

# GENETICA REZISTENȚEI FLORII-SOARELUI LA LUPOAIE (*OROBANCHE CUMANA* WALLR.)

DOI: 10.5281/zenodo.4269458  
 CZU: 575:633.854.78:582.952.6

Doctor în biologie **Steliana CLAPCO**  
 E-mail: stela.clapco@gmail.com  
 Academician **Maria DUCA**  
 E-mail: maduca2000@yahoo.com  
 Universitatea de Stat din Moldova

## GENETICS OF SUNFLOWER RESISTANCE TO BROOMRAPE (*Orobanche cumana* Wallr.)

**Summary.** The angiosperm *Orobanche cumana* Wallr. (broomrape) is an obligatory root parasite, specific to sunflower crop. The main strategy to ensure the reduction of the negative impact of broomrape remains to be the development of resistant genotypes. This paper represents a synthetic analysis of the data related to sunflower genes for resistance to broomrape races, mapping of major genes and quantitative traits loci (QTL) with minor effects in resistance, as well as vertical and horizontal resistance mechanisms, in general, and the function of the genes involved in resistance, in particular. The study highlights the relevance of genetical-molecular, biochemical and physiological analyzes in this field and the importance of breeding programs focused on the development of sunflower genotypes incorporating multiple resistance genes in order to achieve the durable resistance.

**Keywords:** sunflower, *Orobanche cumana* Wallr., vertical resistance, horizontal resistance, resistance genes, genetic determinism, quantitative traits loci (QTL).

**Rezumat.** Angiosperma *Orobanche cumana* Wallr. (lupoaia) este un rizoparazit obligatoriu, specific culturii de floarea-soarelui. Principala strategie ce asigură diminuarea impactului negativ al lupoaiei rămâne a fi crearea genotipurilor rezistente. În acest context, lucrarea de față prezintă o analiză sintetică a datelor cu referire la genele de rezistență ale florii-soarelui la rasele de lupoaie, cartografierea genelor majore și a locilor trăsăturilor cantitative (QTL) cu efecte minore în asigurarea rezistenței, precum și a mecanismelor de rezistență verticală și orizontală, în general, și a funcției genelor implicate, în particular. Studiul pune în evidență actualitatea analizelor genetical-moleculare, biochimice și fiziologice în domeniul respectiv, precum și importanța focusării programelor de ameliorare spre crearea unor genotipuri care îmbină gene unice de rezistență și gene multiple, fapt ce contribuie la formarea unei imunități durabile.

**Cuvinte-cheie:** floarea-soarelui, *Orobanche cumana* Wallr., rezistență verticală, rezistență orizontală, gene de rezistență, determinism genetic, locus al caracterelor cantitative (QTL).

## INTRODUCERE

Interacțiunea dintre floarea-soarelui (*Helianthus annuus* L.) și lupoaie (*Orobanche cumana* Wallr.) constituie un sistem model pentru studiul mecanismelor genetice de rezistență a plantelor de cultură la factorii de stres biotic.

S-a constatat că în majoritatea surselor de germoplasmă identificate, atât în cele din flora spontană, cât și la floarea-soarelui cultivată [1], rezistența este controlată de gene majore denumite *Or* (de la denumirea speciei parazite) și reprezintă tipul de rezistență verticală sau calitativă. Acest tip de rezistență a fost valabil pe parcursul a mai bine de 60 de ani și a contribuit la crearea soiurilor Jdanov 8281 și Jdanov 8885, precum și Peredovik și VNIIMK 1646 [2], care o perioadă îndelungată au fost recunoscute și aplicate în majoritatea țărilor cultivatoare de floarea-soarelui de pe glob [3]. Totodată, au fost determinate mecanisme complexe

de moștenire a rezistenței florii-soarelui la rasele mai evoluat de lupoaie care presupun prezența mai multe gene, identificate în cadrul genului *Helianthus*, implicând mecanisme poligenice ale rezistenței – rezistența orizontală, nespecifică sau cantitativă [4-6].

Imunitatea plantelor, determinată de acțiunea unor mecanisme ale rezistenței verticale și orizontale, se consideră a fi diferită, dar în mare parte similară, deoarece au ca țintă aceeași reacție de apărare a plantei [7]. Joncțiunea dintre genele unice de rezistență și unele gene multiple în același genotip poate contribui la formarea unei imunități durabile. Or, lucrările recente în domeniu demonstrează că mecanismele genetical-moleculare ce determină rezistența florii-soarelui la *O. cumana* sunt asigurate de coexistența ambelor tipuri de rezistență [8-11]. Pentru includerea acestora în procesul de ameliorare este necesară și actuală cunoașterea genelor implicate în procesul dat, precum și rolul funcțional al acestora în dobândirea imunității.

**IDENTIFICAREA GENELOR DE REZISTENȚĂ ȘI MECANISMELE DE MOȘTENIRE**

Primele studii privind determinismul genetic al rezistenței la lupoae au fost realizate în anii 1910–1920, odată cu crearea primelor cultivare de floarea-soarelui rezistente (Kruglik A-41 și Saratovsky 169) [12].

În cadrul lucrărilor de ameliorare, precum și în cercetările de genetică s-a stabilit că, în majoritatea cazurilor, rezistența la lupoae este verticală, adică completă, specifică pentru rasă și controlată de gene dominante unice [13-15]. Astfel, a fost relevată dominanța rezistenței în F<sub>1</sub> și segregarea mendeliană în F<sub>2</sub>, concluzionându-se asupra tipului monogenic de rezistență la rasa A [16].

Într-un studiu clasic realizat de acad. Vrânceanu și colaboratorii de la Institutul Național de Cercetare-Dezvoltare Agricolă, Fundulea, România au fost identificate cinci gene dominante (*Or1*, *Or2*, *Or3*, *Or4* și *Or5*) pentru cele cinci rase fiziologice (A-E) de *O. cumana*, fiecare dintre ele manifestând un mecanism de rezistență cumulativ și conferind rezistență atât la rasa nouă, cât și la cele anterioare – A; A + B; A + B + C; A + B + C + D și A + B + C + D + E [13]. În baza cercetărilor efectuate au fost puse în evidență genotipuri homozigote după genele *Or1*, *Or2*, *Or3*, *Or4* și *Or5*, care sunt utilizate în calitate de diferențiatori în scopul identificării raselor de lupoae (tabelul 1) [17].

Caracterul monogenic, dominant al rezistenței florii-soarelui față de rasele A-E de lupoae, controlată de genele *Or1-Or5*, a fost confirmat în studii genetice efectuate asupra unor populații de *O. cumana* din diverse zone geografice [14; 15].

În unele cazuri particulare însă s-a constatat că rezistența pare să fie controlată de mai multe gene. Astfel, Liașcenko [18] și Pustovoit [19] au raportat un tip de ereditate intermediară a rezistenței la complexul de rase B de lupoae în cadrul hibrizilor F<sub>1</sub> obținuți la încrucișarea dintre diferite soiuri de floarea-soarelui, iar Paleev [20] a remarcat că rezistența la *Orobancha*

este determinată de un complex de gene, din care cauză, deseori, se constată influența citoplasmei asupra intensității infecției. Modalități complexe de moștenire a rezistenței la lupoae, determinată de două gene dominante independente (una dintre care se presupune a fi *Or5*, iar alta – o genă nealelă cu efect similar) sau o genă recesivă, au fost puse în evidență de către Dominguez [21].

