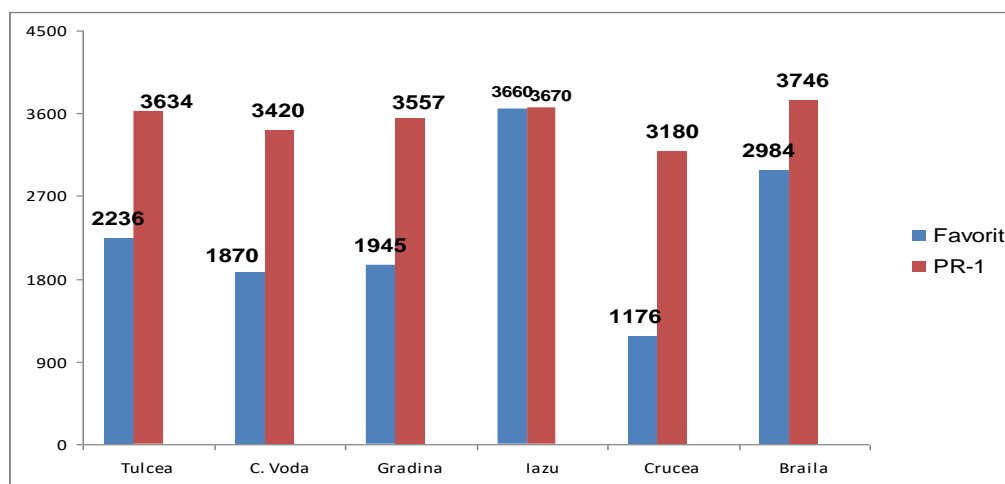


Fig. 4.18. Producția de semințe la hibridul Favorit, comparativ cu hibridul PR-1, în diferite zone infestate cu parazitul lupoaia, în anul 2013.

În figura 4.19 sunt prezentate rezultatele producției de semințe a hibridului Codru (un hibrid cu grad ridicat de rezistență la atacul parazitului lupoaia) comparativ cu hibridul Doina, un hibrid de floarea-soarelui sensibil la atacul acestui parazit, în anul 2012.

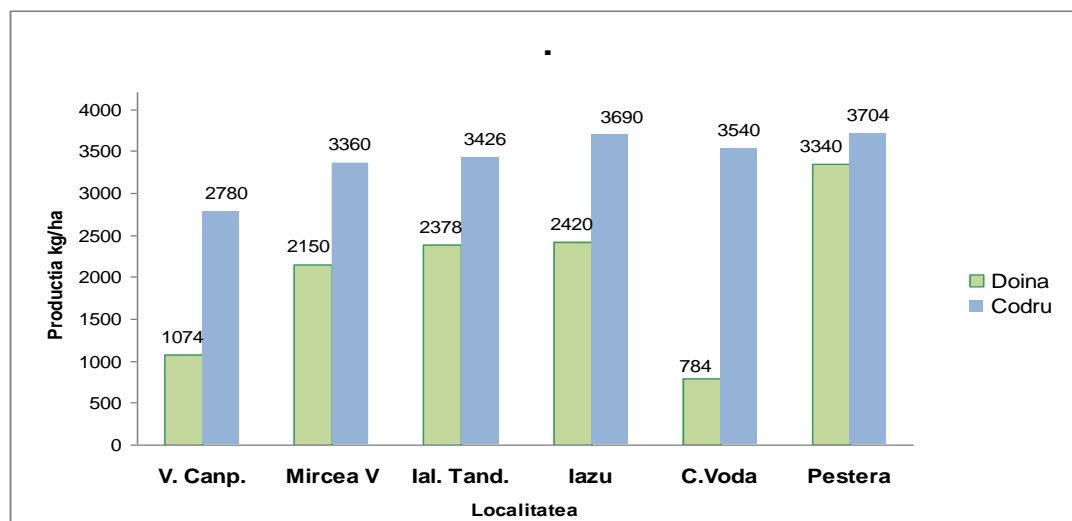


Fig. 4.19. Producția de semințe realizată de hibridii Doina și Codru, în condiții de infestare și neinfestare cu parazitul lupoaia, în anul 2012.

În toate localitățile, cu excepția localității Peștera, Constanța, au existat diferențe mari de producție între cei doi hibridi, cea mai mare diferență fiind în localitatea Cuza Vodă, Constanța.

În anul 2013, diferențele de producție între cei doi hibridi au fost mai mici, atacul parazitului fiind mai scăzut. Foarte apropiate au fost producțiile realizate de cei doi hibridi, în localitatea Peștera, Constanța, unde gradul de atac al parazitului a fost extrem de scăzut (Figura 4.20).

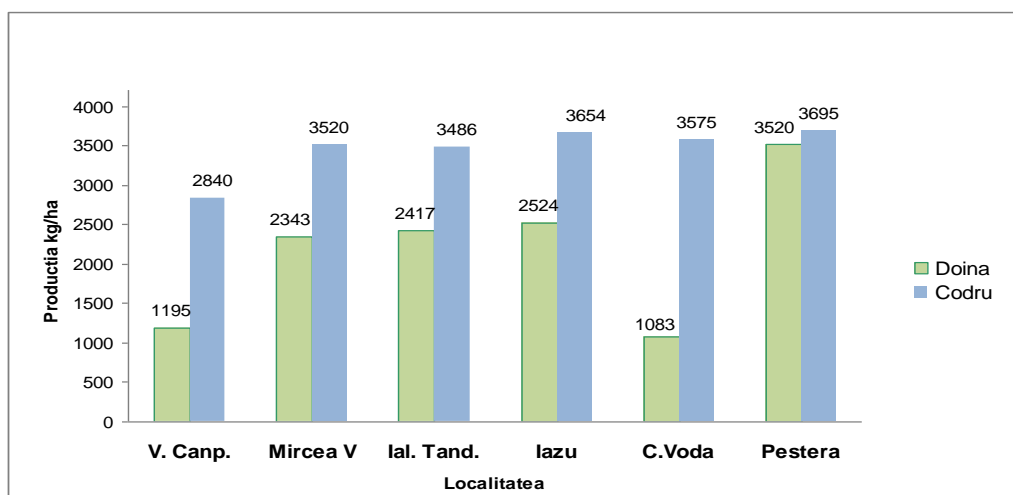


Fig. 4.20. Producția de semințe realizată de hibrizii Doina și Codru, în condiții de infestare și neinfestare cu parazitul lupoaia, în anul 2013.

Generalizând rezultatele obținute putem menționa că producția de semințe realizată de hibrizii 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 [19].

#### 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 [30], 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 [49, 160].

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.

În figura 4.21 sunt prezentate rezultatele cu referire la hibridii LG 5661, Favorit și Performer obținute în anul 2012 în șase localități, în condiții de infestare și în lipsa infecției cu lupoaie.

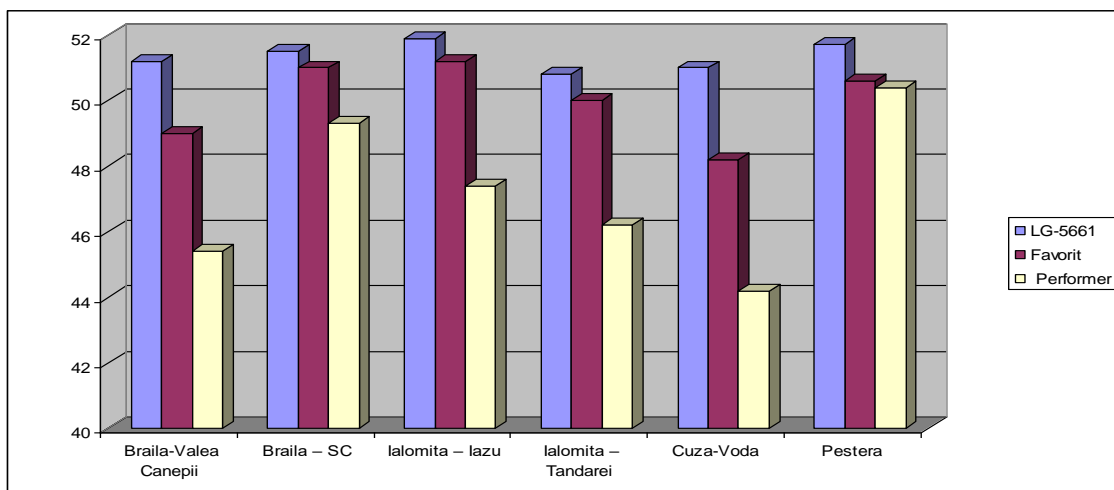


Fig. 4.21. Conținutul de ulei (%) pentru hibridii de floarea-soarelui Favorit, Performer și LG 5661, cultivați în diferite zone infestate și neinfestate cu lupoaie, anul 2012.

Se constată că în localitățile cu grad mic de infestare, toți cei trei hibridi 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 se 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 gard 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.

În anul 2013 conținutul de ulei în semințe la hibridii studiați a fost în general mai scăzut (Figura 4.22), având în vedere faptul că anul a fost mai ploios comparativ cu 2012.

