

DOI: <https://doi.org/10.52673/18570461.25.4-79.02>  
CZU: 633.854.78:582.952.6:631.528.1



# EXPRESIA GENELOR *CATA1-CATA4* LA DIFERIȚI HIBRIZI DE FLOAREA-SOARELUI ÎN FAZA DE PRE-ATAȘARE A INTERACȚIUNII CU *OROBANCHE CUMANA*

Doctor în științe biologice **Angela PORT**

E-mail: [angela.port@usm.md](mailto:angela.port@usm.md)

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-3994-8918>

Academician **Maria DUCA**

E-mail: [maria.duca@usm.md](mailto:maria.duca@usm.md)

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-5855-5194>

Doctor în științe biologice **Steliana CLAPCO**

E-mail: [steliana.clapco@usm.md](mailto:steliana.clapco@usm.md)

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-7147-2740>

Doctor în științe biologice **Ana MUTU**

E-mail: [ana.mutu@usm.md](mailto:ana.mutu@usm.md)

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-8603-142X>

Universitatea de Stat din Moldova

## GENES *CATA1-CATA4* EXPRESSION IN DIFFERENT SUNFLOWER HYBRIDS AT THE PRE-ATTACHMENT PHASE OF INTERACTION WITH *OROBANCHE CUMANA*

**Summary.** The transcriptional response of genes encoding isoforms of catalase (*CATA1-CATA4*) was investigated in the roots of two F<sub>1</sub> sunflower hybrids with genetic resistance to *Orobanche cumana* (Favorit and P64LE20) and a susceptible hybrid (Performer), exposed to biotic stress during the pre-attachment phase of the host-parasite interaction. A comparative analysis of gene expression (qPCR), conducted both under optimal cultivation conditions and in the presence of biotic stress induced by germinated parasite seeds, at different time intervals (2, 6, 12, 24 hours post-inoculation), revealed distinct expression profiles. In the case of the F<sub>1</sub> hybrid Favorit, an early and dynamic response was observed, characterized by successive activations and inhibitions of catalase gene expression, indicative of an effective adaptive strategy for antioxidant defense. The second resistant hybrid, P64LE20, exhibited a more delayed response, but it was more moderate and synchronized compared to Favorit, suggesting the presence of genetic variations in the mechanisms regulating resistance to *O. cumana*. In the case of the susceptible hybrid Performer, a biphasic response was observed, characterized by an excessively strong activation of gene expression in the first hours, followed by strong repression at 24 hours after co-cultivation with the pathogen, indicating an imbalance in antioxidant mechanisms and a reduced defensive capacity.

**Keywords:** catalase, sunflower, host-parasite interaction, broomrape, qPCR, oxidative stress.

**Rezumat.** A fost investigat răspunsul transcripțional al genelor care codifică izoforme ale catalazei (*CATA1-CATA4*) în rădăcinile a doi hibridi F<sub>1</sub> de floarea-soarelui cu rezistență genetică la *Orobanche cumana* (Favorit și P64LE20) și al unui hibrid susceptibil (Performer), expuși stresului biotic în faza de pre-atașare a interacțiunii gazdă-parazit. Analiza comparativă a expresiei genice (qPCR), realizată atât în condiții optime de cultivare, cât și în prezența stresului biotic indus de semințele germinate ale parazitului la diferite intervale de timp (2, 6, 12, 24 ore post-inoculare), a evidențiat profile de expresie distincte. În cazul hibridului F<sub>1</sub> Favorit a fost observat un răspuns timpuriu și dinamic, caracterizat prin activări și inhibări succesive ale expresiei genelor catalazice, indicativ pentru o strategie adaptativă eficientă de apărare antioxidantă. Al doilea hibrid rezistent, P64LE20, a prezentat un răspuns mai întârziat, însă mai moderat și sincronizat comparativ cu F<sub>1</sub> Favorit, ceea ce sugerează existența unor variații genetice în mecanismele de reglare a rezistenței la *O. cumana*. În cazul hibridului susceptibil Performer, s-a observat un răspuns bifazic, caracterizat printr-o activare excesivă a expresiei genelor în primele ore, urmată de o represie accentuată la 24 de ore de la co-cultivare cu patogenul, indicând un dezechilibru în mecanismele antioxidante și o capacitate defensivă redusă.

**Cuvinte-cheie:** catalază, floarea-soarelui, interacțiune gazdă-parazit, lupoaie, qPCR, stres oxidativ.

## INTRODUCERE

Ciclul de viață al plantelor parazite, inclusiv al celor din genul *Orobanche*, cuprinde etapele de pre-atașare și post-atașare la planta gazdă [1; 2; 3]. Succesul stabilirii interacțiunii de compatibilitate plantă-parazit depinde în mare măsură de eficiența mecanismelor de recunoaștere și comunicare biochimică care au loc în faza de pre-atașare. Astfel, potențialul de invazie al patogenului este determinat de capacitatea acestuia de a detecta și interpreta semnalele emise de rădăcina gazdei [4; 5].

Plantele, care au dezvoltat anumite mecanisme de răspuns la evenimentele de semnalizare specifice fazei de pre-atașare, pot perturba dezvoltarea patogenului și, în cele din urmă, invadea gazda [6]. În pofida relevanței evidente a acestei etape timpurii în formarea patosistemului, mecanismele moleculare și biochimice implicate în dezvoltarea rezistenței de pre-atașare sunt insuficient cunoscute.

Unul dintre cele mai bine documentate răspunsuri ale plantelor la stresul biotic este acumularea speciilor reactive ale oxigenului (SRO), care acționează atât ca molecule semnal [7], cât și ca agenți ce provoacă deteriorări celulare [6; 8]. Acest dezechilibru redox generează stres oxidativ, iar plantele dispun de o rețea complexă de enzime antioxidante pentru a-și menține homeostazia celulară. Catalazele ( $H_2O_2 : H_2O_2$  oxidoreductaze; EC 1.11.1.6) au un rol esențial în detoxifierea peroxidului de hidrogen ( $H_2O_2$ ), una dintre cele mai stabile și potențial toxice forme de SRO [9].