Devierile de la moștenirea monogenică clasică și un mecanism diferit al rezistenței au fost stabilite, în special, pentru populațiile mai virulente de lupoae care reprezintă rasa F, G sau H [8; 9; 10]. Studiile aprofundate au relevat că moștenirea rezistenței la rasa F, pe lângă faptul că este determinată de o genă dominantă [22], poate fi controlată, în germoplasma de floarea-soarelui cultivată, de două alele recesive [4; 5] sau de o alelă dominantă și una recesivă [5] care interacționează epistatic. Spre deosebire de celelalte gene *Or* deja cunoscute, aceste gene nu asigură rezistența la rasele anterioare, inclusiv la rasa E [4].

Rezistența genetică la rasa F de lupoae, a liniei derivate din speciile sălbatice perene de *Helianthus grosseserratus* Martens și *Helianthus divaricatus* L., s-a dovedit a fi controlată de alele dominante pentru un singur locus – *Or6*, care manifestă dominanță incompletă. Raporturile de segregare obținute în F<sub>2</sub> și *back-cross*-uri au sugerat și prezența unei a doua gene, *Or7*, a cărei expresie este influențată de condițiile de mediu [23].

Genele de rezistență la populațiile de lupoae, care aparțin noilor rase virulente G și H, au fost identificate la floarea-soarelui de cultură și sălbatică [1; 6; 8; 24], iar studiile genetice efectuate au confirmat atât controlul monogenic dominant [25] sau recesiv [26-28], cât și determinismul poligenic, fiind identificate două gene dominante independente [24].

Generalizând rezultatele studiilor privind mecanismele genetice de moștenire a genelor specifice *Or* (tabelul 2), s-a relevat că relațiile de dominanță și controlul genetic (mono- și poligenic) al rezistenței florii-soarelui este strâns legat de rasa de lupoae, de sursa de rezistență și de linia parentală susceptibilă,

Tabelul 1

**Genotipuri de floarea-soarelui utilizate în calitate de diferențiatori ai raselor de lupoae**

Genotipuri diferențiatoroare	Rase de lupoae						Gene de rezistență
	A	B	C	D	E	F	
AD-66	S	S	S	S	S	S	-
Kruglik A-41	R	S	S	S	S	S	<i>Or1</i>
Jdanov 8281	R	R	S	S	S	S	<i>Or2</i>
Record H-8280	R	R	R	S	S	S	<i>Or3</i>
S-1358, O-7586	R	R	R	R	S	S	<i>Or4</i>
P-1380-2	R	R	R	R	R	S	<i>Or5</i>
LC - 1093	R	R	R	R	R	R	<i>Or6</i>

Tabelul 2

Moștenirea rezistenței la *O. cumana* în diverse genotipuri de floarea-soarelui [8; 29]

Surse de rezistență	Rasa de <i>O. cumana</i>	Gena de rezistență	Acțiunea genei	Sursa bibliografică
Kruglik A-41	A-E	<i>Or1</i>	Genă unică, dominantă	[13]
Jdanov 8281	A-E	<i>Or2</i>	Genă unică, dominantă	[13]
Record H-8280	A-E	<i>Or3</i>	Genă unică, dominantă	[13]
S-1358	A-E	<i>Or4</i>	Genă unică, dominantă	[13]
P-1380	A-E	<i>Or5</i>	Genă unică, dominantă	[13]
NR-5	E	<i>Or5</i>	Genă unică, dominantă	[15]
R-41	E	necunoscută	Două gene dominante	[21]
P-96	E	<i>Or5</i>	Genă unică, dominantă	[10]
KI-534	E	<i>or6, or7</i>	Două gene recesive	[4]
P-96	F	<i>or6, or7</i>	Două gene recesive	[5]
J1 (BR-4)	F	<i>Or6</i>	Genă unică, dominantă	[30]
J1 (BR-4)	F	<i>Or6, Or7</i>	Două gene cu dominanță incompletă	[23]
LC-1093	F	<i>Or6</i>	Genă unică, dominantă	[17]
R-96	F	<i>or6, or7</i>	Două gene recesive	[5, 6]
L-86	F	<i>or6, or7</i>	Două gene recesive	[5, 6]
AO-548	G	necunoscută	Două gene dominante independente	[24]
HA267	G	necunoscută	Genă unică, recesivă	[26]
AB-VL-8	G	<i>orab-vl-8</i>	Genă unică, recesivă	[28]
LIV-10; LIV-17	G	necunoscută	Genă unică, recesivă	[27; 28]
DEB- 2	G	<i>OrDeb-2</i>	Genă unică, dominantă	[25]
VIR-665; VIR-221; VIR-222; No. 667; No. 769; No. 3046	G	necunoscută	Genă unică, dominanță incompletă	[31]

utilizată în încrucișare. Astfel, aceleași genotipuri se pot caracteriza prin diferite modalități de interacțiune între gene și moștenire, în cazul diverselor rase ale patogenului. Drept exemplu, în linia P-96, rezistența la rasa E este dominantă și controlată de o singură genă, pe când rezistența la rasa F este recesivă și determinată de două gene [10].

Genele dominante, specifice pentru fiecare rasă, identificate în cadrul florii-soarelui de cultură și din flora spontană, sunt considerate sursa ideală pentru ameliorarea la heterozis și crearea hibridilor rezistenți la lupoaie. Moștenirea acestor gene este simplă, fiind suficient ca factorii ereditari dominanți să fie încorporați cel puțin în una dintre formele parentale în stare homozigotă pentru a asigura rezistența hibridilor la atacul de lupoaie și protejarea recoltei [29]. Spre deosebire de aceasta, în cazul raselor mai virulente, la care rezistența este determinată de gene dominante independente [24], rezistența totală a hibridilor este asi-

gurată doar în situația în care ambele forme parentale sunt rezistente [32].

Studiile moleculare recente demonstrează că genele majore, specifice pentru fiecare rasă, determină prezența sau lipsa infecției cu lupoaie, fiind asociate cu caracterul de rezistență sau sensibilitate, pe când numărul de tulpini de *O. cumana* per plantă poate fi explicat prin acțiunea unor QTL (*Quantitative Trait Locus* – locus al caracterelor cantitative) cu efecte de la mic la moderat [10]. Aceste rezultate au sugerat că rezistența florii-soarelui la lupoaie este controlată de o combinație de componenți calitativi, specifici rezistenței la rasă, ce influențează prezența sau absența infecției cu lupoaie și componenți cantitativi, fără specificitate de rasă care afectează numărul de tulpini per plantă [10]. În acest context, prezintă interes identificarea noilor loci asociați cu rezistența, a genelor candidate care stau la baza rezistenței și a markerilor moleculari linkați cu acestea ce vor contribui la ex-

ploatarea selecției asistate de markeri și accelerarea procesului de creare a genotipurilor valoroase cu rezistență durabilă [9-11].