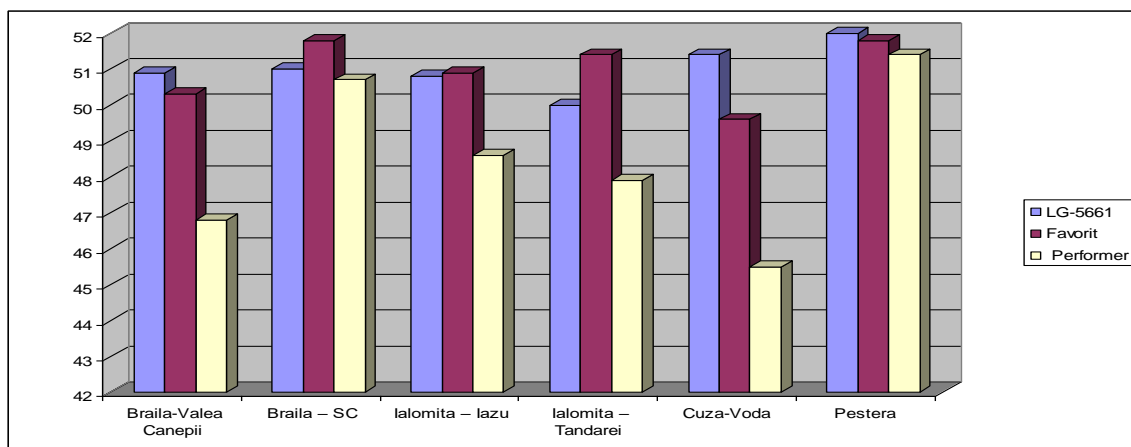


Fig. 4.22. Conținutul de ulei (%) pentru hibridii de floarea-soarelui Favorit, Performer și LG 5661, cultivați în diferite zone infestate și neinfestate cu lupoaie, în anul 2013.

Hibridul Performer a manifestat valorile minime ale conținutului de ulei în localitatea Cuza Vodă, Constanța și maxime în localitățile Brăila și Peștera. Rezultate similare se constată și în cazul hibridului Favorit. Analiza conținutului de ulei a trei hibrizi 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 4.23). Valorile maxime ale producției se remarcă la hibridul HS 5034.

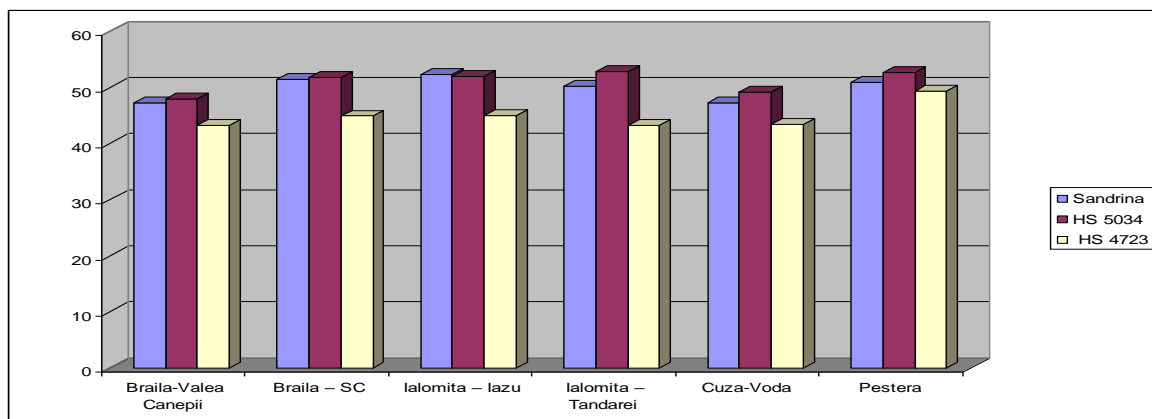


Fig. 4.23. Conținutul de ulei pentru hibridii de floarea-soarelui Sandrina, HS 5034 și HS 4723 în diferite zone infestate și neinfestate cu lupoaie, în anul 2012.

Generalizând, menționăm că cele mai mici valori ale conținutului de ulei s-au stabilit în localitățile Valea Cânepii și Cuza Vodă, unde s-a constatat 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.

Rezultate similare s-au obținut și în anul 2013 (Figura 4.24.). Pierderile în cantitatea de ulei determinate în studiile prezentate sunt însă ne semnificative (până la 10%) comparativ cu datele stabilite de alți cercetători.

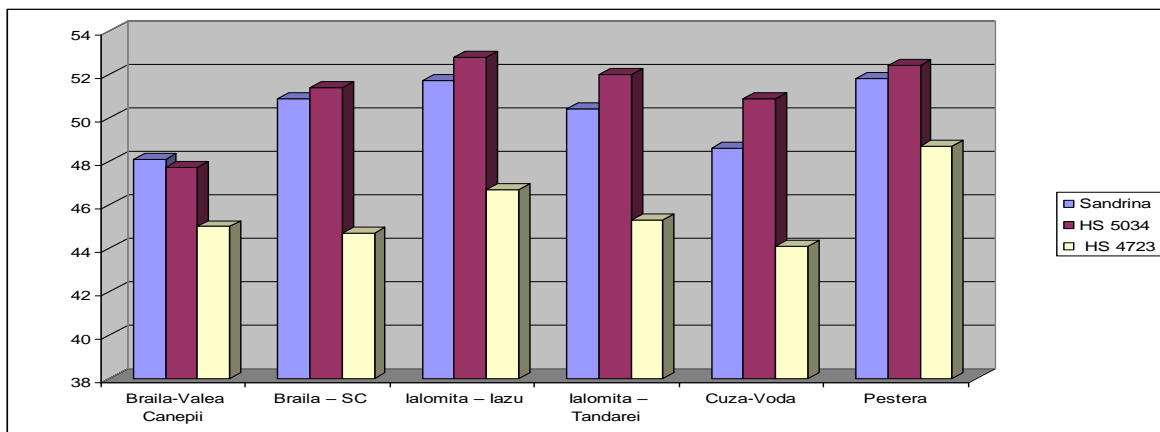


Fig. 4.24. Conținutul de ulei pentru hibridii de floarea-soarelui Sandrina, HS 5034 și HS 4723 în diferite zone infestate și neinfestate cu lupoaie, în anul 2013.



De ex. o echipă de cercetători români au stabilit o micșorare a cantității de ulei cu 18,75% - 25,4%, în funcție de genotip, pe fon de infecție, remarcându-se inclusiv și unele modificări cu referire la compoziția uleiului. Astfel, lupoaia nu exercită efect asupra conținutului de acid palmitic și stearic, pe când cantitatea de acid oleic și linolenic este majorată semnificativ în plantele infectate [169].

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.

Lucrările de ameliorare a calității uleiului de floarea-soarelui se realizează în funcție de cerințele industriei și ale pieții alimentare. Astfel, conform tendințelor anterioare erau solicitate mai mult formele cu un conținut sporit în acid linoleic. Contrar, în ultimii ani, se cere reducerea indicelui de iod prin creșterea conținutului în acid oleic. Uleiul de floarea-soarelui bogat în acid oleic este mai puțin saturat și, respectiv, mai rezistent la modificările oxidative din timpul rafinării, depozitării și prăjiturii, fiind mai indicat în contextul asigurării siguranței alimentare [24].

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, în figurile 3.25-3.28 sunt prezentate rezultatele privind comportamentul a trei hibrizi experimentali și trei hibrizi 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, 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 (hibrid). În zonele în care atacul parazitului nu este foarte ridicat conținutul de acid oleic nu este afectat de atacul de lupoaiie în sensul descreșterii semnificative a acestuia (Fig. 4.25 și 4.26).

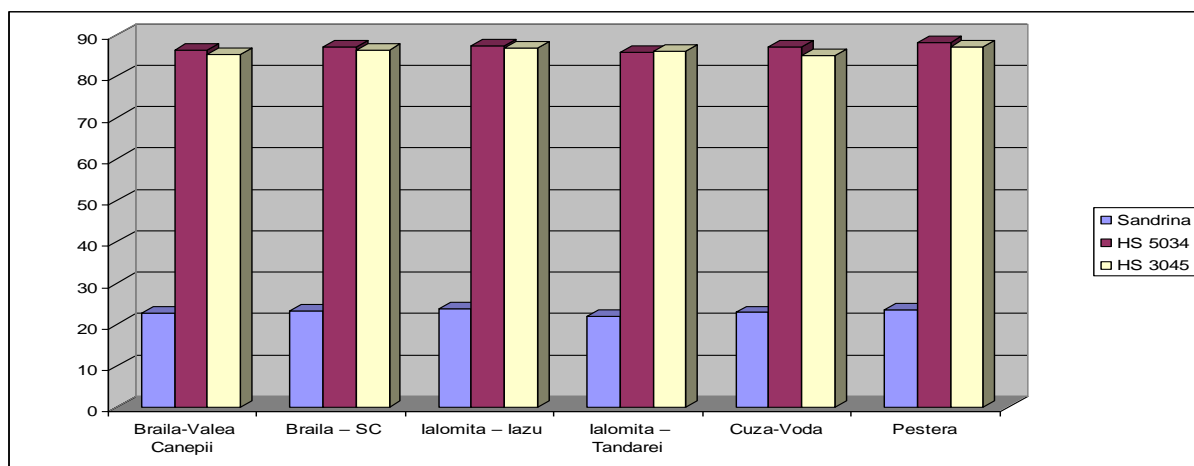


Fig. 4.25. Conținutul acidului oleic (%) la hibridii de floarea-soarelui Sandrina, HS 5034, HS 3045, cu grad mediu de rezistență la lupoaiie, anul 2012.