Deși activitatea enzimelor antioxidante, inclusiv a catalazelor, este studiată în etapele avansate de dezvoltare a patosistemului (formarea haustoriilor, penetrarea țesuturilor gazdei) [6], cercetările privind expresia și reglarea izoformelor de catalază în faza pre-atașare sunt limitate. Aceste investigații sunt cu atât mai relevante, cu cât rădăcinile reprezintă situsul de contact inițial între gazdă și parazit, iar răspunsurile moleculare la nivelul acestui organ pot influența decisiv nivelul de compatibilitate sau de rezistență al plantei gazdă. Astfel, deja în etapa de pre-atașare, pot exista diferențe semnificative între sistemele gazdă-parazit compatibile (genotipuri susceptibile) și incompatibile (genotipuri rezistente).

Floarea-soarelui (*Helianthus annuus* L.), fiind o cultură agricolă de importanță economică majoră la nivel global, este intens studiată în contextul rezistenței la *Orobanche cumana* Wallr., un parazit radicular cu impact semnificativ asupra recoltei [10-12]. Asemenea altor specii cultivate, majoritatea cercetărilor s-au concentrat asupra proceselor fiziologice și moleculare din faza post-atașare a parazitului, incluzând reacțiile de apărare la nivelul cortexului radicular [13;

14], semnalizarea hormonală [15] și alte mecanisme de răspuns sistemic ale plantei-gazdă [16-18]. Cunoașterea răspunsurilor timpurii ale gazdei la interacțiunea cu rizoparazitul în faza de pre-atașare este limitată, fiind raportate doar câteva contribuții, inclusiv investigațiile lui P. Letousey și colab. [19] și un studiu recent efectuat de Q. Huang și colab. [20], care au analizat diferențele de transcriptom radicular între genotipuri rezistente și susceptibile de floarea-soarelui la atacul cu *O. cumana*.

La floarea-soarelui au fost identificate opt izoforme de catalază, denumite CAT1 – CAT8, care diferă prin structura lor. Izoformele CAT1 – CAT5 sunt compuse din patru subunități proteice de 55 kDa și 59 kDa, în proporții diferite, în timp ce CAT6 – CAT8 conțin exclusiv subunități de 55 kDa. Aceste proteine sunt codificate de cel puțin patru gene: *CATA1* – *CATA4* [21]. Se consideră că genele *CATA1* și *CATA2* codifică proteinele de 55 kDa, iar *CATA3* și *CATA4* pe cele de 59 kDa [22]. Diversitatea izoformelor de catalază reflectă rolurile multiple ale acestei enzime, însă implicațiile fiziologice ale fiecărei forme rămân, în mare parte, neelucidate.

În acest context, scopul cercetării este realizarea unei analize comparative a modificărilor în profilul de expresie al genelor *CATA1*–*CATA4* în rădăcinile a doi hibrizi de floarea-soarelui, cu rezistență genetică față de *Orobanche cumana*, și a unui sensibil, în faza de pre-atașare a interacțiunii gazdă-parazit. Această abordare vizează identificarea diferențelor în răspunsul transcriptomic al genelor diferitor izoforme catalazice la stresul biotic, în vederea aprofundării înțelegerii mecanismelor timpurii implicate în interacțiunile de compatibilitate/incompatibilitate, caracteristice fazei de pre-atașare.

## MATERIALE ȘI METODE

**Materialul vegetal și condiții de cultivare.** Investigațiile au fost realizate pe țesut radicular prelevat de la plantule de floarea-soarelui (*Helianthus annuus* L.), aparținând a trei hibrizi  $F_1$ , dintre care Favorit și P64LE20 posedă gene de rezistență la atacul cu *Orobanche cumana*, iar Performer nu are gene de rezistență. Semințele au fost oferite de Institutul Național de Cercetare-Dezvoltare Agricolă Fundulea, România. Germinarea semințelor de floarea-soarelui și creșterea ulterioară până la faza de două frunzulițe adevărate au fost realizate în cutii Petri, pe substrat de perlit. Pentru obținerea variantelor cu stres biotic indus, în mediul de creștere al plantelor au fost introduse semințe de *O. cumana*, germinate preliminar pe exudatul unui genotip sensibil. Semințele de rizoparazit au fost co-

lectate de pe un câmp de floarea-soarelui infestat din municipiul Chișinău.

Probele de țesut radicular au fost prelevate de la plantule de floarea-soarelui în două condiții experimentale: *condiții cu potențial infecțios*, generate de prezența semințelor germinate de *O. cumana* în mediul de creștere, și *condiții optime de creștere*, în absența patogenului. Analiza răspunsului transcriptomic al plantei gazdă în faza de pre-atașare a patogenului a fost realizată la patru intervale de timp post-inoculare: 2, 6, 12 și 24 ore.

**Izolarea ARN-ului total și sinteza ADNc.** Din probele de țesut radicular (congelate în azot lichid și depozitate la  $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ ) a fost extras ARN-ul total utilizând reactivul TRI-zol, conform protocolului standard (Applied Biosystems). Calitatea și cantitatea acizilor nucleici au fost evaluate prin spectrofotometrie (la 260 și 280 nm) și prin electroforeză pe gel de agaroză 1%. Sinteza ADNc a fost realizată utilizând reactivul RevertAid RT, în prezența primerilor Oligo(dT)18 și a hexamerilor aleatori, conform instrucțiunilor producătorului (Fermentas).

**Analiza expresiei genice prin Real-Time PCR.** Nivelul de expresie relativă a genelor care codifică catalaze (*CATA1–CATA4*) a fost determinat prin reacții de PCR în timp real, utilizând sistemul QuantStudio<sup>®</sup> 5 (Applied Biosystems), cu următorul program de amplificare:  $95\text{ }^{\circ}\text{C} - 10\text{ min}$ ; 5 cicluri la  $95\text{ }^{\circ}\text{C} - 15\text{ s}$  și  $64\text{ }^{\circ}\text{C} - 20\text{ s}$ ; urmate de 40 de cicluri la  $95\text{ }^{\circ}\text{C} - 15\text{ s}$  și  $60\text{ }^{\circ}\text{C} - 40\text{ s}$ . Mediul de reacție a inclus reactivul Maxima SYBR Green/ROX PCR (Fermentas), primeri specifici ( $0,4\text{ }\mu\text{M}$ ) și  $2\text{ }\mu\text{l}$  de ADNc.

Secvențele nucleotidice cunoscute la *Helianthus annuus*, corespunzătoare genelor *CATA1* (L28740.1), *CATA2* (AF243517.1), *CATA3* (AF243518.1) și *CATA4* (AF243519.1), disponibile în baza de date NCBI, au fost utilizate pentru proiectarea primerilor specifici. Primerii utilizați au fost următorii:

- *CATA1*, F/R: aactcaagcagccaggaga/agcctgggac-cagtatgaaa;
- *CATA2*, F/R: ga aagcgcaataagtggtga/tctgcg-gataaatcgttcttg;
- *CATA3*, F/R: cccaaaatacaacgattcaag/caacatctta-cacattcgaca;
- *CATA4*, F/R: ccgaatgtgaagatgtgtcc/tgagacgtgat-gctatctctg.