### CARTAREA GENELOR DE REZISTENȚĂ LA LUPOAIE

Genomul florei-soarelui (n=17) se caracterizează printr-o complexitate înaltă, având dimensiunea de 3,6 milioane de baze și conținând un număr mare de secvențe repetitive, fapt ce determină dificultatea asamblării. Cu toate acestea, grație evoluției rapide a tehnologiilor de secvențiere, actualmente, genomul este asamblat în proporție de 80 %, reprezentând un instrument extrem de util pentru diferite programe de cercetare și ameliorare [33].

Prima hartă genetică pentru *H. annuus* a fost elaborată cu utilizarea markerilor RAPD [34]. Ulterior, în baza populațiilor F<sub>2</sub> și a liniilor consangvinizate recombinante (*Recombinant Inbred Lines* – RILs), au fost create o serie de hărți genetice RFLP [35], AFLP [36] și SSR [37], ultima servind în calitate de hartă de referință care a fost suplimentată cu noi markeri SSR [38], EST-SSR, INDEL și TRAP [39]. De remarcat inclusiv lucrările de pionierat ale lui Celik și colab. [40] care a utilizat genotiparea prin secvențiere pentru depistarea pe scară largă a SNP-urilor la floarea-soarelui și a dezvoltat, în baza acestora, o hartă de linkage. Aceste hărți sunt utilizate pentru cartografierea genelor asociate cu numeroase caractere de importanță agronomică, precum și pentru studiul comparativ al structurii genomului florei-soarelui și al altor specii de *Helianthus*. Actualmente, un șir de markeri moleculari pentru trăsături simple, precum restaurarea fertilității, conținutul ridicat de acid oleic, toleranța la erbicide sau rezistența la unii patogeni (*Plasmopara halstedii*, *Pu-*

*ccinia helianthi*), se aplică cu succes în programele de ameliorare asistate de markeri ai florei-soarelui [41].

Cât privește genele de rezistență la lupoaie, mai multe studii sugerează că, începând cu *Or1* până la *Or5*, genele sunt alele sau strâns linkate [13; 15; 29], în timp ce alte cercetări demonstrează că acestea sunt amplasate în grupe de linkaj (GL) diferite [43], astfel că obținerea liniilor care combină 2 sau 3 gene ale rezistenței, nu prezintă dificultate. Cartarea genelor date prin metode de genetică tradițională a fost însă imposibilă.

Majoritatea analizelor moleculare au fost axate pe crearea diferitelor tipuri de markeri moleculari pentru detectarea genei *Or5*, care conferă rezistență la rasa E sau rasele mai puțin virulente ca E. Cele mai relevante rezultate constituie identificarea markerului RAPD (UBC120\_660) la o distanță de 22.5 cM distal de gena *Or5* și a cinci markeri SCAR (RTS05, RTS28, RTS40, RTS29 și RTS41), cel mai apropiat fiind cartat la 5.6 cM proximal de *Or5* [44]. Ulterior aceștia au fost integrați în harta de linkage publică CARTISOL RFLP (figura 1) [45]. Locusul linkat cu gena *Or5* a fost cartat în regiunea telomerică a GL3 pe harta genetică SSR, cel mai apropiat marker SSR aflându-se la 6,2 cM în aval de *Or5* (figura 2) [46].

Eficacitatea utilizării markerilor SCAR în *screening*-ul molecular a genotipurilor de floarea-soarelui ce posedă rezistență la rasa E sau mai puțin virulentă ca E de lupoaie a fost relevată inclusiv în cadrul unor cercetări realizate de către echipa Centrului de Genetică Funcțională (CGF) al USDC. Astfel, utilizând markerul RTS05 cartat la distanța de 5,6 cM proximal de gena rezistenței, au fost analizate cca 70 de genotipuri de floarea-soarelui (hibridi și linii de perspectivă din colecția companiei AMG-Agroselect), constatându-se prezența *Or5* la cca 90 % dintre ele [47; 48].

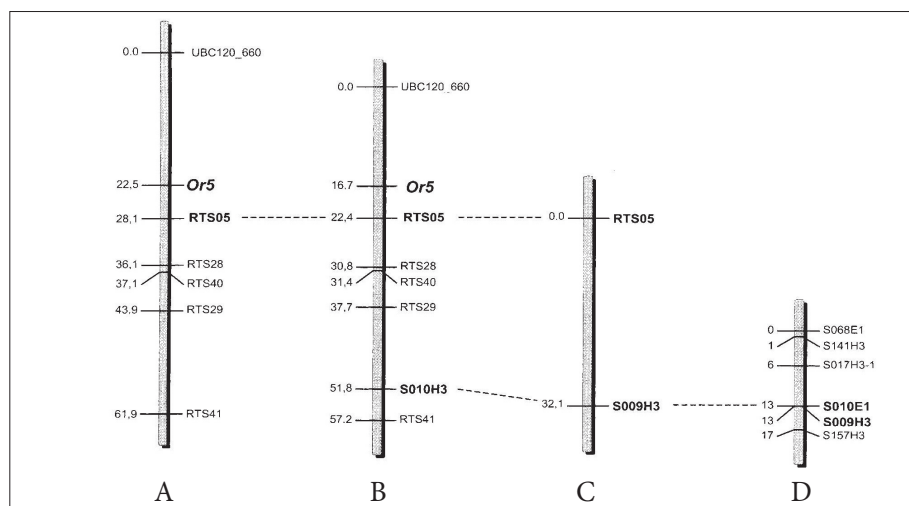


Figura 1. Cartarea genei *Or5* (A – harta de linkage inițială; B – harta de linkage ce integrează *Or5*; C – harta S1; D – harta CARTISOL RFLP, grupul de linkage LG17) [45].

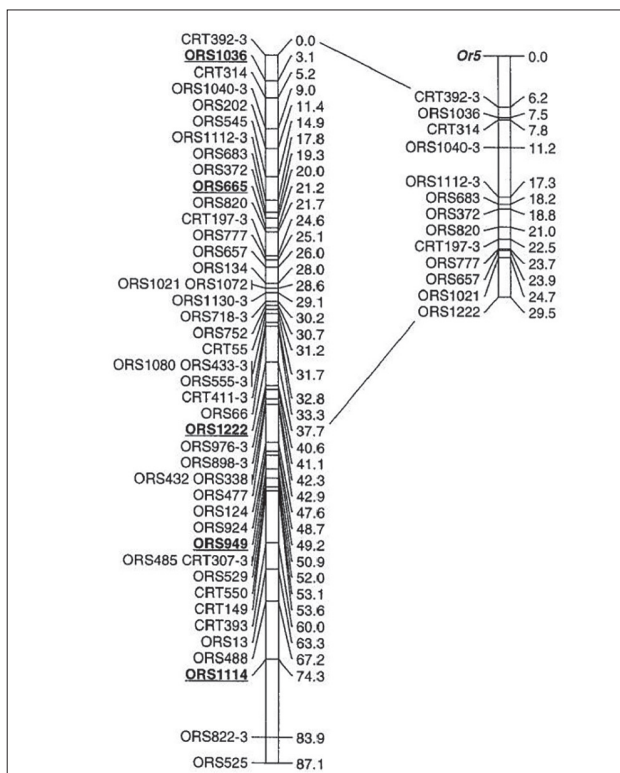


Figura 2. Cartarea genei *Or5* în grupul de linkage LG3 al hărții SSR a florii-soarelui [46].