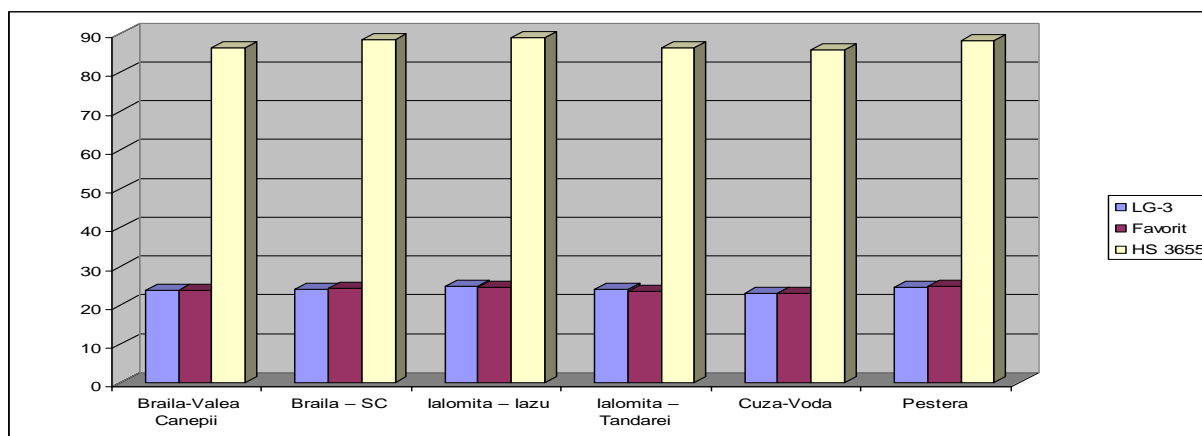


Fig. 4.26. Conținutul acidului oleic (%) la hibridii de floarea-soarelui LG-3, Favorit și HS 3655, cu grad ridicat de rezistență la lupoaiie, anul 2012.

În zonele cu atac foarte intensiv, 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 hibridii 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 lupoaiie, comparativ cu hibridul HS 5034. Hibridul Sandrina, este un hibrid cu conținut scăzut de acid oleic, dar prezintă rezistență medie la atacul de lupoaiie și, respectiv, nu se constată o scădere mare a conținutului acestuia. Între hibridii 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. În aceleași localități se observă o scădere a conținutului de acid oleic și la hibridul HS 3655 (Figura 4.26).

Rezultatele din figurile 4.27 și 4.28, prezentând comportamentul hibrizilor, în aceleași localități, dar în anul 2013, confirmă un efect similar a parazitului lupoaia asupra parametrului analizat.

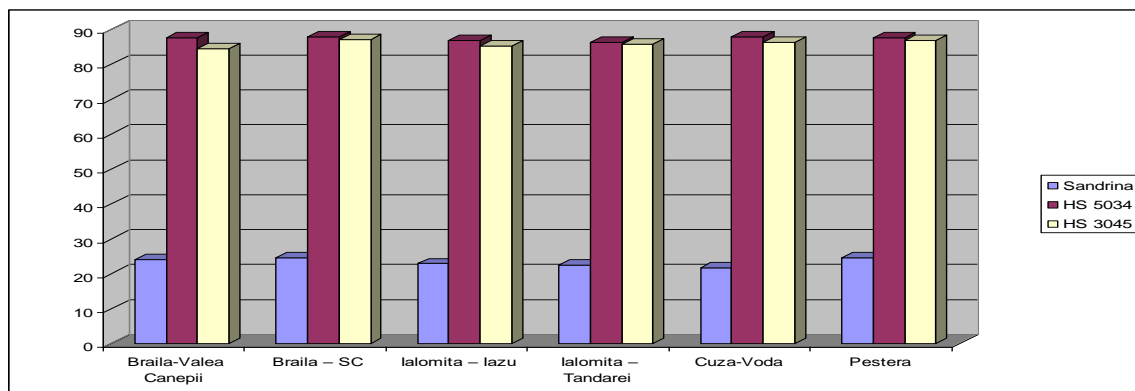


Fig. 4.27. Conținutul acidului oleic (%) la hibrizii de floarea-soarelui Sandrina, HS 5034, HS 3045, cu grad mediu de rezistență la lupoaie, anul 2013.

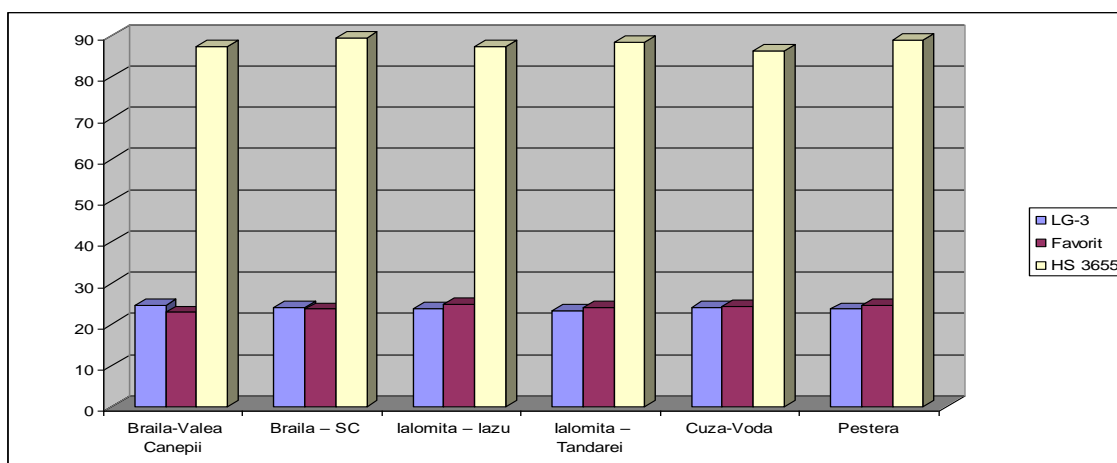


Fig. 4.28. Conținutul acidului oleic (%) la hibrizii de floarea-soarelui LG-3, Favorit și HS 3655, cu grad ridicat de rezistență la lupoaie, anul 2013.

Se observă și o influență destul de evidentă a condițiilor climatice din anul respectiv. Cele mai mari variații, în acest caz, le-a înregistrat hibridul HS-3655, la care conținutul de acid oleic a avut valori diferite, cu diferențe de 4-5%.

Spre deosebire de Shindrova P. și coautorii care au constatat o scădere a conținutului de acid linoleic și, respectiv, o creștere a conținutului oleic la plantele atacate de lupoaie, această tendință corelând cu gradul de atac [160], în studiile actuale s-a stabilit că lupoaia afectează într-o măsură mai mică conținutul de acid oleic (diminuarea de până la maxim 5% în cazul hibrizilor sensibili) [18].

#### 4.7. Concluzii la capitolul 4

Cercetările efectuate au demonstrat că holoparazitul *Orobanche cumana* afectează indicii de productivitate 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.

Valorile indicilor de productivitate analizați variază mult în funcție de genotip, unii hibridi (ex. hibridul Milenium) remarcându-se prin toleranță față de atacul lupoaiei și pierderi neesențiale pe fon de infecție puternică.

Conținutul de ulei în semințele de floarea-soarelui la hibridii Favorit, Sandrina, HS 5034, HS 3045, Performer și LG 5661 cu grad diferit de rezistență la acțiunea parazitului *O. cumana* Wallr. este influențat de gradul de atac cu lupoaie, dar și de condițiile de experimentare (condițiile climaterice, parametri pedo-microbiologici ai solurilor din localitățile respective etc.). În cazul unor hibridi de floarea-soarelui sensibili la atacul parazitului *O. cumana* influența condițiilor de cultivare este mai mare asupra conținutului de ulei în semințe, comparativ cu influența gradului de atac al acestuia.

Conținutul de acid oleic în uleiul obținut din hibridii de floarea-soarelui Sandrina, HS 5034, HS 3045, cu grad mediu de rezistență la lupoaie și LG-3, Favorit și HS 3655, cu grad ridicat de rezistență la lupoaie, variază în special în funcție de genotip și condiții de cultivare, fiind slab influențat de atacul parazitului.

Datele obținute prezintă interes major în elaborarea și propunerea unor măsuri de intervenție și control, esențiale în programele integrate de gestionare a dăunătorilor, inclusiv recomandări privind zonarea hibridilor de floarea-soarelui.

## CONCLUZII GENERALE ȘI RECOMANDĂRI

### Concluzii generale

1. S-a constatat că parazitul lupoaia a evoluat rapid în ultimii ani, dezvoltând noi populații cu virulență sporită ce s-au extins în arealurile de cultură a floarii-soarelui din Republica Moldova și România [88, 139]. S-a relevat că populațiile de lupoaie ce aparțin aceleiași rase fiziologice diferă după intensitatea atacului în limita diferitor zone ale țării [87]. Atacul cu lupoaie 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) [20, 29].
2. S-a stabilit că rezistența genotipurilor de floarea-soarelui rezistente la noile populații ale parazitului lupoaia 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 [20].
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 [10, 75].
4. Profilele RAPD au demonstrat un polimorfism genetic specific între genotipurile de floarea-soarelui sensibile și rezistente [10, 75].
5. Prin transferul genelor de rezistență la lupoaie 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 [139, 156, 157].
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 [87].

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 [19].
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 [18].