Expresia genelor de interes față de actină (AF282624.1) s-a determinat conform metodei  $2^{-\Delta\Delta\text{CT}}$  [23]. Experiențele au fost efectuate în trei repetiții independente, provenite de la plante diferite. Diferențele de expresie (exprimată ca variație *fold change*, FC) au fost considerate biologic relevante pentru valori  $\text{FC} \geq 1,5$  și statistic semnificative la  $p \leq 0,05$ , conform ana-

liziei ANOVA și testului Bonferroni, utilizând XLSTAT versiunea 2016.02.28451. Graficele au fost realizate în Microsoft Excel. Datele din figuri reprezintă valorile medii  $\pm$  abaterea standard.

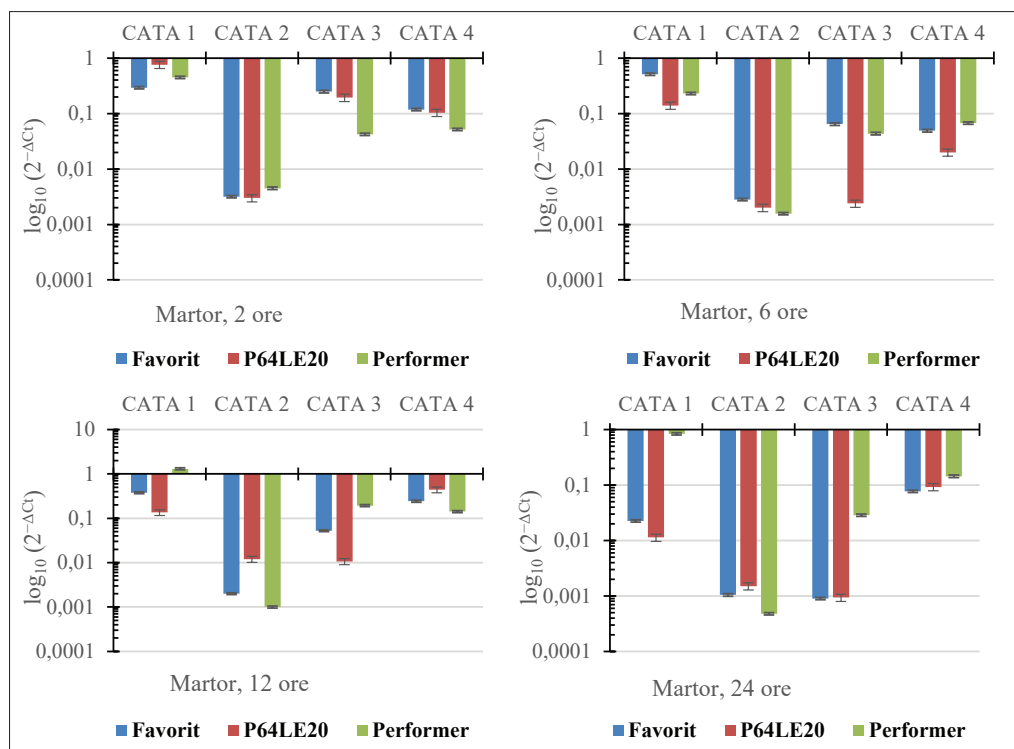
## REZULTATE ȘI DISCUȚII

Analiza fenotipică a plantulelor de floarea-soarelui co-cultivate timp de 24 de ore cu semințe germinate de *Orobancha cumana* nu a evidențiat conexiuni vizibile de atașare a parazitului la rădăcinile gazdei, indiferent de genotipul investigat (rezistent sau susceptibil). Totuși, între sistemul radicular al gazdei și radica parazitului au loc interacțiuni precoce de comunicare intercelulară, astfel încât, chiar și în etapa de pre-atașare, se declanșează răspunsuri moleculare, care pot fi diferite, în funcție de potențialul genetic de rezistență al gazdei față de *O. cumana*.

Astfel, pentru a elucidă răspunsurile transcriptomice timpurii la nivelul a patru izoforme catalazice (*CATA1–CATA4*), au fost analizate comparativ valorile cantitative ale transcripturilor (ARNm/cADN) din rădăcinile plantulelor de floarea-soarelui, în funcție de genotip și intervalul post-inoculare (2 ore, 6 ore, 12 ore, 24 de ore), atât în condiții optime de creștere (absența patogenului), cât și în condiții cu potențial infecțios determinat de prezența semințelor germinate de *Orobancha cumana*.

**Expresia genelor catalazice în rădăcinile plantulelor de floarea-soarelui în condiții optime de creștere.** Analiza expresiei genelor *CATA1–CATA4* în rădăcinile plantulelor de floarea-soarelui, crescute în condiții normale, a evidențiat atât particularități comune în variația valorilor cantitative ale transcripturilor, cât și specifice, în funcție de genotip și de momentul recoltării probelor, corespunzător etapelor experimentale (2 ore, 6 ore, 12 ore și 24 de ore de la inițierea co-cultivării).

Astfel, *CATA2* este gena cu niveluri de expresie foarte mici pe întreaga perioadă analizată la toate cele trei genotipuri (Figura 1). Valorile transcripturilor s-au menținut în intervale de variație restrânse (Favorit: 0,0010 – 0,0032; P64LE20: 0,0015 – 0,012; Performer: 0,0005 – 0,0045). În schimb, în cazul *CATA1* a fost constatată cea mai intensă activitate transcripțională la toți hibridii studiați, cu variații semnificative în funcție de momentul temporal analizat și de genotipul plantei. De exemplu, genotipul sensibil (Performer) s-a evidențiat prin cel mai înalt nivel de expresie (0,229 – 1,302) comparativ cu celelalte genotipuri analizate: valoarea minimă la Performer (0,229) a fost de aproximativ de 21 de ori mai mare decât la P64LE20 (0,011) și de 10 ori mai mare decât la Favorit (0,022); valoarea maximă (1,302) a fost de circa 1,7 ori mai mare decât



**Figura 1.** Nivelul de expresie al genelor *CATA1*–*CATA4* în rădăcinile plantulelor de floarea-soarelui (hibridii Favorit, P64LE20 și Performer), în condiții optime de creștere (absența patogenului), analizat la diferite intervale de timp  
 Notă: Intervalele de timp indicate corespund duratei post-inoculare în mediul de creștere al plantulelor de floarea-soarelui cu semințe germinate de *O. cumana* la intervale de 2, 6, 12 și 24 de ore.

la P64LE20 (0,759) și de 2,5 ori mai mare decât la Favorit (0,511).