Imerovski și colaboratorii [26] au identificat asocieri semnificative între genele *Or6*, *Or4* și *Or2* cu markerii SSR ORS1036\_240, ORS1114\_265 (*Or6*); ORS665\_281, ORS1114\_264 (*Or4*) și, respectiv, ORS1114\_260 (*Or6*), localizați în GL 3, ceea ce confirmă faptul că diferite gene de rezistență sunt strâns legate în același grup de linkage, după cum se presupunea anterior. Recent, același grup de cercetători au cartat, în GL 3, o nouă genă care conferă rezistența la rasele de lupoai mai virulente ca F în linia consanguinizată ABB-VL-8. Gena a fost numită *Or<sub>ab-vl-8</sub>* și s-a dovedit a fi recesivă. Marcherul ORS683 a fost cartografiat la 1,5 cM distanță de genă [26]. De asemenea, o genă majoră (*HaOr7*) ce conferă rezistența la rasa F de *O. cumana* a fost cartată pe cromozomul 7 [49].

Pe lângă genele majore de rezistență, analizele moleculare au pus în evidență un șir de QTL-uri implicate în asigurarea rezistenței la lupoai. Astfel, Perez-Vich și colaboratorii au identificat cinci QTL-uri (*or1.1*, *or3.1*, *or7.1*, *or13.1*, *or13.2*) pentru rezistența la rasa E, dintre care *or3.1* corespunde genei dominante *Or5*, iar locii de trăsături cantitative din grupurile de linkage 1, 7 și 13 au fost relevate șase QTL-uri,

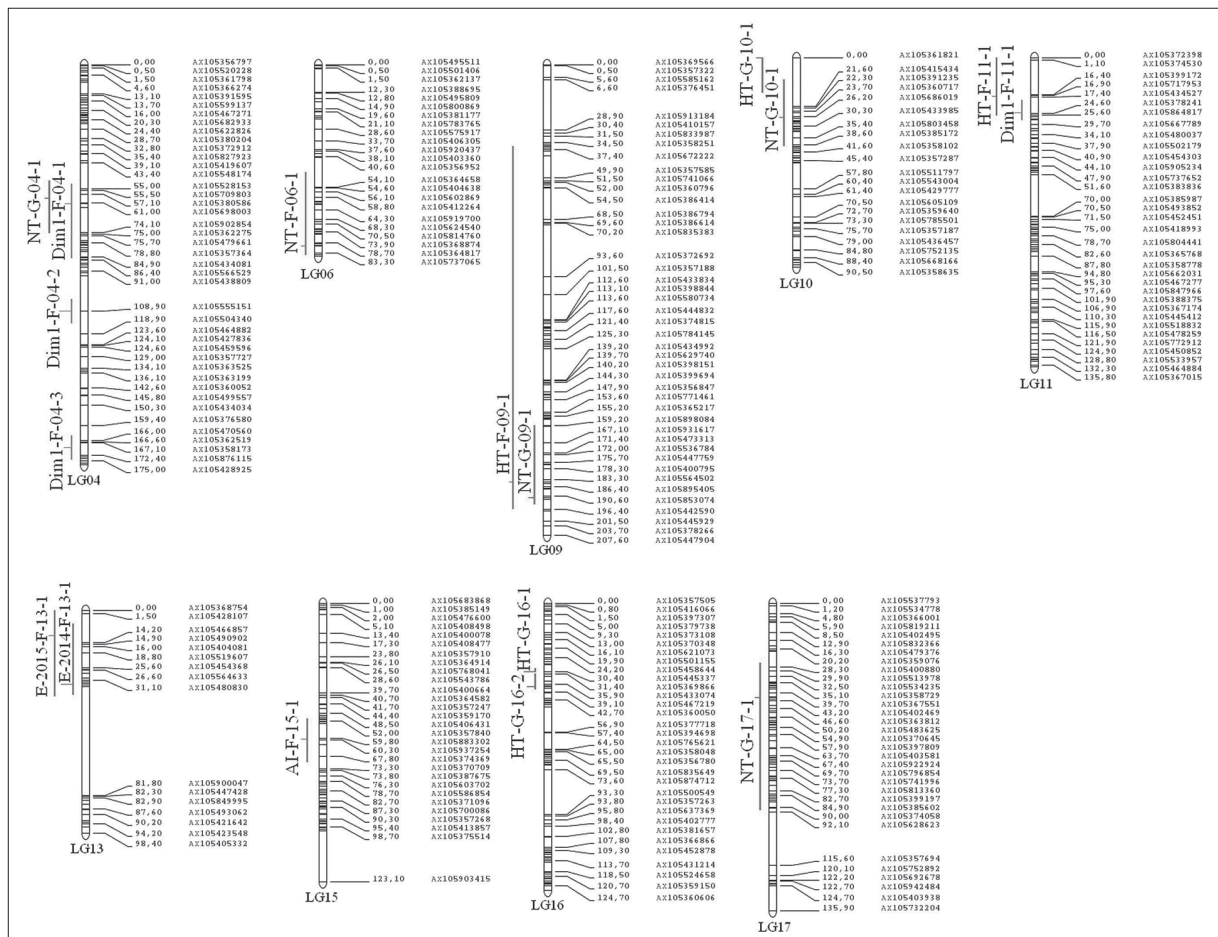


Figura 3. Localizarea QTL-urilor în grupurile de linkage 4, 6, 9, 10, 11, 13, 14 și 16 [11].

în grupele de linkage GL1, 4, 5, 13 și 16, toate având efect minor [10]. Recent, au fost identificate 17 QTL-uri, localizate în nouă grupe de linkage diferite și care sunt specifice pentru diferite rase de lupoaie (E și F) și etape de dezvoltare a patogenului (figura 3). Unul dintre QTL-uri, amplasat în GL 13, controlează numărul de lăstari de *O. cumana*, este cel mai stabil și se caracterizează prin rezistență față de ambele rase analizate [11].

Determinismul poligenic al rezistenței la rasele mai virulente de lupoaie a fost confirmat în cadrul studiilor realizate de Imerovski și coautorii (2016), care au relevat un șir de QTL-uri implicate în asigurarea rezistenței. Astfel, cercetătorii au cartografiat două QTL-uri majore localizate pe cromozomul 3 (*or3.1* și *or3.2*), primul poziționat în regiunea genomică corespunzătoare genei de rezistență *Or5*, cartografiată anterior, iar al doilea, identificat în premieră, este amplasat în partea inferioară a cromozomului 3, fiind asociat cu rezistența la rasa G de lupoaie, fapt constatat prin genotiparea cu un nou marcher CAPS [9].