### **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. Markerii 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 markeri 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. Boincean B., Nica L., Stadnic S. Bulat L., Fertilizarea și fertilitatea cernoziomului tipic din Stepa Bălțului. În: Akademos, 2011, 1(20), p. 110-121.
2. Buciuceanu M., Rotaru T., Lesnic V. Realizari și perspective în domeniul creării hibrizilor de floarea-soarelui in Moldova. În: Proc. Conf. dedicated to the 50 years of ICCC (1944-1994), Chisinau, 1994, p. 30-31.
3. Buciuceanu M., Rotaru T., Lupashcu C., et al. Crearea materialului initial rezistent la lupoaie pentru ameliorarea florii-soarelui. În: Proc. Conf. dedicated to the 50 years of ICCC (1944-1994), Chisinau, 1994, p. 31-32.
4. Buciuceanu M., Petcovici I., Lungu E., et al. Crearea materialului initial si ameliorarea in baza lui a hibrizilor semitardivi de floarea-soarelui, toleranti la atacul principalelor patogeni. În: Conf. Integrated protection of field crops, Bălți, 2009, p. 200-202.
5. Buia A. *Orobanchaceae*. In Săvulescu T. Flora Republicii Populare Române. București: Editura Academiei Republicii Populare Române, 1961, p. 33-72.
6. Catalogul soiurilor de plante pentru anul 2014, [http://www.maia.gov.md/public/files/DOC/Catalog\\_2014.pdf](http://www.maia.gov.md/public/files/DOC/Catalog_2014.pdf) (vizitat 04.09.2016)
7. Ceapoiu N. Metode statistice aplicate în experimente agricole și biologice. București: Editura. Agro-Silvică, 1968. P. 150.
8. Craiciu D., Dicu G., Teodorescu A., Dumitrescu N. C., Boaghe N., Ionita M. Cercetări privind virulența populațiilor parazitului lupoaie (*Orobanche cumana* Wallr.) în sud-estul României. În: Buletinul Academiei de Științe a Moldovei. Științele vieții, 2010, nr.2 (311) 2010, p. 27-35.
9. Duca M., Clapco S., Cernolev E., Țapu L., Managementul tehnologic în cultura florii-soarelui și expresia atacului cu *Orobanche cumana*. In: Akademos, 2015, nr. 4, p. 75- 83.
10. 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.
11. Duca M., Glijin A., Lupașcu V. et al. Screening-ul molecular al rezistenței florii-soarelui la lupoaie (*O. cumana* Wallr.) rasa E. În: Buletinul Academiei de Științe a Moldovei. Științele vieții, 2009, nr. 3, vol. 309, p. 81-88.
12. Duca M., Glijin A., Popescu V. Identificarea gradului de rezistentă la lupoaie (rasa E) in cadrul unor genotipuri de floarea-soarelui. În: Studia Universitatis, Natural Sciences, 2008, vol. 2, nr. 12, p. 5-10

13. Duca M., Levițchi A., Popescu V. et al. Aspecte genetico-moleculare ale rezistenței florii-soarelui la *O. cumana* Wallr. În: Buletinul Academiei de Științe a Moldovei. Științele vieții, 2009, nr. 2, vol. 308, p. 49-57.
14. Duca M., Popescu V., Lupașcu V. Aspecte ale statutului oxidoreducător la diferite genotipuri de floarea-soarelui atacate de lupoaie. În: Studia Universitatis. Seria Științe ale naturii, 2007, nr. 7, p. 68-73.
15. Duca M., Șestacova T., Port A.; Cucereavîi A., Gîscă I., Tabără O. Screening-ul germoplasmei de floarea-soarelui la rugină. În: Știința Agricolă. 2014, nr. 2, p. 15-19.
16. Glijin A. Interacțiunea dintre *O. cumana* Walr. și *Helianthus annuus* L. la nivelul sistemului radicular. În: Mediul ambiant, 2009, nr. 5, vol. 47, p.31-36.
17. Glijin A., Port, A., Popescu, V. ș.a.. Vindecăm floarea-soarelui de lupoaie și economisim 8 milioane de dolari. În: Marketing Magazine, 2007, nr. 2, p. 70-71.
18. **Gîscă I.** Influența lupoaiei asupra cantității și calității uleiului de floarea-soarelui. Revista Știința Agricolă, 2017, nr. 2, p. 16-22.
19. **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” (ediția VI-a), 2017, Chișinău, p. 40-45.
20. **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.
21. <http://www.statistica.md/> (vizitat 08.06.2018).
22. Iliescu H. Boli. In: Vrânceanu A. (ed.) Floarea-soarelui, București: Ed. Academiei Românei, 1974, p. 265-285.
23. Moraru Șt. Cultura florii soarelui. Chișinău: Tipografia Centrală, 1999. 35 p.
24. Păcureanu-Joița, M., Vrânceanu, A.V., Stanciu, D. Cincizeci de ani de activitate în ameliorarea florii-soarelui la Fundulea, În: Analele I.N.C.D.A. Fundulea, 2007, vol. LXXV, volum jubiliar, p. 173-194.
25. Petcu Gh., Petcu E., Ghid tehnologic pentru grâu, porumb și floarea-soarelui. Ed. Domino, 2008, 160 p.
26. Popescu V. Evaluarea gradului de infecție la unele genotipuri de floarea-soarelui (*Helianthus annuus* L.) la interacțiunea cu trei populații de lupoaie (*O. cumana* Wallr.). În: Studia Universitatis. Seria Științe ale naturii, 2007, nr. 7, p. 125-128.
27. Popescu V. Genetica rezistenței florii-soarelui la *O. cumana* Wallr. În: Materialele Conferinței științifice internaționale Învățământul superior și cercetarea-piloni ai societății bazate pe cunoaștere, USM, 2006. p. 291-292.



28. Rotarencu V. Aspecte morfo-fiziologice si genetice de interactiune gazda-parazit (*Helianthus annuus* L.-*O. cumana* Wallr.). Autoref. tezei de dr. șt. biol. Chișinău, 2010. 26 p.
29. Șestacova T., Gîscă I., Cucereavii A., Tabără O. Evaluarea gradului de sterilitate la floarea-soarelui. În: Revista Știința Agricolă, 2015, nr.1, p. 10-14.
30. Vrânceanu A.V. Floarea soarelui hibridă. Ed. Ceres, București. 2000. 520 p.
31. Vrânceanu A.V., Tudor A.V., Stoenescu F.M., et al. Evolutii ale virulentei parazitului *O. cumana* Wallr. și gene corespunzatoare de rezistență la floarea-soarelui. În: Analele I.C.C.P.T.-Fundulea, 1981, vol. XLVIII. P. 37.
32. Vrânceanu, A.V., Floarea soarelui, București: Edit. Acad. R.S.România, 1974, p. 286-297.
33. Антонова Т. и др. Распространение и вирулентность заразики (*Orobanche cumana* Wallr.) на подсолнечника в Ростовской области. В: Масличные культуры. Научно-технический бюллетень ВИИМК. 2009, но. 1, с. 31-37.
34. Бухерович П. Выявление расового состава подсолнечной заразики молдавского происхождения. В: Сборник работ маслн. культ., Краснодар, 1967, vol. 2, с. 68.
35. Вронских М.Д., Лесник В.С. Опыт выращивания семян гибридов подсолнечника в Молдавии, В: Akademos, nr.1, 2013, с. 135-138.
36. Доспехов Б.А. Методика полевого опыта. Москва: Агропромиздат, 1985. 351 с.
37. Морозов В.К. Селекция подсолнуха в СССР. Москва, 1947.
38. Панченко А.Я. Ранняя диагностика устойчивости к заразики при селекции и семеноводстве подсолнечника. В: Сельскохозяйственная биология. 1975. №2. с. 107-115.
39. Петкович И.П. Создание исходного материала подсолнечника иммунного к болезням. В: Proc. Int. Conf. Crops in modern agriculture, Balti, 2008, p. 94-103.
40. Петкович И.П., Лунгу Е. Изучение расового состава заразики в Республике Молдова и результаты селекции подсолнечника на устойчивость к ней. В: Proc. Int. Conf. Integrated protection of field crops, Balti, 2009, p. 225-230.
41. Плачек Е.М. Проблемы селекции подсолнечника. В: Труды Всесоюзного Съезда по генетике, 1932, № 2, с.126.
42. Плачек Е.М. Формообразовательные процессы у подсолнечника под влиянием гибридизации и инцукта. В: Труды Всесоюзного съезда по генетике, селекции, семеноводству и племенному животноводству, 1930, т. 2, с. 395–396.
43. Пустовойт Г.В. Межвидовая гибридизация как метод селекции на групповой иммунитет. В: Генетика, 1966, №2(1), с. 59-69.
44. Сациперов Ф.А Устойчивость панцирных сортов подсолнечника против заразики. В: Тр. Бюро по прикл. ботанике. 1913, Т9, с. 251.