Spre deosebire de genele *CATA1* și *CATA2*, *CATA3*, care codifică o altă izoformă a catalazelor, a prezentat niveluri moderate de expresie. Hibridii rezistenți Favorit și P64LE20 au înregistrat valori relativ similare, cu maxime de 0,2-0,25 și minime sub 0,001. Pentru genotipul sensibil Performer, nivelul de expresie a fost mai constant, cu valori maxime și minime încadrate într-un interval relativ restrâns (0,03-0,19), iar variațiile cantitative în funcție de momentul temporal analizat au fost mai puțin pronunțate.

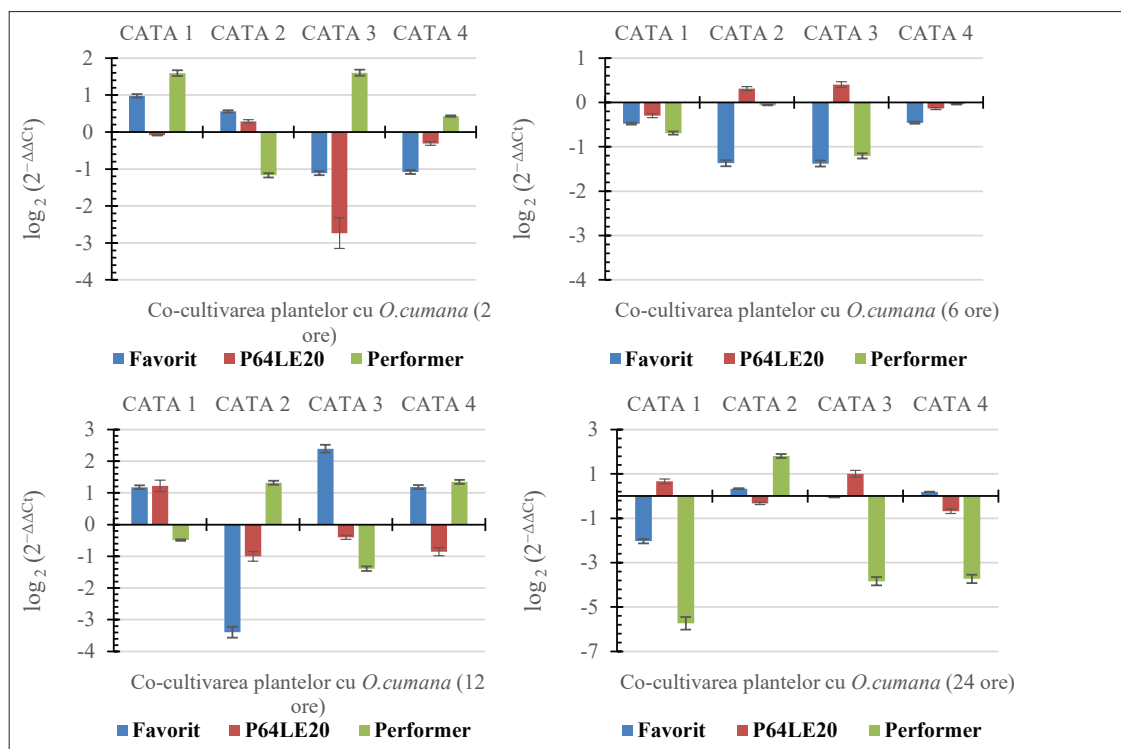
În urma analizei expresiei genei *CATA4*, la genotipurile rezistente a fost relevat un nivel intermediar al conținutului de transcripti, mai ridicat decât cel al genelor *CATA2* și *CATA3*. Intervalele de variație ale valorilor de expresie au fost de 0,02-0,442 la P64LE20 și de 0,049-0,243 la Favorit. La plantele hibridului sensibil, nivelul expresiei genei *CATA4* (0,052-0,144) a fost comparabil cu cel observat pentru *CATA3*, sugerând un profil de transcripti similar pentru cele două izoforme.

În concluzie, profilul de expresie al genelor catalazice în rădăcinile plantulelor de floarea-soarelui, cultivate în condiții optime de creștere, evidențiază o activitate transcripțională diferențiată în funcție de

genotip și de intervalul de timp analizat. Cu toate acestea, se conturează un profil cantitativ general al nivelului de expresie a genelor codificatoare ale catalazei (*CATA1* - *CATA4*), comun pentru toate cele trei genotipuri analizate: *CATA1* > *CATA3/4* > *CATA2*. Rezultatele obținute sugerează o implicare predominantă a produsului genic *CATA1* în procesele metabolice din rădăcini, chiar și în absența unui stres biotic, iar variațiile între genotipuri pot reflecta diferențe genetice în reglarea sistemului enzimatic antioxidant.

**Expresia genelor catalazice în rădăcinile plantulelor de floarea-soarelui cultivate în prezența semințelor germinate de *O. cumana*.** Pentru a caracteriza răspunsul transcripțional timpuriu al plantulelor de floarea-soarelui la interacțiunea cu rizoparazitul *O. cumana*, au fost analizate variațiile în expresia genelor *CATA1*–*CATA4* în rădăcinile celor trei genotipuri de floarea-soarelui (Favorit, P64LE20 și Performer), prin compararea datelor obținute în condiții de co-cultivare la intervale de 2, 6, 12 și 24 de ore *versus* control (Figura 2).

Interpretarea datelor de expresie genică exprimate ca  $\log_2$  (FC stres biotic *vs.* control) a evidențiat un răspuns diferențiat, caracterizat de tranziții temporale în nivelul de transcripti la toate genotipurile analizate. În cazul hibridului Favorit, un răspuns timpuriu, cu ca-



**Figura 2.** Analiza comparativă a expresiei genelor *CATA1*–*CATA4* în rădăcinile hibrizilor de floarea-soarelui rezistenți (Favorit, P64LE20) și susceptibil (Performer), în funcție de durata co-cultivării cu semințe germinate de *Orobancha cumana* (condiții de prezență a patogenului vs. control).

racter oscilant, a fost observat deja după 2 ore de cultivare în prezența semințelor geminate de *O. cumana*, când trei dintre cele patru gene analizate au prezentat modificări semnificative ale expresiei. Astfel, *CATA1* a fost supraexprimată (nivelul transcripților a crescut de aproximativ 2 ori față de martor), în timp ce *CATA3* și *CATA4* au prezentat subexpresie, cu o reducere comparabilă ( $\approx 2$  ori) a nivelului transcripților.