Rezultatele acestor studii impulsionează înțelegerea mecanismelor ce stau la baza rezistenței florii-soarelui la rasele extrem de virulente de lupoaie la un nou nivel și contribuie la dezvoltarea marcherilor moleculari extrem de utili pentru programele de ameliorare a culturii.

## ROLUL FUNCȚIONAL AL GENELOR DE REZISTENȚĂ LA LUPOAIE

Identificarea și cartarea genelor pe hărțile genetice este insuficientă pentru o selecție moleculară rapidă și eficientă, fiind necesare inclusiv cercetări complexe axate pe stabilirea rolului funcțional și a activității transcripționale a genelor în cadrul unor sisteme monogene sau poligenice model [50]. Analizele histologice, biochimice și fiziologice au pus în evidență diferite mecanisme de rezistență a florii-soarelui la lupoaie, cum ar fi diminuarea procesului de stimulare a germinării semințelor patogenului, necroza parazitului și modificări histologice în țesuturile gazdei ce perturbază formarea unei conexiuni funcționale între parazit și planta gazdă, bazele genetico-moleculare ale acestora nefiind încă elucidate pe deplin [11; 29; 51].

Rolul genelor majore, care determină rezistența verticală, este insuficient studiat, fiind constatate preponderent date indirecte care ar argumenta implicarea acestora în mecanisme concrete ale reacției de răspuns. Astfel, se cunoaște că rezistența soiului Jdanov 8281, care este purtător al genei *Or2*, se manifestă printr-o reacție de tip hipersenzitiv [52], în timp ce liniile rezistente, purtătoare ale genei *Or3*, se caracterizează prin acumularea compușilor fenolici în celulele dete-

rioritate și formarea ligninei în vasele conducătoare ale florii-soarelui [29]. Implicarea compușilor fenolici în asigurarea rezistenței la patogen a fost confirmată prin cercetările realizate de Antonova și Ter de Borg. Astfel, analizând activitatea peroxidazei intra- și exocelulare, sintetizată de radicelele de *O. cumana* ce provin din două rase diferite (C și D), precum și capacitatea radicelelor de a penetra rădăcinile de floarea-soarelui, cercetătorii au pus în evidență rolul enzimei secretate de patogen în declanșarea răspunsului defensiv al plantei gazdă prin intensificarea procesului de polimerizare a compușilor fenolici în lignină și au conchis că la baza evoluției rasei D de lupoaie a stat reducerea exudării peroxidazei, impulsionată de cultivarea intensă a soiurilor ce conțineau gena *Or3* [52].

Prin izolarea ampliconilor specifici ai genei *Or5*, secvențierea și analiza bioinformatică a succesiunii nucleotidice s-a constatat că aceștia ar avea similitudine cu gena care codifică precursorul proteinei-inhibitor al poligalacturonazei (enzimă implicată în scindarea componentelor peretelui celular ce favorizează invazia țesuturilor plantelor gazdă de către patogeni), cu rol bine cunoscut în rezistența plantelor superioare la atacul fungilor [53; 54].

Se cunoaște că rezistența genetică a florii-soarelui față de rasele A-E a *O. cumana*, controlată de genele *Or1-Or5*, este verticală și specifică pentru rasă, urmând interacțiunea genă pentru genă, în cadrul căreia fiecărei gene de rezistență a plantei gazdă îi corespunde o genă de avirulență (*Avr*) a parazitului [1; 11; 29]. Deși bazele modelului dat de interacțiune nu sunt pe deplin elucidate, se consideră că acesta este fundamentat pe recunoașterea, directă sau indirectă, de către receptorii gazdei (sau proteinele R) a factorilor avirulenți (*Avr*) și a altor efectori derivați de la parazit care interferează cu sistemul de imunitate a plantelor, ceea ce duce la activarea reacției de apărare [55]. Majoritatea proteinelor R conțin situsuri protein-chinazice de legare a nucleotidelor, bogate în repetiții de leucină, responsabile de recunoașterea agentului patogen și declanșarea cascadelor de semnalizare care duc la dezvoltarea morții celulare programate (răspuns hipersensibil, HR) prin generarea de specii reactive de oxigen (SRO). O astfel de interacțiune cu proteinele R induce un răspuns protector specific, adesea asociat cu moartea celulelor plantei, în vederea limitării reproducerii și răspândirii agentului patogen, formarea în interiorul vaselor gazdei a unor substanțe gelatinoase, care blochează transmiterea substanțelor nutritive sau a unor compuși cu efect toxic asupra parazitului, conducând, finalmente, la apariția rezistenței specifice a florii-soarelui față de lupoaie [56].

Analiza *in silico* cu referire la noua genă *HaOr7*, ce conferă rezistență la rasa F de lupoaie, a pus în evi-

dență faptul că aceasta codifică o proteină-chinază similară receptorilor membranari care asigură transducerea semnalelor contribuind la prevenirea conectării *O. cumana* la liniile rezistente de floarea-soarelui, adică la o conexiune incompatibilă. În cadrul sistemelor compatibile ce implică linia sensibilă, alela genei respective conține un stop codon, ca rezultat fiind sintetizată o proteină trunchiată căreia îi lipsește domeniul chinazei intracelulare, iar semnalul nu este transdus [49].

Pentru relevarea unor gene solitare și poligene ce determină rezistența florii-soarelui la lupoaie, a fost realizat un studiu bioinformatic prin investigarea bazelor de date ale portalului NCBI. Drept rezultat, au fost identificate secvențe nucleotidice și proteine (D- $\alpha$ -fosfolipaza, glucan sintaza; metionin sintaza; glutatión S-transferaza; quinon oxidoreductaza; calcon sintaza și defensina HaDEF1), potențial implicate în reacția nespecifică de răspuns la acțiunea fitoparazitului. Una dintre cele mai importante a fost considerată proteina D- $\alpha$ -fosfolipaza, codificată de gena EF575487 cu rol în degradarea fosfolipidelor din membrana citoplasmatică, iar cea mai specifică dintre defensine s-a dovedit a fi secvența polipeptidică AAM27914 (secvența ARNm AF364865), care a fost identificată ca HaDef1 cu rol activ în mecanismul rezistenței la lupoaie [53]. Prezența în exces a proteinei HaDEF1 în rădăcinile infectate sugerează că ea este unul dintre compușii toxici implicați în necrotizarea țesuturilor parazitului [57].

În vederea identificării genelor candidate antrenate în mecanismul de rezistență a florii-soarelui, au fost realizate un șir de cercetări focusate pe compararea expresiei genelor în sistemele compatibile și incompatibile de interacțiune *O. cumana* – *H. annuus*. Analizând profilele de expresie a 11 gene, implicate în diferite căi metabolice (fenilpropanoizi, căile metabolice mediate de acidul jasmonic, etilena), asociate cu reacția defensivă, Letousey și colaboratorii au relevat supraexpresia genei *HaGSL1* ce corelează cu acumularea calozei și a genelor codificatoare de defensine cu rol în necrotizarea lupoaiei [51]. În intervalele de suport ale QTL-urilor cartate de Louarn ș.a. [11], a fost identificat un ADNc (HaT13l034464) care indică omologie cu o gena codificatoare a unei proteine CC-NBS-LRR cu un rol important în rezistența de tip genă pentru genă, precum și o genă ce codifică o proteină NBS-LRR (HaT13l008311), omoloagă cu RSG3-301 care controlează interacțiunea incompatibilă între *Striga gesnerioides* și *Vigna unguiculata*.