45. Шарова П.Г. Заразиха опасный паразит подсолнечника, Кишинев: Издательство картя молдовеняскэ. 1977, 20 с.
46. Abu-Irmaileh В.Е. Integrated *Orobanche* management. In: R. Labrada, (Ed.). Progress on Farmer Training in Parasitic Weed Management, Plant Protection and Production Division, Food and Agriculture Organization, Rome, 2008, p. 24-36.
47. Aćimović, M., Sunflower diseases in Europe, the United States and Australia, 1981-1983. In: *Helia*, 1984, 7, p. 45-44.
48. Akhtouch B. et.al. Inheritance of resistance to race F of broomrape (*Orobanche cumana* Wallr.) in sunflower lines of different origin. In: *Plant Breed.* 2002, vol.121, p. 266-269.
49. Alcántara E., Morales-García M., Díaz-Sánchez J., Effects of broomrape parasitism on sunflower plants: growth, development, and mineral nutrition. In: *Journal of Plant Nutrition*, 2006, 29, p. 1199–1206.
50. Alonso L.C. Syngenta’s integrated sunflower broomrape management program. In: Proc. 3rd Int. Symp. on Broomrape in Sunflower, Córdoba, Spain, 3–6 June 2014. Paris, France: International Sunflower Association, 2014, p. 237–252
51. Alonso L.C., Fernandez-Escobar J., Lopez G. et al. New highly virulent sunflower broomrape (*Orobanche cernua* Loefl.) pathotype in Spain. In: *Advances in Parasitic Plant Research. Proc. 6th Int. Symp. Parasitic Weeds.* Cordoba, Spain, 1996. p. 639-644.
52. Antonova T. The history of interconnected evolution of *Orobanche cumana* Wallr. and sunflower in the Russian Federation and Kazakhstan. In: Proc. 3rd Int. Symp. on Broomrape (*Orobanche* spp.) in Sunflower, Córdoba, Spain. Int. Sunflower Assoc., Paris, France. 2014, p. 57-64.
53. Antonova T., Araslanova N., Strelnikov E., Ramazanova S., Guchetl S., Chelyustnikova T., Distribution of highly virulent races of sunflower broomrape (*Orobanche cumana* Wallr.) in the Southern regions of the Russian Federation. In: *Russ. Agr. Sci.* 2013, vol. 39, p. 46-50.
54. Antonova, T.S. Development of broomrape (*O. cumana* Wallr.) haustoria in roots of resistant and susceptible forms of sunflower. In: *Bot. J.*, 1978, vol. 7, p. 1025-1029.
55. Antonova, T.S., ter Borg, S.J. The role of peroxidase in the resistance of sunflower against *O. cumana* in Russia. In: *Weed Research*, 1996, vol. 36, p. 113-121.
56. Atsatt PR. Host-parasite interactions in higher plants. In: Lang OL, Nobel PS, Osmond CB, Ziegler H. eds., *Encyclopedia of plant physiology*, vol. 12C, New Series. Berlin: Springer-Verlag, 1983, p. 519 – 535.
57. Ayman A., Sato D., Kusumoto D., Kamioka H., Takeuchi Y., Yoneyama K., Characterization of Strigolactones, Germination Stimulants for the Root Parasitic Plants *Striga* and *Orobanche*,

- Produced by Maize, Millet and Sorghum. In: *Plant Growth Regulation*, 2006, vol. 48, p. 221-227.
58. Baldini, M., Danuso, F., Turi, M., Sandra, M., Raranciuc, S. Downy mildew (*Plasmopara halstedii*) infection in high oleic sunflower hybrids in northern Italy. In: *Helia*, 2006, vol. 29, nr. 45, p. 19-32.
  59. Bardakci F. Random amplified polymorphic DNA (RAPD) markers. In: *Turk J Biol*, 2001, vol. 25, p. 185-196.
  60. Baskin Carol C., Baskin Jerry M. *Seeds: Ecology, Biogeography, and Evolution of Dormancy and Germination*, Elsevier Inc. 2014, p. 869-890.
  61. Batchvarova R. Current situation of sunflower broomrape in Bulgaria. In: *Proc. 3rd Int. Symp. on Broomrape (Orobanchae spp.) in Sunflower*, Córdoba, Spain, 2014, p. 51-54.
  62. Bulbul A., Salihoglu M., Sari C. and Aydin A. Determination of broomrape (*Orobanchae cumana* Wallr.) races of sunflower in the Thrace region of Turkey. In : *Helia*. 1991, vol. 14, p. 21-26.
  63. Burlov V., Burlov, V. Breeding of sunflower resistant to new races of broomrape (*Orobanchae cumana* Wallr.). In: *Helia*, 2010, vol. 33, nr. 53, p. 165-172.
  64. Cochavi A., Rapaport T., Gendler T., Karnieli A., Eizenberg H., Rachmilevitch S., Ephrath Jh. E. Recognition of *Orobanchae cumana* Below-Ground Parasitism Through Physiological and Hyper Spectral Measurements in Sunflower (*Helianthus annuus* L.), In: *Front Plant Sci.*, 2017, vol. 8, p. 909-917.
  65. Christov M. *Helianthus* species in breeding on sunflower. In: *Proc. 17th Int. Sunfl. Conf.*, Cordoba, Spain, Int. Sunfl. Assoc., Paris, France, 2008, nr. 2, p. 709-714.
  66. Christov, M., Contribution of interspecific and intergeneric hybridization to sunflower breeding. In: *Helia*, 2013, vol. 36, p. 1–18.
  67. Cubero J. I. *Cytogenetics in Orobanchaceae: a review*. In M.T. Moreno, J.I. Cubero, D. Berner, D. Joel, L.J. Musselman, and C. Parker [eds.], *Advances in parasitic plant research*, Junta de Andalucí'a, Consejerí'a de Agricultura y Pesca, Sevilla, Spain, 1996, p. 75-96.
  68. Dedić B., Lačok N., Tančić S., Dušanić N., Jocić S. Current status of broomrape (*Orobanchae cumana* Wallr.) in Serbia. In: *Helia*, 2009, vol. 32, p. 135-140.
  69. 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 tolerance in Sunflower*, Beijing, China, International Sunflower Association, Paris: 1996, p.118 -123.
  70. Dor E., Yoneyama K., Wininger S., Kapulnik Y., Yoneyama K., Koltai H., Xie X., Hershenhorn J. Strigolactone deficiency confers resistance in tomato line SL-ORT1 to the parasitic weeds *Phelipanche* and *Orobanchae* spp. In: *Phytopathology*, 2011, vol. 101(2), p. 213-22.

71. Duca M. Historical Aspects of Sunflower Researches in the Republic of Moldova. In: *Helia*, 2015, vol. 38 (62), p. 79-93.
72. 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.
73. Duca M., Clapco S., Cernolev E., Țapu L., **Gîscă I.** Current status of sunflower crop management in Moldova. Proceedings of 19th International Sunflower Conference, 29 may – 3 june, 2016, Edirne, Turkey, p. 606.
74. Duca M., Glijin A., Acciu A. The biological cycle of sunflower broomrape. In: *J. of Plant Development*. 2013, vol. 20, p. 71-78.
75. 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.
76. Duca M., Glijin A., Păcureanu-Joița M., Acciu A., Gîscă I. Impact of *O. cumana* on sunflower cultivars on natural infested fields in Republic of Moldova. In: *Abstracts of International Plant Breeding Congress, 2013, Antalya, Turkey, Abstract book*, p. 282.
77. 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. Conservol Plant Diversity, Chisinau, 2012*, p. 96-102.
78. Duca M., Port A., **Gasca I.**, Pacureanu-Joita M., Șestacova T. Differential expression of ROS-scavenging genes in sunflower infwcted with diferent broomrape populations. In: *Congresul al X-lea Internațional al Geneticienilor și Amelioratorilor, 28-1 iulie, Chișinău, Moldova, 2015*, p. 92.
79. Duca M., Șestacova T., Port A., Cucereavii, A., Gîscă I., Tabără O. Assesment of sunflower resistance potential to downy mildew. In: *Journal of Botany*. 2014, vol. VI, 2(9), p. 10-16.
80. Duca, M.; Glijin, A.; Lupașcu, V. et al. *The molecular and phenotypic screening of broomrape resistance at sunflower genotypes cultivated in Republic of Moldova*. In: *Культурные растения для устойчивого сельского хозяйства в XXI веке (иммунитет, селекция, интродукция): К 110-летию академика ВАСХНИЛ и Россельхозакадемии М. С. Дунина: науч. тр. Москва, 2011, т. 4, ч. 2, с.10-21*.
81. Esmat H. Histochemical Aspects of Penetration and Vascular Connection of Broomrape Haustoria in the Host Root, and the Possible Implication of Phenylpropanoids. In: *International Journal of Agriculture & Biology*. 2004, nr. 3, p. 430-434.

82. Fernández-Aparicio M., Flores F., Rubiales D. Escape and true resistance to crenate broomrape (*Orobanche crenata* Forsk.) in grass pea (*Lathyrus sativus* L.) germplasm. In: Field Crops Res., 2012, vol. 125, p. 92–97.
83. Fernández-Aparicio M., Reboud X., Gibot-Leclerc S., Broomrape Weeds. Underground Mechanisms of Parasitism and Associated Strategies for their Control: A Review. In: Front Plant Sci., 2016, vol. 7, p. 135-153.
84. Fernandez-Martinez J et.al. Selection of wild and cultivated sunflower for resistance to a new broomrape race that overcomes resistance of the *Or5* gene. In: Crop Sci. 2000, vol. 40, p. 550-555.
85. Fernández-Martínez J. M., Pérez-Vich B., Velasco L. Sunflower broomrape (*Orobanche cumana* Wallr.). In: Sunflower Oilseed Chemistry, Production, Processing and Utilization, eds Martínez-Force E., Dunford N. T., Salas J. J., editors. (Champaign IL: AOCS Press; ), 2015. p. 129–156.
86. Gibot-Leclerc S., Corbineau F., Salle G., Come D. Responsiveness of *Orobanche ramosa* L. seeds to GR 24 as related to temperature, oxygen availability and water potential during preconditioning and subsequent germination. In: Plant Growth Regulation, vol. 43, 2004, p. 63–71.
87. **Gisca 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.
88. **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), p. 132.
89. Glijin A., Acciu A., **Gîscă I.** Molecular analysis of *O. cumana* Wallr. from different geographical regions. In: Simpozionul Științific Internațional Conservarea Diversității Plantelor, ediția a-III-a, 2014, p. 16-17.
90. Glijin A., Acciu A., Mita E. Effect of root exudation from different sunflower genotypes on broomrape seeds germination. In: Proc. Int. Symp. on Broomrape (*Orobanche* sp.) in Sunflower, Chișinău, Republic of Moldova, 2011, p. 23.
91. Glijin, A., Influence of *O. cumana* Wallr. on protein content in different sunflower (*Helianthus annuus* L.) genotypes, In: Revista Botanică, 2012, vol. IV, nr. 1(5), p. 84-89.
92. Hargitay L. Current situation of sunflower broomrape in Hungary. In: Proc. 3rd Int. Symp. on Broomrape (*Orobanche* spp.) in Sunflower, Córdoba, Spain. 2014, p. 32.
93. Hladni, N., Jocić, S., Miklič, V., Mijić, A., Saftić-Panković, D. and 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.