După 6 ore, s-a constatat o scădere de aproximativ 2 ori în nivelul de expresie al genei *CATA2*, iar deja la 12 ore de la debutul co-cultivării, conținutul de *CATA2-ARNm* era diminuat de până la 10 ori ( $\log_2(\text{FC}) = -3,4$ ) comparativ cu martorul.

După 12 ore, modificările de expresie la toate cele patru gene au devenit și mai pronunțate (FC între 2 și 10). Mai mult, în cazul genelor *CATA3* și *CATA4* s-a observat o schimbare de tendință: de la subexpresie la supraexpresie, sugerând o reglare dinamică și posibilă compensatorie a răspunsului molecular la stresul biotic.

După 24 de ore de co-cultivare cu planta parazit, intensitatea răspunsului transcripțional al catalazelor din rădăcinile plantelor hibride Favorit s-a diminuat semnificativ. Nu s-au mai înregistrat diferențe de expresie față de martor pentru majoritatea genelor analizate, cu excepția genei *CATA4*, la care răspunsul molecular a fost diferit față de cel observat în primele 12 ore – fiind acum subexpresată, cu un nivel al transcripților

de aproximativ 4 ori mai redus comparativ cu cel din plantulele aflate în condiții normale, neafectate de factorul biotic.

Generalizând, rezultatele obținute în cazul hibrizilor rezistenți Favorit evidențiază modificări timpurii, cu o dinamică fluctuantă a expresiei genelor codificatoare de catalaze, sugestive pentru activarea mecanismelor antioxidante endogene ca urmare a percepției și recunoașterii parazitului. Acest tip de răspuns poate reflecta o capacitate adaptativă ridicată și o strategie eficientă de apărare oxidativă, caracteristică genotipurilor rezistente.

Spre deosebire de hibridul  $F_1$  Favorit, al doilea hibrid rezistent – P64LE20 – a prezentat un răspuns transcripțional mai moderat, caracterizat prin variații cantitative mai puțin pronunțate ale nivelului de expresie genică. Astfel, la 2 ore de co-cultivare cu *Orobancha cumana*, doar valorile pentru *ARNm* corespunzătorii genei *CATA3* au scăzut semnificativ (de aproximativ 7 ori față de martor), sugerând un răspuns rapid de tip represiv la semnalele emise de planta parazit. Este de remarcat faptul că, odată cu prelungirea duratei de co-cultivare, nivelul acestor transcripți se restabilește treptat. După 24 de ore de la inițierea interacțiunii gazdă-parazit, se observă o acumulare semnificativă a transcripților, nivelul acestora fiind de aproximativ 2 ori mai mare comparativ cu martorul (FC = 2; echivalent cu  $\log_2(\text{FC}) = 1$ ).

În ceea ce privește genele *CATA1*, *CATA2* și *CATA4*, modificări semnificative ale nivelului de transcripti au fost observate abia după 12 ore de co-cultivare cu patogenul. Aceste variații în conținutul *ARNm* indică o supraexpresie a genei *CATA1* și o subexpresie a genelor *CATA2* și *CATA4*, toate cu o magnitudine comparabilă ( $FC \approx 1,8-2$ ). După 24 de ore, se evidențiază o tendință de revenire a nivelurilor de expresie către valorile martorului, diferențele diminuându-se treptat. Totuși, pentru două dintre cele trei gene (*CATA1* și *CATA4*), persistă discrepanțe moderate față de control, menținându-se același tip de răspuns: supraexpresie în cazul genei *CATA1* și subexpresie pentru *CATA4*, ambele de intensitate redusă ( $FC \approx 1,6$ ).

În concluzie, variațiile cantitative mai reduse, dar diferențiate, ale transcriptiilor catalazice, predominante după 12 ore de co-cultivare cu *O. cumana*, precum și tendințele rapide de restabilire a nivelurilor de expresie, sugerează un răspuns antioxidant distinct în cazul P64LE20, asociat, probabil, cu evenimente de semnalizare diferite față de cele implicate în răspunsul  $F_1$  Favorit, deși ambii hibridi manifestă rezistență genetică la *Orobanche cumana*.

În cazul hibridului susceptibil Performer s-a observat un răspuns transcripțional timpuriu la 2 ore post-inoculare, caracterizat prin creșterea semnificativă a conținutului *ARNm-CATA1* și *ARNm-CATA3*, ale căror nivele depășesc valoarea martorului de aproximativ 3 ori (echivalentul  $\log_2 FC \approx 1,6$ ). În contrast, conținutul de *ARNm-CATA2* s-a redus de 2 ori.

Este important de menționat că acest model antagonist de variație a expresiei genelor *CATA1*, asociată cu *CATA3*, în raport cu *CATA2* se menține pe întreaga durată experimentală de 24 de ore. Astfel, la 6 ore de la debutul co-cultivării, expresia *CATA1* și *CATA3* scade semnificativ, atingând valori de 1,6-2 ori sub nivelul martorului. Această tendință descendentă este mai accentuată peste 24 de ore, când expresia *CATA1* și *CATA3* a fost inhibată sever (micșorarea valorilor cantitative de până la 53 de ori, respectiv 14 ori față de control). În contrast, conținutul transcriptiilor *CATA2* revine la un nivel similar cu martorul după 6 ore, urmat de o creștere progresivă, atingând o valoare de aproximativ 3,5 ori mai mare la 24 de ore.

În cazul genei *CATA4*, răspunsul este tardiv, devenind evident după 12 ore de co-cultivare, sub forma unui efect de supraexpresie ( $FC \approx 2,5$ ), corelat pozitiv cu nivelul crescut al transcriptiilor *CATA2*. Ulterior, la 24 de ore, transcriptiia *CATA4* scade semnificativ, de aproximativ 14 ori, asociindu-se pozitiv cu efectele de subexpresie observate pentru *CATA1* și *CATA3*.