Evaluând expresia a patru gene (*NPR1*, *PAL*, *defensina* și *PR5*) la 13 linii de floarea-soarelui rezistente, tolerante și susceptibile, din colecția AMG-Agroselect Comerț, pe fondal de infecție cu lupoaie, cercetătorii din cadrul CGF, au constatat o stabilitate mai înaltă

a activității transcripționale în genotipurile rezistente, comparativ cu cele sensibile, rezistența fiind asociată cu abilitatea de a menține și recupera rapid un nivel normal de metabolism sub presiunea factorilor de stres [58].

Investigarea recentă a activității a 14 gene, implicate în fortificarea pereților celulari prin acumulări suplimentare de lignină și caloză și în metabolismul SRO, la două genotipuri de floarea-soarelui rezistente la rasa F de lupoaie (posesoare a genei *Or6*) și două cu rezistență la rasa G (bazele genetice ale rezistenței nu sunt cunoscute), au pus în evidență profile de expresie distincte, în funcție de genotip și fază de dezvoltare. Astfel, genele (*PAL*, *C4H*, *4CL1* și *FAH1*), care codifică enzime implicate în metabolismul fenilpropanoidelor, au fost preferențial supraexpresate, în combinația incompatibilă formată cu genotipul Favorit ce conține gena *Or6* de rezistență și subexpresate, în combinația formată cu PR64LE20, rezistent la rasa G. Totodată, în cazul sistemului compatibil s-a relevat un ritm sporit în acumularea secvențelor transcrise și a conținutului de lignină. Genele *GSL* ce codifică caloza s-au remarcat prin supraexpresie în combinația incompatibilă cu genotipul Favorit, în special în primele etape de stabilire a conexiunilor, și o sporire distinctă a conținutului de transcripti asociată cu fiecare dintre fazele de invazie a patogenului, în cazul combinației compatibile. Cu referire la genele *SOD*, hibridul Favorit s-a caracterizat printr-un echilibru homeostatic determinat de valori ai expresiei ce nu depășesc limitele martorului, pe când PR64LE20 a manifestat o stare de alarmă exprimată prin subexpresia și, ulterior, supraexpresia genelor *Mn-SOD I*, *Cu/Zn-SOD I* și *Cu/Zn-SOD II*. În combinația compatibilă, expresia a fost preponderent inhibată [59; 60]. Rezultatele obținute în cadrul CGF au confirmat, pe de o parte, rolul genelor analizate în asigurarea rezistenței florii-soarelui la lupoaie și, pe de altă parte, complexitatea mecanismelor de rezistență și varierea reacției de răspuns în funcție de genotip, fază de dezvoltare a patosistemului, rasa de virulență a parazitului, condiții de mediu ș.a.

## CONCLUZII

Rezistența genetică rămâne a fi una dintre cele mai eficiente componente în strategiile de control integrat al patogenului *Orobanche cumana*, care atacă floarea-soarelui provocând pierderi semnificative de recoltă. Deși existența factorilor genetici de rezistență în cadrul populațiilor locale și speciilor de floarea-soarelui sălbatică a facilitat eforturile amelioratorilor în crearea genotipurilor rezistente, obținerea unei rezistențe absolute prezintă dificultăți. Această problemă este de-

terminată atât de variabilitatea înaltă și evoluția rapidă a noilor rase de lupoaie care depășesc rezistența existentă, cât și de insuficiența cunoștințelor referitoare la rolul funcțional al genelor de rezistență *Or* (*Or1-Or7*), corespunzătoare raselor fiziologice de lupoaie (de la A la H). Genele *Or*, majoritatea cu moștenire dominantă, asigură rezistența culturii la rasele timpurii de *Orobanche* (A-E), fiind însă ineficiente în cazul raselor mai evoluat (F, G, H).

În cadrul procesului patologic, interacțiunea dintre parazit și planta gazdă declanșează mecanisme genetico-moleculare complexe care blochează dezvoltarea lupoaiei la diferite stadii de dezvoltare a patosistemului, fiind diferențiate mai multe tipuri de gene ce contribuie la rezistența florii-soarelui, inclusiv gene care codifică polizaharide, enzime, defensine, stimulatori și inhibitori de germinare pentru *O. cumana*, gene care codifică peptide ce acționează asupra membranelor biologice ale parazitului, ducând la denaturarea lor și respectiv la stoparea creșterii. Astfel, acumularea genelor de rezistență din diferite surse (calitativă, monogenică) și identificarea sistemelor multigenice ce controlează rezistența cantitativă (poligenică) într-un singur genotip permite obținerea unei rezistențe de lungă durată la noile rase de parazit. În acest sens, un instrument util și eficient este prezentat de marcherii moleculari care permit analiza profundă a factorilor ereditari de rezistență, evidențierea QTL-urilor asociate cu genele de rezistență, contribuind la elucidarea mecanismelor defensive și dezvoltarea selecției asistate de marcheri.