94. Hladni, N., Jocić, S., Miklič, V., Saftić-Panković, D., Škorić, D., Using new R inbred lines originating from an interspecific population with *H. deserticola* for development of sunflower hybrids resistant to broomrape. In: *Helia* 2009, vol. 32(51), p. 81–90.
95. Honiges A., Wegmann K., Ardelean A. *Orobanche* resistance in sunflower. In: *Helia*, 2008, vol. 31, p. 1-12.
96. Iliescu H. Annual reports on the occurrence of sunflower diseases in Romania. In: *Helia*, 1984, vol. 7, p. 45-54
97. Imerovski I., Dimitrijevic A., Miladinovic D., Dedic B., Jocic S., Kovacevic B., Obreht D., Identification of PCR markers linked to different *Or* genes in sunflower. In: *Plant Breeding*, 2013, vol. 132, p. 115-120.
98. Imerovski I., Dimitrijevic A., Miladinovic D., et al. Molecular profiles of sunflower lines resistant to broomrape (*O. cumana* Wallr.). In: Proc. International Symposium on Broomrape (*Orobanche* sp.) in Sunflower. August 25-27, 2011, p. 25.
99. Iuoras M., Stanciu D., Ciuca M. et al. Preliminary studies related to the use of marker assisted selection for *O. cumana* Wallr. COST 849, Meeting Bucharest, România. 2004.
100. Jain R. Physiological aspects of broomrape (*Orobanche* sp.) parasitism, host specificity, and selective control by glyphosate. Ph. D. Dissertation. Virginia Polytechnic Institute and State University, USA. 1987, 131 p.
101. Jan C. and Fernandez-Martinez J. Interspecific hybridization, gene transfer, and the development of resistance to broomrape race F in Spain. In: *Helia*, 2002, vol. 36, p. 123-136
102. Jan C.C., J.A. Ruso. Vigor reducing cytoplasms of perennial RIG1. *Helianthus* species and their nuclear vigor restoration genes in Some reduced vigor plants were observed in progeny cultivated lines. In: Proc. Sunflower Res. Workshop, 22nd, Fargo, ND. 18–19 Jan., 2000. Natl. Sunflower Assoc., Bismarck, of cms-RIGX backcrossed with HA89 in greenhouse ND., 2000. p. 51–53.
103. Jestin C., Lecomte V., Duroueix F. Current situation of sunflower broomrape in France. In: Proc. 3rd Int. Symp. on Broomrape (*Orobanche* spp.) in Sunflower, Córdoba, Spain. 2014, p. 28-31.
104. Joel D. M., Gressel J., Musselman J. Parasitic *Orobanchaceae*. Parasitic Mechanisms and Control Strategies, Springer-Verlag Berlin Heidelberg. 2013, 533 p.
105. Joel D. *O. cumana*, a new adventive weed in Israel. In: *Phytoparasitica*, 1988, vol. 16, p. 375.
106. Joel D. M. The haustorium and the life cycles of parasitic *Orobanchaceae*, In: *Parasitic Orobanchaceae*, eds Joel D. M., Gressel J., Musselman L. J., editors., Heidelberg: Springer Berlin, 2013. p. 21–23.

107. Joel D.M., V.H. Portnoy, Paran and D. Gidon, Genetic diversity of *Orobanche* species and host range potential. In: Thematic meeting "Genetic diversity of parasitic plants", 19-21 February, 2004, Córdoba, Spain, p.24.
108. Johnson A.W., Rosebery G., Parker C. A novel approach to *Striga* and *Orobanche* control using synthetic germination stimulants. In: *Weed Research*, 1976, vol. 16, p. 223-227.
109. Kaya Y. Current situation of sunflower broomrape in Turkey. In: Proc. 3rd Int. Symp. on Broomrape (*Orobanche* spp.) in Sunflower, Córdoba, Spain, 2014, p. 55.
110. Kaya Y., Evci G., Pekcan V., Gucer T. Determining new broomrape-infested areas, resistant lines and hybrids in Trakya region of Turkey. In: *Helia*, 2004, vol. 27, p. 211-218.
111. Kumar N. Senthil, G. Gurusubramanian, Random amplified polymorphic DNA (RAPD) markers and its applications, In: *Science Vision*, 2011, vol. 11 (3), p. 116-124.
112. Labrousse P. Contribution à l'étude de la résistance de différents génotypes d'*Helianthus* (Asteracées) à *O. cumana* Wallr. (Orobanchacées). Doctoral thesis, Univol Nantes, Nantes, France. 2002.
113. Labrousse P., Arnaud M.C., Griveau Y., et al. Analysis of resistance criteria of sunflower recombined inbred lines against *O. cumana* Wallr. In: *Crop Protection*, 2004, nr. 23, p. 407-413.
114. Labrousse P., Arnaud M.C., Serieys H., Bervillé A., Thalouarn P., Several mechanisms are involved in resistance of *Helianthus* to *O. cumana* Wallr. In: *Annals of Botany*, 2001, vol. 88, p. 859-868.
115. Labrousse P., Arnaud M.C., Veronesi C., et al. Mecanismos de resistencia du tournesol a *O. cumana* Wallr. In: Proc. of the 15th International Sunflower Conference, Toulouse, France, June 12-15, 2000, ISA Paris. vol. 2, p.13.
116. Lachia M., Wolf H.C., De Mesmaeker A. Synthesis of strigolactones analogues by intramolecular [2+2] cycloaddition of ketene-iminium salts to olefins and their activity on *Orobanche cumana* seeds. In: *Bioorg Med Chem Lett*, 2014, vol. 24, p. 2123-2128.
117. Landjeva S., V. Korzun, and A. Börner, Molecular markers: actual and potential contributions to wheat genome characterization and breeding. In: *Euphytica*, 2007, vol. 156, p. 271-296.
118. Lechat M., Brun G., Montiel G., Véronési C., Simier P., Thoiron S., Pouvreau J., Delavault P. Seed response to strigolactone is controlled by abscisic acid-independent DNA methylation in the obligate root parasitic plant, *Phelipanche ramosa* L. Pomel. In: *Journal of Experimental Botany*, vol. 66, nr. 11, 2015, p. 3129–3140.
119. Linke K.H., Vogt W. Parasitic flowering plants, proceedings of the 4th Symposium on Parasitic Flowering Plants, Phillips University, Marburg, Germany, 1987, p. 501-509.