Astfel, modificările în profilul de expresie a genelor care codifică izoformele catalazice la hibridul sus-

ceptibil sunt evident distincte de cele observate la hibridii rezistenți, fiind caracterizate printr-un răspuns intens de activare timpurie urmat de o represie transcripțională majoră la nivelul a trei dintre cele patru gene analizate. Aceste rezultate pot reflecta atât o dereglare a răspunsului antioxidant, indicativă pentru vulnerabilitatea sistemică a genotipului Performer în fața stresului biotic indus de *O. cumana*, cât și un posibil răspuns defensiv ca parte a unui mecanism de apărare menit să limiteze pătrunderea și ulterior extinderea parazitului în celulele gazdă compatibile.

Plantele gazdă, inclusiv floarea-soarelui, dezvoltă procese complexe de apărare împotriva plantelor parazite, manifestate fie prin rezistență, prevenind sau limitând atașarea și creșterea patogenului, fie prin toleranță, astfel încât planta menține indicii de recoltă chiar și în prezența infestării. Declanșarea răspunsurilor defensive poate avea loc înainte sau după ce plantele parazite se atașează la gazde. Rezistența de pre-atașare, spre deosebire de cea manifestată post-atașament, care este bine documentată pentru patosistemul *Orobanche cumana* Wallr. – *Helianthus annuus* L. [13; 14; 24], nu prezintă interacțiunea genă-pentru-genă descrisă de H.H. Flor [25]. Unul dintre aspectele rezistenței de pre-atașare se referă la controlul germinării semințelor de parazit. Se cunoaște că strigolactonele din exudatul radicular al gazdei induc germinarea plantelor parazite [5]. Astfel, prin silențierea unor gene implicate în calea de biosinteză a strigolactonelor, cum ar fi gena *ccd8* la mazăre [26] sau gena *LGS1* la sorg [27], s-a reușit reducerea capacității gazdei de a induce germinarea semințelor de *Orobanche*. Rezultatele obținute au fost explicate prin modificarea compoziției exudatului radicular al gazdei, care fie a avut un nivel foarte redus de strigolactone, fie a predominat un alt compus, astfel încât acestea să nu fie recunoscute ca semnale de *Orobanche*, iar planta să fie mai puțin susceptibilă la atacul parazitului.

Un alt aspect al mecanismelor de apărare a fost observat la unele gazde care secretă compuși toxici pentru a inhiba germinarea semințelor sau dezvoltarea haustoriilor [28]. De exemplu, procentul semințelor de *Orobanche cernua* care au germinat în prezența plantelor de floarea-soarelui rezistente a fost cu 50% mai mic decât în prezența plantelor sensibile. Mai mult, semințele de *O. cernua* germinate lângă floarea-soarelui rezistentă au prezentat simptome de brunificare și creștere întârziată sau au pierit. Efectele observate au fost corelate cu prezența unor compuși toxici produși de floarea-soarelui, în special 7-hidroxicumarine. Acești metaboliți secundari creează un mediu toxic în zona rizosferei, inhibând dezvoltarea și supraviețuirea parazitului [28].

Inhibarea inițierii dezvoltării haustorului parazitului este un alt răspuns ale rezistenței de pre-atașare, relevant la unele varietăți de sorg (*Sorghum bicolor*) în interacțiune cu *Striga asiatica*. Deși mecanismele detaliate nu sunt cunoscute, s-a observat că utilizarea unor inhibitori sintetici care afectează formarea speciilor reactive de oxigen, semnalizarea prin etilenă, transportul și activitatea auxinei sau semnalizarea dependentă de calciu ( $\text{Ca}^{2+}$ ), conduce la o reducere semnificativă a numărului de haustori formați [29].

În prezent nu există dovezi dacă la plantele gazdă se activează de asemenea astfel de răspunsuri biochimice cu efecte similare de inhibare, ca parte a mecanismului de rezistență la etapa de pre-atașare în patosisteme compatibile sau incompatibile.

Într-un studiu *in vitro* realizat pe *Arabidopsis thaliana* expusă la *Orobanche ramosa*, s-a demonstrat că planta poate recunoaște parazitul chiar și în absența unei atașări fizice, declanșând răspunsuri de apărare timpurii [30].

Expunerea plantei gazdă la *O. ramosa* a declanșat stresul oxidativ, evidențiat prin acumulare de SRO, în special  $\text{H}_2\text{O}_2$ , și prin sinteza fitoalexinelor (metaboliți secundari), indicând activarea timpurie a răspunsurilor de apărare. Acumularea  $\text{H}_2\text{O}_2$  în mediul de cultură al celulelor de *A. thaliana* co-cultivate cu semințele de *O. ramosa* a avut loc în primele 24 de ore de interacțiune, după care nivelul SRO a scăzut – evenimente caracteristice unui stres oxidativ acut. În varianta martor, în lipsa semințelor parazitului, nu s-au constatat acumulări semnificative de  $\text{H}_2\text{O}_2$ . Semințele negerminate au indus, de asemenea, o creștere a producției de  $\text{H}_2\text{O}_2$ , dar într-o măsură mult mai redusă. În plus, prezența în mediu a semințelor germinate de *O. ramosa* timp de 48 de ore a determinat apariția unor procese caracteristice de apoptoză celulară, precum sunt vacuolizarea și condensarea citoplasmei celulelor de *A. thaliana*. Autorii au constatat prezența în mediul de cultură a unor compuși difuzibili produși de patogen, posibil de natură proteică, cu rol de semnal, ce se acumulau odată cu prelungirea perioadei de co-cultivare [30].

În cercetările moleculare privind răspunsurile timpurii în patosistemul *Orobanche cumana* Wallr. – *Helianthus annuus* L., raportate de Letousey și colab. [19], a fost constatată expresia diferențiată a unor gene implicate în răspunsul de apărare la două genotipuri (rezistent și sensibil) după 2 și 8 ore de expunere a rădăcinilor la parazit. De exemplu, genele implicate în calea fenilpropanoidă (*pal*, *c4h*, *chs*) au fost rapid și puternic activate la genotipul rezistent și, într-o măsură mai redusă și tranzitorie, la cel sensibil. În ceea ce privește răspunsul la stresul oxidativ, a fost analizată expresia genei *sco*, care codifică o carbohidrat-oxidază

implicată în procese de oxidare cu formarea de  $\text{H}_2\text{O}_2$  ca produs secundar al reacției. Supraexpresia tranzitorie a acestei gene, observată la 2 ore după co-cultivare în rădăcinile ambelor genotipuri, i-a determinat pe autori să sugereze că planta declanșează un răspuns timpuriu de stres oxidativ în interacțiunea cu *Orobanche cumana*.