## BIBLIOGRAFIE

1. Terzić S., Boniface M.C., Marek L., Alvarez D., Baumann K., Gavrilova V., Joita-Pacureanu M., Sujatha M., Valkova D., Velasco L., Hulke B.S., Jocić S., Langlade N., Muñoz S., Rieseberg L., Seiler G., Vear F. Gene banks for wild and cultivated sunflower genetic resources, In: OCL, 2020, vol. 27, nr. 9, <https://doi.org/10.1051/ocl/2020004>
2. Pustovoyt V. S., Pustovoyt G. V. Seleksiya podsolnechnika na ustoychivost' k zarazikhe. In: Zashchita rasteniy ot bolezney i vreditel'ey, 1963, № 4, s. 15-17.
3. Skoric 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.
4. Rodríguez-Ojeda M.I., Fernández-Escobar J., Alonso L.C. Sunflower inbred line (KI-374) carrying two recessive genes for resistance against a highly virulent Spanish population of *Orobanche cernua* Loeffl. race F. In: Proceedings of the 7th International Parasitic Weed Symposium, Nantes, France, 5-8 June 2001, p. 208-211.
5. Akhtouch B., Muñoz-Ruz J., Melero-Vara J.M., Fernández-Martínez J.M., Domínguez J. Inheritance of resistance to race F of broomrape (*Orobanche cumana* Wallr.) in sunflower lines of different origin. In: Plant Breed., 2002, vol. 121, p. 266-268.
6. Fernández-Martínez J., Pérez-Vich B., Akhtouch B., Velasco L., Muñoz-Ruz J., Melero-Vara J.M., Domínguez J. Registration of four sunflower germplasms resistant to race F of broomrape. In: Crop Sci., 2004, vol. 44, p. 1033-1034.
7. Heath M.C. Hypersensitive response-related death. In: Plant Mol. Biol., 2000, vol. 44, p. 321-333.
8. Cvejić S., Radanović A., Dedić B., Jocković M., Jocić S., Miladinović D. Genetic and genomic tools in sunflower breeding for broomrape resistance. In: Genes (Basel), 2020, vol. 11, nr. 2-152. Doi:10.3390/genes11020152
9. Imerovski I., Dedić B., Cvejić S., Miladinović D., Jocić S., Owens G.L., Kočiš Tubić N., Rieseberg L.H. BSA-seq mapping reveals major QTL for broomrape resistance in four sunflower lines. In: Mol Breeding, 2019, vol. 39:41.
10. Pérez-Vich B., Akhtouch B., Mateos A., Velasco L., Jan C., Fernández J., Domínguez J., Fernández-Martínez J.M. Dominance relationships for genes conferring resistance to broomrape (*Orobanche cumana* Wallr.) in sunflower. In: Helia, 2004, vol. 27, p. 183-192.
11. Louarn J., Boniface M.C., Pouilly N., Velasco L., Pérez-Vich B., Vincourt P., Muñoz S. Sunflower resistance to broomrape (*Orobanche cumana*) is controlled by specific QTLs for different parasitism stages. In: Front. Plant Sci., 2016, <https://doi.org/10.3389/fpls.2016.00590>
12. Satsyperov F. A. Ustoychivost' pantsirnykh sortov podsolnechnika k zarazikhe. V: Tr. Byuro po prikl. botanike, 1913, t. 6, s. 251-261.
13. Vranceanu A.V., Tudor V.A., Stoenescu F.M., Pirvu N. Virulence groups of *Orobanche cumana* Wallr. differential hosts and resistance sources and genes in sunflower. In: Proceedings of the 9th International Sunflower Conference, Torremolinos, Spain, 8-13 June 1980, p. 74-80.
14. Pogorletsky P.K., Geshele E.E. Sunflower immunity to broomrape and rust. In: Proc. 7th Int. Sunflower Conf., Krasnodar, Russia, 27 June-3 July, 1976. Int. Sunflower Assoc. Paris, France, p. 238-243.
15. Sukno S., Melero-Vara J.M., Fernandez-Martinez J. Inheritance of resistance to *O. cernua* in six sunflower lines. In: Crop Science, 1999, vol. 39, p. 674-678.
16. Plachek E.M. Problemy seleksii podsolnechnika. In: Trudy Vsesoyuznogo S' ezda po genetike, 1932, № 2, 126 s.
17. Păcureanu-Joița M., Vrănceanu A.V., Stanciu D. Cincizeci de ani de activitate în ameliorarea florii-soarelui la Fundulea, AN. I.N.C.D.A. Fundulea, Vol. LXXV, 2007, p. 173-195.
18. Lyashchenko I. F. Materialy po genetike podsolnechnika. V: Uchenye zapiski biologo-pochvennogo fakul'teta Rostovskogo n/DGU, 1953, T.XIX, vyp. Z., c. 54-71.
19. Pustovoyt V. S. Mezhhvidovaya gibridizatsiya kak metod seleksii podsolnechnika na gruppovoy immunitet. V: Genetika, 1966, Tom. 1, s. 59-69.
20. Paleev N. G. Genetika immuniteta podsolnechnika k zarazikhe. V: Genetika i Seleksiya Rasteniy na Donu, Rostov, Izd. Rost. Gos. Univ., 1983. s. 85-90.



21. Dominguez J. R-41, a sunflower restorer inbred line, carrying two genes for resistance against a highly virulent Spanish population of *Orobanche cernua*. *Plant Breed.*, 1996, vol. 115, p. 203-204.
22. Pacureanu-Joita M., Vranceanu A.V., Soare G., Marinescu A., Sandu I. The evaluation of the parasite-host interaction system (*Helianthus annuus* L.)-(*Orobanche cumana* Wallr.) in Romania. In Proceedings of the 2<sup>nd</sup> Balkan Symposium on Field Crops, Novi Sad, Yugoslavia, 16–20 June 1998, p. 1-20.
23. Velasco L., Pérez-Vich B., Jan C.C., 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 Breed.* 2007, vol. 126, p. 67-71.
24. Păcureanu-Joita M., Raranciuc S., Procopovici E., Sava E., Nastase D.T. The impact of the new races of broomrape (*Orobanche cumana* Wallr.) parasite in sunflower crop in Romania. In: Proceedings of the 17th International Sunflower Conference, Cordoba, Spain, 8 June 2008, p. 225-231.
25. Velasco L., Pérez-Vich B., Yassein A.M., Jan C.C., Fernández-Martínez J.M. Inheritance of resistance to broomrape (*Orobanche cumana* Wallr.) in an interspecific cross between *fxdc y Helianthus annuus* and *Helianthus debilis* ssp. *tardiflorus*. In: *Plant Breeding*, 2012, vol. 131, p. 220-221.
26. Imerovski I., Dimitrijevic A., Miladinovic D., Dedic B., Jovic S., Kovacevic B., Obreht D. Identification of PCR markers linked to different or genes in sunflower. In: *Plant Breed.*, 2014, vol. 132, p. 115-120.
27. Cvejic S., Jovic S., Dedic B., Miladinovic D., Dimitrijevic A., Imerovski I., Jockovic M., Miklic V. Inheritance of resistance to broomrape in sunflower inbred line LIV-17. In: Proceedings of the 4th International Symposium on Broomrape in Sunflower, Bucharest, Romania, 2–4 July 2018, p. 154-162.
28. Cvejic S., Jovic S., Dedic B., Radeka I., Imerovski I., Miladinovic D. Determination of resistance to broomrape in newly developed sunflower inbred lines. In: Proceedings of the 3rd International Symposium on Broomrape (*Orobanche* spp.) in Sunflower, Córdoba, Spain, 3–6 June 2014, p. 184-188.
29. Fernandez-Martinez J.M., Dominguez J., Perez-Vich B., Velasco L. Update on breeding for resistance to sunflower broomrape. In: *Helia*, 2010, vol. 33, nr. 52, p. 1-12.
30. Perez-Vich B., Akhtouch B., Munoz-Ruz J. Inheritance of resistance to a highly virulent race F of *Orobanche cumana* Wallr. in a sunflower line derived from interspecific amphiploids. In: *Helia*, 2002, nr. 36, p. 137-144
31. Guchetl S., Antonova T., Araslanova N., Tchelyustnikova T. Sunflower resistance to race G of broomrape: The development of the lines and the study of inheritance. In: Proceedings of the 4th International Symposium on Broomrape (*Orobanche* spp.) in Sunflower, Bucharest, Romania, 2–4 July 2018, p. 83.
32. Gîscă I. Studii privind ereditatea rezistenței florii-soarelui la lupoaie. In: *Buletinul Academiei de Științe a Moldovei. Științele Vieții*, 2017, nr. 3 (333), p. 121-126.
33. Badouin H., Gouzy J., Grassa C. et al. The sunflower genome provides insights into oil metabolism, flowering and Asterid evolution. In: *Nature*, 2017, vol. 546, p. 148-152.
34. Rieseberg L. H., Choi H., Chan R., Spore C. (1993). Genomic map of a diploid hybrid species. In: *Heredity*, vol. 70, p. 285-285.
35. Berry S. T., León A. J., Hanfrey C.C., Challis P., Burkholtz A., Barnes S.R. Molecular marker analysis of *Helianthus annuus* L. 2. Construction of an RFLP linkage map for cultivated sunflower. In: *Theor. Appl. Genet.* 1995, vol. 91, p. 195-199.
36. Gedil M.A., Wye C., Berry S.T., Seger B., Peleman J., Jones R. An integrated RFLP-AFLP linkage map for cultivated sunflower. In: *Genome*, 2001, vol. 44, p. 213-221.
37. Tang S., Kishore V. K., Knapp S. J. PCR-multiplexes for a genomewide framework of simple sequence repeat marker loci in cultivated sunflower. In: *Theor. Appl. Genet.*, 2003, vol. 107, p. 6-19.
38. Yu J. K., Tang S., Slabaugh M. B., Heesacker A., Cole G., Herring M., et al. Towards a saturated molecular genetic linkage map for sunflower. In: *Crop Sci.*, 2003, vol. 43, p. 367-387.
39. Hu J., Yue B., Vick B. A. Integration of trap markers onto a sunflower SSR marker linkage map constructed from 92 recombinant inbred lines. In: *Helia*, 2007, vol. 30, p. 25-36.
40. Celik I., Bodur S., Frary A., Doganlar S. Genome-wide SNP discovery and genetic linkage map construction in sunflower (*Helianthus annuus* L.) using a genotyping by sequencing (GBS) approach. In: *Mol. Breed.*, 2016, vol. 36, p. 133.
41. Dimitrijevic A., Horn R. Sunflower hybrid breeding: from markers to genomic selection. In: *Front Plant Sci.*, 2018, nr. 8:2238. doi:10.3389/fpls.2017.02238
42. Fernandez-Martinez J.M., Melero-Vara J., Munoz-Ruz J., Ruso J., Dominguez J. Selection of wild and cultivated sunflower for resistance to a new broomrape race that overcomes resistance of the *Or5* gene. In: *Crop Sci.*, 2000, nr. 40, p. 550-555.
43. Gagne G. Variabilite de population d'*Orobanche cumana* – genetique de la resistance a l'orobanche chez le tournesol (*Helianthus annuus* L.), Doctoral Thesis, Univ. of Clermont-Ferrand II, France, 2000.
44. Lu Y.H., Melero-Vara J.M., Garcia-Tejada J.A., Blanchard P. Development of SCAR markers linked to the gene *Or5* conferring resistance to broomrape (*Orobanche cumana* Wallr.) in sunflower. In: *Theor. Appl. Genet.*, 2000, vol. 100, p. 625-632.
45. Lu Y.H., Gagne G., Grezes-Besset B., Blanchard P. Integration of a molecular linkage group containing broomrape resistance gene *Or5* into an RFLP in sunflower. In: *Genome*, 1999, vol. 42, p. 453-456.
46. Tang S., Heesacker A., Kishore V.K., Fernandez A., Sadik E.S., Cole G., Knapp S. J. Genetic mapping of the *Or5* gene for resistance to *Orobanche* Race E in sunflower. In: *Crop Sci.* 2003, vol. 43, p. 1021-1028.
47. Duca M., Glijin A., Popescu V. Identificarea gradului de rezistență la lupoaie (rasa E) în cadrul unor genotipuri de