120. 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.
121. Lu Y. et al. Integration of a molecular linkage group containing broomrape resistance gene *Or5* in to an RFLP in sunflower. In: Genome. 1999, vol. 42, p. 453-456.
122. 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. Apl. Genet. 2000, vol. 100, p. 625-632.
123. Ma D.T., Jan C.C. Distribution and race composition of sunflower broomrape (*Orobanche cumana* Wallr.) in Northern China. In: Proc. 3rd Int. Symp. on Broomrape (*Orobanche* spp.) in Sunflower, Córdoba, Spain. 2014, p. 65-69.
124. Mahmoud Adel M., Bahaa E. Abdel-Fatah, Analysis of Genetic Diversity among Sunflower Genotypes using Agro-morphological Traits and Molecular Markers. In: Australian Journal of Basic and Applied Sciences, 2012, vol. 6(13), p. 419-432.
125. Mariam Etagegnehu G., Tamado T., Desalegne G., Negussie E. Control of branched broomrape in tomato. In: Pest Management Decision Guides, CABI, 2016, p.3.
126. Maric A., Camprag D., Masirevic S. Sunflower diseases and pests and their control. Nolit (Beograd), 1988, p. 37-45.
127. Márquez-Lema A., Delavault P., Letousey P. et al. Candidate gene analysis and identification or TRAP and SSR markers linked to the *Or5* gene, which confers sunflower resistance to race E of broomrape (*O. cumana* Wallr.). In: Proc. 17th Int. Sunflower Conf., Cordoba. Spain, 2008, p. 661-666.
128. Matusova R., Rani K., Verstappen F.W.A., Franssen M.C.R., Beale M.H., Ouwmeester H.J., The strigolactone germination stimulants of the plant parasitic *Striga* and *Orobanche* spp. are derived from the carotenoid pathway. In: Plant Physiol. 2005, vol. 139(2), p. 920-934.
129. Matusova R., Van Mourika T., Bouwmeester H.J. Changes in the sensitivity of parasitic weed seeds to germination stimulants. In: Seed Sci Res, 2004, vol. 14, p. 335-344.
130. Melero-Vara J. et. al. Pathogenic and molecular characterization of population of *Orobanche cernua* Loefl. from sunflower in Spain. Proc. In: 14th Intern. Sunflower Conf., Beijing/Shenyang, China. 1996, vol. 2, p. 677-682.
131. Melero-Vara J.M., Dominguez J., Fernández-Martínez, J.M. Update on sunflower broomrape situation in Spain: racial status and sunflower breeding for resistance. In: Helia, 2000, vol. 23, nr. 33, p. 45-56.
132. 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.
133. Monaco A.T., Mackown C. T., Johnson D. A., Jones T. A., Norton J. M., Norton J. B., Redinbaugh M. G. Nitrogen effects on seed germination and seedling growth. In: J. Range Manage. 2003, vol. 56. p .646-653.
  134. Moral J., Lozano-Baena M. D., Rubiales D. Temperature and water stress during conditioning and incubation phase affecting *Orobanche crenata* seed germination and radicle growth. In: Front. Plant Sci., 03 June 2015 <https://doi.org/10.3389/fpls.2015.00408> (vizitat 12.10.2016).
  135. Nandula V.K., Foy C.L. , Westwood J.H. Environmental influences on germination of *Orobanche*. In: Advances in Parasitic Plant Research. Proceedings of the Sixth International Parasitic Weed Symposium, Direccion General De Investigation Agraria De Andalucia, Cordoba, 1996, p. 409–416.
  136. Nandula V.K., Foster J.G., Foy C.L. Impact of Egyptian broomrape (*Orobanche aegyptiaca* (Pers.) parasitism on amino acid composition of carrot (*Daucus carota* L.). In: J. Agric. Food Chem. 2000, vol. 48, p. 3930-3934.
  137. Oil-crops Disponibil: <http://agritrade.cta.int/Agriculture/Commodities/Oil-crops/Executive-Brief-Update-2013-Oil-crops-sector> (vizitat 20.05.2017).
  138. Pacureanu-Joita M, Fernández-Martínez J.M., Sava E. et al.. Broomrape (*O. cumana* Wallr.), the most important parasite in sunflower. In: Analele I.N.C.D.A. Fundulea, 2009, vol. 77, p. 49-56.
  139. 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 X<sup>th</sup> International Congress of Geneticists and Breeders, Chisinau, Republic of Moldova, 2015, p. 130.
  140. Pacureanu-Joița M. Current situation of sunflower broomrape (*O. cumana* Wallr.) in România. In: Proceedings of the 3rd International Symposium on Broomrape (*Orobanche* sp.) in sunflower, Cordoba, 3-6 June 2014, p. 39-43.
  141. Pacureanu-Joița M., Raranciuc S, Procopovici E, et al. The impact of the new races of broomrape (*O. cumana* Wallr.) parasite in sunflower crop in România. In: Proc. 17th Int. Sunflower Conf., Cordoba. Spain, 2008, p. 225-231.
  142. Parker C. *Orobanche crenata* in UK - an update. In: Haustorium, 2014, vol. 65. p. 5–6.
  143. Parker C., Richers C. Parasitic Weeds of the World. In: Biology and Control. CAB International, Wallingford, UK, 1993, p.114 - 116.
  144. Păcureanu-Joița M., Vrânceanu A., Marinescu G. et al. The evaluation of the parasite-host interaction in the system *Helianthus annuus* L.- *O. cumana* Wallr. In: România. Proc. Second Balkan Symp. On Field Crops, Yugoslavia, 1998, vol. I, p. 153-155.

145. Pérez-Vich B. et al. Inheritance of resistance to a highly virulent race F of *Orobanche cumana* wallr. in a sunflower line derived from interspecific amphiploids. In: *Helia*. 2002, vol. 25, nr. 36, p. 137-144.
146. Perez-Vich B., Velasco L., Fernandez-Martínez J.M. QTL mapping of resistance to races E and F of broomrape (*O. cumana* Wallr.) in sunflower. In: *Parasitic Plant Management in Sustainable Agriculture, Meeting on Breeding for Orobanche Resistance in Sunflower*, Bucharest, România, 2004, p. 6.
147. Petcovici I., Lungu E.,. Inheritance of *albino* and *lutestens* types of chlorophyll mutants of sunflower genotypes resistant to broomrape (*O. cumana* Wallr.). In: *Proc. Int. Conf. Current problems of genetics, physiology and plant breeding*, Chişinău, 2008, p. 163-166.
148. Petrov D. Nova fiziološka rasa *O. cumana* Wallroth kod nas. In: *Plant protection in service of agriculture*, Sofia, 1970, p. 37-48.
149. Popov V. N., O. Yu. Urbanovich, V. V. Kirichenko, Studying Genetic Diversity in Inbred Sunflower Lines by RAPD and Isozyme Analyses. In: *Russian Journal of Genetics*, 2002, vol. 38, nr 7, p. 785–790.
150. Prashith Kekuda T.R., Noor Nawaz A.S., Raghavendra H.L. Antifungal Activity of *Moringa stenopetala* (Baker f.) Cufod Against *Alternaria helianthi*. In: *J. Pathol. Microbiol.*, 2016, vol. 1, nr 3, p. 102-105
151. Pricop Simona-Mariana, 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.
152. Rodriguez-Ojeda M. et al. Sunflower inbred line (KI-374) carrying two recessive genes for resistance against a highly virulent Spanish population of *Orobanche cernua* Loefl. / *O. cumana* Wallr. race "F". In: *Proc. 7th Int. Parasitic Weed Symposium*, Nantes, France. 5-8 June 2001, p. 208-211.
153. Rodriguez-Ojeda M.I., Pineda-Martos R. Alonso L.C., Fernandez-Escobar J., Fernandez-Martinez JM, Perez-Vich B., Velasco L., A dominant avirulence gene in *Orobanche cumana* triggers Or5 resistance in sunflower. In: *Weed Resistance*, 2013, vol. 53, nr 5, p. 322-327.
154. Román B., Alfaro C., Torres A.M., Moreno M.T., Satovic Z., Pujadas A., Rubiales D., Genetic relationships among *Orobanche* species as revealed by RAPD analysis. In: *Ann. Bot.*, 2003, vol. 91, p. 637-642.
155. Ruso, J., Sukno, S., Domínguez-Gimenez, J., Melero-Vara, J.M., Fernández-Martínez, J.M.,. Screening wild *Helianthus* species and derived lines for resistance to several populations of *Orobanche cernua*. In: *Plant Disease*, 1996, vol. 80, p. 1165–1169.

156. 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.
157. 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.
158. Sharova P.G. Sunflower breeding for resistance to virulent races of broomrape *Seljskoe hozjajstvo Moldaviji*, 1968, nr. 5.
159. Shandrova P. Broomrape (*Orobanche cumana* Wallr.) in Bulgaria. Distribution and race composition. In: *Helia*, 2006, vol. 44, p. 111–120.
160. Shandrova P., Ivanov P., Nikolova V., Effect of broomrape (*O. cumana* Wallr.) intensity of attack on some morphological and biochemical indices of sunflower (*Helianthus annuus* L.). In: *Helia*. 1998, vol. 29, p. 55-62.
161. Shandrova P., Penchev E. Race composition and distribution of broomrape (*Orobanche cumana* Wallr.) in Bulgaria during 2007-2011. In: *Helia*, 2012, vol. 57, p. 87–94.
162. Shandrova P., Venkov V. Durable resistance to broomrape (*Orobanche cumana* Wallr. / *Orobanche cernua* Loefl.) in sunflower. In: *Helia*, 2000, vol. 23, nr. 33, p. 39-44.
163. Škorić D. The genetics of sunflower. In: Skoric D, Sakac Z, Eds., *Sunflower genetics and breeding*. Novi Sad, Serbia: Serbian Academy of Sciences and Arts, 2012, p. 1–163.
164. Škorić D., Pacureanu-Joita M., Sava E. Sunflower breeding for resistance to broomrape (*O. cumana* Wallr.). In: *Analele I.N.C.D.A. Fundulea*, vol. LXXVIII (1), 2010, nr. 1, p. 63-79.
165. Škorić, D. Sunflower Breeding for Resistance to Abiotic and Biotic Stresses, Chapter 25. In: *Abiotic and Biotic Stress in Plants - Recent Advances and Future Perspectives*, Edited by Arun K. Shanker and Chitra Shanker, 2016, p. 585-590.
166. Sujatha, M., A.J. Prabakaran, S.N. Sudhakara, B., Rama Devi, Differential reaction of recombinant interspecific inbred lines of sunflower to red rust incited by *Puccinia helianthi*. In: *Helia*, 26, 2003, Nr. 39, p. 25-36.
167. Sukno S., Melero-Vara J. and Fernandez-Martinez J. Inheritance of resistance to *Orobanche cernua* Loefl. in six sunflower lines. In: *Crop Sci*. 1999, vol. 39, p. 674-678
168. Sukno, S., Jan, C.C., Melero-Vara, M., Fernandez-Martinez, J.M, Reproductive behavior and broomrape resistance in interspecific hybrids of sunflower. In: *Plant Breeding*, 1998, vol. 117, p. 279–285.