Producerea rapidă și localizată de  $\text{H}_2\text{O}_2$  reprezintă unul dintre răspunsurile timpurii esențiale ale plantelor în fața atacului patogenilor, având multiple implicații fiziologice, cum ar fi activarea căilor de semnalizare celulară și limitarea dezvoltării parazitului în zona de infecție. Totodată,  $\text{H}_2\text{O}_2$  este una dintre cele mai abundente și reactive specii de oxigen reactiv, care poate provoca daune oxidative asupra proteinelor, lipidelor și acizilor nucleici, afectând integritatea și funcționalitatea celulară. Astfel, reglarea conținutului de  $\text{H}_2\text{O}_2$  prin mecanisme antioxidative, în care catalazele au un rol-cheie datorită afinității lor ridicate pentru acest substrat, este esențială pentru prevenirea efectelor toxice și pentru menținerea homeostaziei redox.

În acest context, cercetările privind expresia genelor catalazei în etapa timpurie a interacțiunii dintre floarea-soarelui și *O. cumana*, prezentate în această lucrare, aduc informații relevante despre modul în care planta își reglează echilibrul redox și își activează mecanismele de apărare încă din fazele incipiente ale contactului cu parazitul.

## CONCLUZII

Profilurile de expresie a genelor care codifică patru izoforme catalazice diferențiază clar genotipurile rezistente (Favorit și P64LE20) de genotipul susceptibil (Performer) în contextul interacțiunii cu *Orobanche cumana*. În cazul hibridului Favorit, răspunsul transcripțional la nivelul genelor cu rol antioxidant a fost rapid și dinamic, indicativ pentru un sistem eficient de recunoaștere a parazitului și de inițiere a unui răspuns adaptativ. Hibridul P64LE20 a prezentat un răspuns mai tardiv, însă mai moderat și mai sincronizat, comparativ cu F<sub>1</sub> Favorit, fapt ce sugerează variații genetice în mecanismele de reglare a rezistenței la *O. cumana*.

În cazul hibridului Performer, a fost observat un răspuns bifazic, caracterizat printr-o activare excesivă a activității transcripționale a genelor codificatoare pentru izoformele de catalază în primele ore, urmată de o represi accentuată după 24 de ore de co-cultivare cu patogenul. Comportamentul respectiv contrastează cu cel al genotipurilor rezistente, care prezintă tendințe de restabilire rapidă a conținutului de transcripti la nivelul înregistrat în varianta martor. Aceste particularități ale profilului de transcripti codificați de gene ca-

talazice sugerează afectarea mecanismelor antioxidanți în reglarea stresului oxidativ indus de interacțiunea cu *O. cumana*, ceea ce ar putea constitui unul dintre factorii cauzali ai sensibilității crescute la infestare, favorizând dezvoltarea unui patosistem compatibil.

Catalazele sunt enzime esențiale în controlul homeostaziei peroxidului de hidrogen și au un rol de bază în mecanismele de apărare împotriva stresului oxidativ. Modificările transcripționale observate în această cercetare indică faptul că răspunsul antioxidant în etapele timpurii de dezvoltare a patosistemului este reglat diferențiat în funcție de genotipul plantei (potențială gazdă), iar profilul diferențiat de expresie al genelor codificatoare pentru izoformele catalazice poate constitui un indicator precoce al capacității de rezistență sau susceptibilitate la atacul parazitului.