floarea-soarelui. În: Revista Științifică a Universității de Stat din Moldova, 2008, nr. 2(12), p. 5-10.

48. Gîscă I. Aspecte privind parazitul florii-soarelui *Orobancha cumana* Wallr. cu referire specială la rezistența genetică. In: Autoref. tezei de doctor în șt. agr. Chișinău, 2018, 26 p.

49. Duriez P., Vautrin S., Auriac M.C., Bazerque J., Boniface M.C., Callot C., Carrère S., Cauet S., Chabaud M., Gentou F. A receptor-like kinase enhances sunflower resistance to *Orobancha cumana*. In: Nat. Plants, 2019, vol. 5, p. 1211-1215.

50. Schadt E.E., Monks S.A., Drake T.A., Lusi A.J., Che N., Colinayo V., Ruff T.G., Milligan S.B., Lamb J.R., Cavet G., Linsley P.S., Mao M., Stoughton R.B., Friend S.H. Genetics of gene expression surveyed in maize, mouse and man. In: Nature, 2003, vol. 422, p. 297-302.

51. Letousey P., De Zélicourt A., Vieira Dos Santos C., Thoiron S., Monteau F., Simier P., Thalouarn P., Delavault P. Molecular analysis of resistance mechanisms to *Orobancha cumana* in sunflower. In: Plant Pathol. 2007, vol. 56, p. 536-546.

52. Antonova T.S., ter Borg S.J. The role of peroxidase in the resistance of sunflower against *Orobancha cumana* in Russia. In: Weed Research, 1996, vol. 36, p. 113-121.

53. Duca M., Levițchi A., Popescu V., Popa E. Aspecte genetico-moleculare ale rezistenței florii-soarelui la *Orobancha cumana* Wallr. In: Buletinul Academiei de Științe a Moldovei. Științele Vieții, 2009, nr. 2 (308), p. 49-57.

54. Rotarencu V. Aspecte morfo-fiziologice și genetice de interacțiune gazdă-parazit (*Helianthus annuus* L. - *Orobancha cumana* Wallr.). Autoref. tezei de doctor în șt. biol. Chișinău, 2010, 26 p.

55. Timko M. P., Huang K., Lis K. E. Host Resistance and Parasite Virulence in Striga-Host Plant Interactions: A Shifting Balance of Power. In: Weed Science, 2012, 60(2), p. 307-315.

56. Khablak S., Abdullaeva Ya. Zarazikha podsolnechnikovaya (*Orobancha cumana*) v nachale XXI veka. Morfologiya, razvitie, mery kontrolya i novye strategii zashchity ot parazita, 2019, 90 s.

57. Zélicourt A. et al. Ha-DEF1 a sunflower defensin induces cell death in *Orobancha* parasitic plants. In: Planta. 2007, vol. 226, p. 591-600.

58. Sestacova T., Gisca I., Cucereavii A., Port A., Duca M. Expression of defence-related genes in sunflower infected with broomrape. In: Biotechnol. Equip., 2016, vol. 30, p. 685-691.

59. Tabără O., Nechifor V., Port A. Expresia genelor *Gsl1-4* în rădăcinile de floarea-soarelui infectată cu lupoaie. In: Buletinul Academiei de Științe a Moldovei. Științele Vieții, 2017, 2(332), p. 85-93.

60. Tabără O. Estimarea modificărilor fiziologice și moleculare ale răspunsului defensiv în sistemul gazdă parazit (*Helianthus annuus* L. – *Orobancha cumana* Wallr.). Autoref. tezei de dr. în șt. biol. Chișinău, 2020. 37 p.



Dumitru Bolboceanu. *Floarea-soarelui*, 2012, u. p., 85 × 70 cm.