169. Sumalan, R.M., Sumalan, R.L., Copolovici, L., Ciulca, S., Yvin, J.C., Ciulca, A., Research on sunflower oil quality in the case of *O. cumana* attack. In: Research Journal of Agricultural Science, 2016, vol. 48 (3), p. 34-38.
170. Suresha P.G., Vikas V. Kulkarni, S.M. Supriya, S. Darshan, Chandrashekar B. Genetic Diversity Analysis in Sunflower (*Helianthus annuus* L.) parental Lines Using SSR and RAPD Markers. In: Int. J. Curr. Microbiol. App. Sci, 2017, vol. 6, p. 2069-2076.
171. Tang S., Heesacker A., Kishore V. et al. Genetic mapping of the Or5 gene for resistance to *Orobanche* race E in sunflower. In: Crop Sci. 2003, vol. 43, p. 1021-1028.
172. Těšitel J., Plavcová L., Cameron D., interactions between hemiparasitic plants and their hosts: The importance of organic carbon transfer. In: Plant Signal Behav. 2010, vol. 5(9), p. 1072–1076.
173. Tingriu L. et al. Hapening and controlling of broomrape. In: Proc. 14th Intern. Sunflower Conf., Beijing/Shenyang, China. 1996, vol. 2, p. 684-686.
174. Ueno K., Furumoto T., Umeda S., Mizutani M, Takikawa H., Batchvarova R., Sugimoto Y. Heliolactone, a non-sesquiterpene lactone germination stimulant for root parasitic weeds from sunflower. In: Phytochemistry, vol. 108, 2014, p. 122-128.
175. Van Hezewijk M.J., Verkleij J.A. The effect of nitrogenous compounds on in vitro germination of *Orobanche crenata* Forsk. In: Weed Res. 1996, vol. 36, p. 395-404.
176. Velasco L., Pérez-Vich B., Jan D., Fernández-Martínez J. M. Inheritance of resistance to broomrape (*Orobanche cumana* Wallr.) race F in a sunflower line derived from wild sunflower species. In: Plant breeding, Volume 126, Issue 1, February 2007, p. 67–71.
177. Velasco L., Pérez-Vich B., Yassein A. A. M., Jan C.-C., Fernández-Martínez J. M.. Inheritance of resistance to sunflower broomrape (*Orobanche cumana* Wallr.) in an interspecific cross between *Helianthus annuus* and *Helianthus debilis* subsp. *tardiflorus*. In: Plant Breed. 2012, vol.131, p. 220–221.
178. Vranceanu A.V., Tudor V.A., Stoenescu F.M., et al. Virulence groups of *O. cumana* Wallr., differential hosts and resistance source genes in sunflower. În Proc. of the 9th Int. Sunflower Conf. Torremolinos. Spain. Juny 8-9. ISA. Paris, 1980, vol. 2, p. 74-82.
179. Wegmann K. The search for inhibitors of the exoenzymes of the *Orobanche* radicle. Benzothiadiazole activates resistance in sunflower (*Helianthus annuus*) to the root-parasitic weed *O. cumana*. In: Phytopathology, 2004, vol. 92, p. 59-64.
180. Westwood J. H. The physiology of the established parasite-host association. In: Parasitic *Orobanchaceae*, 2013, p. 87–114.
181. Yoneyama K., Ruyter-Spira C., Bouwmeester H. J. Induction of germination, In: Parasitic *Orobanchaceae*, 2013, p. 167–194.



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 GÎSCĂ, 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.



**Președinte**

Mihail Machidon

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

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 organizarea și participarea nemijlocită a șefului secției de știință Giscă Ion 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.Chisinău, MD-2004, Republica Moldova  
Tel./ Fax: (+373 22) 82 99 99, www.agroselect.md

Rechizitele bancare la "AMG-Agroselect Comerț" SRL  
Cod fiscal: 1010600023526 TVA: 0506282  
IBAN: MD15AG000000022511610738  
Banca: BC "Moldova-Agroindbank" SA fl.Chisinău  
Codul băncii: AGRNMD2X723

## **DECLARAȚIE PRIVIND ASUMAREA DREPTULUI DE AUTOR**

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

**Ion GÎSCĂ**

---

**Data**

## CURRICULUM VITAE

### Informații personale

Nume / Prenume **Gîscă Ion**  
Adresă(e) Liviu Damian nr.3  
m. Bălți (Moldova)  
Telefon(oane) +373 23175009  
Mobil: +373 069135760  
E-mail(uri) IGisca@agroselect.md  
Naționalitate(-tăți) moldovean  
Data nașterii 22/09/1958  
Sex bărbătesc



Locul de muncă vizat / Domeniul ocupational **AMG Agroselect Comerț SRL ameliorator**

### Experiența profesională

Perioada 2010  
Funcția sau postul ocupat Șeful secției de știință  
Numele și adresa angajatorului AMG – Agroselect Comerț SRL  
Mihai Viteazul, 11, bir.408, 2004, Chișinău (Moldova)  
Tipul activității sau sectorul de activitate Ameliorarea și producerea de semințe de floarea-soarelui  
Perioada 1999 - 2010  
Funcția sau postul ocupat Colaborator științific  
Numele și adresa angajatorului AMG – Magroselect SRL, or.Soroca  
Perioada 1980 - 1999  
Funcția sau postul ocupat Colaborator științific  
Numele și adresa angajatorului ICCC Selecția  
Calea Ieșilor, 28, Bălți (Moldova)

### Educație și formare

Perioada 1983 - 1989  
Calificarea / diploma obținută Diplomă TB 395684  
Disciplinele principale studiate / competențe profesionale dobândite  
- fitotehnie  
- agrotehnică  
- mecanizare  
- protecția plantelor  
- genetică  
- ameliorarea plantelor



Numele și tipul instituției de învățământ / furnizorului de formare Institutul Unional de Învățământ cu Frecvență Redusă (Institutul de Învățământ Superior) Balașiha (Rusia)

Perioada 1974 - 1978

Calificarea / diploma obținută Diplomă AT 565058

Disciplinele principale studiate / competențe profesionale dobândite

- mecanizare
- fitotehnie
- agrotehnică
- botanică
- legumicultură
- pomicultură

Numele și tipul instituției de învățământ / furnizorului de formare Colegiul tehnic Trandafir (Colegiu tehnic) Rîșcani (Moldova)

Competențe și abilități sociale

- spirit de echipă
- capacitate de comunicare

Competențe și aptitudini organizatorice

- spirit organizatoric
- conducător

Competențe și aptitudini tehnice

- cunoașterea ameliorării plantelor și a producerii de semințe

Competențe și aptitudini de utilizare a calculatorului

- cunoașterea calculatorului

Permis(e) de conducere Categoria B

**Informații suplimentare** Coautor al hibrizilor de floarea – soarelui: Speranța, Ana, Luceafărul, Codru, Dacia, Talmaz, Zimbru, Doina, Nistru, Cezar, Oscar.

Publicații:

**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.

<http://www.gbm.bio.uaic.ro/index.php/gbm/article/view/1158>

2. GISCĂ I., JOITA-PACUREANU M., CLAPCO S., DUCA M. Influence of broomrape on some productivity indices of sunflower, *Revista Lucrări Științifice, seria Agronomie*, 2017, vol. 60, p. 97.

în reviste din Registrul Național al revistelor de profil

Categoria B

1. GISCĂ I. Influența lupoaiei asupra cantității și calității uleiului de floarea-soarelui. *Revista Știința Agricolă*, 2017, nr. 2, p. 16-22.
2. GISCĂ I. STUDII PRIVIND EREDITATEA REZISTENȚEI FLORII-SOARELUI LA LUPOAIE *Buletinul Academiei de Științe a Moldovei. Științele Vieții*, 2017, nr. 3(333), p. 121-125

3. DUCA M., ȘESTACOVA T., PORT A., CUCEREAVII 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%202014%20final%209.12.2014.pdf](http://www.gradinabotanica.asm.md/sites/default/files/revista_botanica%20%202014%20final%209.12.2014.pdf)
4. DUCA M., ȘESTACOVA T., PORT A., CUCEREAVII 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.**, CUCEREAVII 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)

#### ARTICOLE ÎN CULEGERI ȘTIINȚIFICE

1. **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. Conferința științifică internațională „Genetica, Fiziologia și Ameliorarea plantelor” (ediția VI-a), 10 octombrie 2017, Chișinău, , p. 40-45
2. 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 UASM, Lucrări științifice : Agronomie și ecologie, Chișinău, 2013, 39, p. 168-172.

#### MATERIALE/ TEZE LA FORURILE ȘTIINȚIFICE

conferințe internaționale (peste hotare)

1. 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.
2. **GISCA I.**, ACCIU A., GLIJIN A., DUCA M. Highly virulent races of sunflower broomrape in the Republic of Moldova. *Current Opinion in Biotechnology*, 2013, 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. *Current Opinion in Biotechnology*, 2013, 24(1), Suppliment, Proceedings of European Biotechnology Congress, p.131-132. ISSN 0958-1669. (IF:8,04).
4. 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.
5. **GÎSCĂ I.**, JOIȚĂ-PĂCUREANU M., CLAPCO S., DUCA M. Influența lupoaiei asupra unor elemente de productivitate la floarea-soarelui. *Simpozionul de Agricultură și inginerie alimentară*, 19-20 octombrie 2017, Iași, p. 95.

conferințe internaționale în republică

1. 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. *Abstract book of the X<sup>th</sup> International Congress of Geneticists and Breeders*, 28 June-1 July 2015, Chisinau, p. 130.

conferințe cu participare internațională

1. **GÎSCĂ I.**, CUCEREAVII A. *Orobanche cumana* Wallr.–fanerogamă devastatoare a culturilor de floarea-soarelui. *Conferința Științifică Internațională a doctoranzilor „Tendențe contemporane ale dezvoltării științei: viziuni ale tinerilor cercetători”*, Chișinău, 2014, p. 57.
2. CUCEREAVII A., **GÎSCĂ I.** Aspecte privind ameliorarea florii-soarelui la Centrul Științific „AMG – AGROSELECT COMERȚ” SRL. *Conferința Științifică Internațională a doctoranzilor „Tendențe contemporane ale dezvoltării științei: viziuni ale tinerilor cercetători”*, Chișinău, 2014, p. 58