Articol recepționat: 8 iulie 2025

Articol acceptat: 9 decembrie 2025

## BIBLIOGRAFIE

1. Fernández-Aparicio, M.; Reboud, X.; Gibot-Leclerc, S. Broomrape Weeds. Underground Mechanisms of Parasitism and Associated Strategies for their Control: A Review, în: *Frontiers in Plant Science*, 2016, vol. 7, art. 135, <https://doi.org/10.3389/fpls.2016.00135>
2. Fishman, M.R.; Shirasu, K. How to resist parasitic plants: pre- and post-attachment strategies, în: *Current Opinion in Plant Biology*, 2021, vol. 62, art. 102004, <https://doi.org/10.1016/j.cpb.2021.102004>
3. Jhu, M.Y.; Sinha, N.R. Parasitic Plants: An Overview of Mechanisms by Which Plants Perceive and Respond to Parasites, în: *Annual Review of Plant Biology*, 2022, vol. 73, 433-455, <https://doi.org/10.1146/annurev-arplant-102820-100635>
4. Goyet, V.; Wada, S.; Cui, S.; Wakatake, T.; Shirasu, K.; Montiel, G.; Simier, P.; Yoshida, S. Haustorium Inducing Factors for Parasitic Orobanchaceae, în: *Frontiers in Plant Science*, 2019, vol. 10, art. 1056, <https://doi.org/10.3389/fpls.2019.01056>
5. Brun, G.; Braem, L.; Thoiron, S.; Gevaert, K.; Goormachtig, S.; Delavault, P. Seed germination in parasitic plants: what insights can we expect from strigolactone research?, în: *Journal of Experimental Botany*, 2018, vol. 69, nr. 9, 2265-2280, <https://doi.org/10.1093/jxb/erx472>
6. Madany, M.M.Y.; Zinta, G.; Abuelsoud, W.; Hozzein, W.N.; Selim, S.; Asard, H.; Elgawad, H.A. Hormonal seed-priming improves tomato resistance against broomrape infection, în: *Journal of Plant Physiology*, 2020, vol. 250, art. 153184, <https://doi.org/10.1016/j.jplph.2020.153184>
7. Mittler, R. ROS Are Good. In: *Trends in Plant Science*, 2017, vol. 22, nr. 1, 11-19, <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2016.08.002>
8. Das, K.; Roychoudhury, A. Reactive oxygen species (ROS) and response of antioxidants as ROS-scavengers during environmental stress in plants, în: *Frontiers in Environmental Science*, 2014, vol. 2, art. 53, <https://doi.org/10.3389/fenvs.2014.00053>
9. Tuzet, A.; Rahantaniaina, M.S.; Noctor, G. Analyzing the function of catalase and the ascorbate-gluthathione pathway in H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> processing: insights from an experimentally constrained kinetic model, în: *Antioxidants & Redox Signaling*, 2019, vol. 30, 1238-1268, <https://doi.org/10.1089/ars.2018.7601>
10. Duca, Maria. Historical aspects of sunflower researches in the Republic of Moldova, în: *Helia*, 2015, vol. 38, nr. 62, 79-92, <https://doi.org/10.1515/helia-2014-0028>
11. Cochavi, A. Broomrape-host interaction: host morphology and physiology as metrics for infestation, în: *Planta*, 2024, vol. 261, nr. 1, art. 4, <https://doi.org/10.1007/s00425-024-04581-1>
12. Parker, C. Parasitic Weeds: A World Challenge, în: *Weed Science*, 2012, vol. 60, nr. 2, 269-276, <https://doi.org/10.1614/WS-D-11-00068.1>
13. Krupp, A.; Heller, A.; Spring, O. Development of phloem connection between the parasitic plant *Orobanche cumana* and its host sunflower, în: *Protoplasma*, 2019, vol. 256, 1385-1397, <https://doi.org/10.1007/s00709-019-01393-z>
14. Duca, Maria; Tabără, Olesia; Nechifor, Victoria; Port, Angela. Lignificarea pereților celulari la *Helianthus annuus* L. ca răspuns la atacul *Orobanche cumana* Wallr., în: *Buletinul Academiei de Științe a Moldovei. Științele vieții*, 2017, nr. 3(333), 84-96.
15. Mutuku, J.M.; Cui, S.; Yoshida, S.; Shirasu, K. Orobanchaceae parasite-host interactions, în: *New Phytologist*, 2021, vol. 230, nr. 1, 46-59, <https://doi.org/10.1111/nph.17083>
16. Tabără, Olesia; Nechifor, Victoria; Port, Angela. Expresia genelor GSL1-4 în rădăcinile de floarea-soarelui infectată cu lupoaie, în: *Buletinul Academiei de Științe a Moldovei. Științele vieții*, 2017, nr. 2(332), 85-93.
17. Zhang, N.; Ali, S.; Huang, Q.; Yang, C.; Ali, B.; Chen, W. et al. Seed pretreatment with brassinosteroids stimulates sunflower immunity against parasitic weed (*Orobanche cumana*) infection, în: *Physiologia Plantarum*, 2024, vol. 176, nr. 3, e14324, <https://doi.org/10.1111/ppl.14324>
18. Yang, C.; Fu, F.; Zhang, N.; Wang, J.; Hu, L.; Islam, F.; Bai, Q.; Yun, X.; Zhou, W. Transcriptional profiling of underground interaction of two contrasting sunflower cultivars with the root parasitic weed *Orobanche cumana*, în: *Plant and Soil*, 2020, vol. 450, 303-321, <https://doi.org/10.1007/s11104-020-04495-3>
19. 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 *Orobanche cumana* in sunflower, în: *Plant Pathology*, 2007, vol. 56, 536-546, <https://doi.org/10.1111/j.1365-3059.2007.01575.x>
20. Huang, Q.; Lei, Z.; Xiang, L.; Zhang, W.; Zhang, L.; Gao, Y. Transcriptomic Analysis of Sunflower (*Helianthus annuus*) Roots Resistance to *Orobanche cumana* at the Seeding Stage, în: *Horticulturae*, 2022, vol. 8, nr. 8, art. 701, <https://doi.org/10.3390/horticulturae8080701>

21. Eising, R.; Trelease, R.N.; Ni, W. Biogenesis of catalase in glyoxysomes and leaf-type peroxisomes of sunflower cotyledons, in: Archives of Biochemistry and Biophysics, 1990, vol. 278, 258-264, [https://doi.org/10.1016/0003-9861\(90\)90256-X](https://doi.org/10.1016/0003-9861(90)90256-X)
22. Bailly, C.; Leymarie, J.; Lehner, A.; Rousseau, S.; Côme, D.; Corbineau, F. Catalase activity and expression in developing sunflower seeds as related to drying, in: Journal of Experimental Botany, 2004, vol. 55, 475-483, <https://doi.org/10.1093/jxb/erh050>
23. Schmittgen, T.D.; Livak, K.J. Analyzing real-time PCR data by the comparative C(T) method, in: Nature Protocols, 2008, vol. 3, nr. 6, 1101-1108, <https://doi.org/10.1038/nprot.2008.73>
24. Echevarría-Zomeño, S.; Pérez-de-Luque, A.; Jorrín, J.; Maldonado, A.M. Pre-haustorial resistance to broomrape (*Orobanche cumana*) in sunflower (*Helianthus annuus*): cytochemical studies, in: Journal of Experimental Botany, 2006, vol. 57, nr. 15, 4189-4200, <https://doi.org/10.1093/jxb/erl195>
25. Flor, H.H. Current status of the gene-for-gene concept, in: Annual Review of Phytopathology, 1971, vol. 9, 275-296, <https://doi.org/10.1146/annurev.py.09.090171.001423>
26. Pavan, S.; Schiavulli, A.; Marcotrigiano, A.R., et al. Characterization of low-strigolactone germplasm in pea (*Pisum sativum* L.) resistant to crenate broomrape (*Orobanche crenata* Forsk.), in: Molecular Plant-Microbe Interactions, 2016, vol. 29, 743-749, <https://doi.org/10.1094/MPMI-07-16-0134-R>
27. Gobena, D.; Shimels, M.; Rich, P.J.; Ruyter-Spira, C.; Bouwmeester, H. Mutation in sorghum LOW GERMINATION STIMULANT 1 alters strigolactones and causes Striga resistance, in: Proceedings of the National Academy of Sciences (PNAS), 2017, vol. 114, 4471-4476, <https://doi.org/10.1073/pnas.1618965114>
28. Serghini, K.; De Luque, A.P.; Castejón-Muñoz, M.; García-Torres, L.; Jorrín, J.V. Sunflower (*Helianthus annuus* L.) response to broomrape (*Orobanche cernua* Loefl.) parasitism: induced synthesis and excretion of 7-hydroxylated simple coumarins, in: Journal of Experimental Botany, 2001, vol. 52, 2227-2234, <https://doi.org/10.1093/jexbot/52.364.2227>
29. Wada, S.; Cui, S.; Yoshida, S. Reactive Oxygen Species (ROS) Generation Is Indispensable for Haustorium Formation of the Root Parasitic Plant *Striga hermonthica*, in: Frontiers in Plant Science, 2019, vol. 10, art. 328, <https://doi.org/10.3389/fpls.2019.00328>



Ghenadie Jalbă. *Ciobănaș. Baladă*, 1990, ulei, pânză, 85 × 75 cm.  
Colecția Muzeului Național de Artă al Moldovei.