

44. Фурдуй Ф.И., Чокинэ В.К., Вуду Л.Ф. и др. – XXI
 . In: The Bulletin of the European Postgraduate Centre of Acupuncture and Homeopathy, 2000, nr. 4, p. 98-99.
45. Фурдуй Ф.И., Чокинэ В.К., Вуду Л.Ф., Лакуста В.Н. –
 . //Tehnologii avansate în pragul secolului XXI.
 Chi in u. 2000. p.100-101.
46. Фурдуй Ф.И. –
 . 1999. . 36-43.
47. Фурдуй Ф.И., Чокинэ В.К., Фурдуй В.Ф. и др. –
 . //
 . 1999. . 44-51.
48. Фурдуй Ф.И., Чокинэ В.К., Вуду Л.Ф. и др. – XXI
 . In: The Bulletin of the European Postgraduate Centre of Acupuncture and Homeopathy, 2000, nr. 4, p. 98-99.
49. Фурдуй Ф.И., Чокинэ В.К., Фрунзе Р.И.
 . // Buletinul Academiei de tiin e a Moldovei. tiin ele
 Vie ii. 2008. Nr. 3 (306). . 4-14.
50. Фурдуй Ф.И., Чокинэ В.К., Фурдуй В.Ф., Вуду Г.А., Балмуш В.В., Бешетя Т.С., Георгиу З.Б.
 . I.
 . 2012, 1 (316), . 4-14.
51. Эдельмен Дж.
 . // . 1981. . 68.
52. Эдельмен Дж., Маунткасл В.
 . . 1981. . 19-20.

**PARTICULARITĂȚI MORFO-FIZIOLOGICE ȘI GENETICO-
 MOLECULARE ALE INTERACȚIUNII *Helianthus annuus* L. –
Plasmopara halstedii F. Berl et de Toni**

Duca Maria, Port Angela, Șestacova Tatiana

*Centrul Universitar Biologie Moleculară, Universitatea Academiei de
 Științe a Moldovei*

Rezumat

Mana florii-soarelui indus de *Plasmopara halstedii* F. Berl et de Toni, cauzează o pierdere a recoltei pînă la 4-6 q/ha, fiind considerat una dintre cele mai devastatoare boli a florii-soarelui. Articolul include date recente privind ciclul vital al manei, diagnosticul și simptomatologia bolii, impactul economic și măsurile de combatere a patogenului, nomenclatura și variabilitatea genetică a raselor cunoscute, genele de rezistență *Pl* și markerii moleculari linkați cu acestea.

Cuvinte-cheie: Helianthus annuus - Plasmopara halstedii - rezistență - gene Pl - screening molecular.

Depus la redacție 02 noiembrie 2012

Adresa pentru corespondență: estacova Tatiana, Universitatea Academiei de tiin e a Moldovei, str. Academiei 3/2, MD 2028, Chi in u, Republica Moldova, E-mail: tatiana.shestacova@gmail.com., tel. (+37322) 737431

Floarea-soarelui prezint susceptibilitate înalt la un ir de boli fungice i bacteriale: putregaiul alb (*Sclerotinia sclerotiorum*), mana (*Plasmopara halstedii*), fomopsisul (*Phomopsis helianthi/Diaporthe helianthi*), rujina (*Puccinia helianthi*), i ofilirea (*Verticillium dahliae*) care cauzeaz pierderi economice considerabile înregistrate în toat lumea [35]. Gravitatea infec iei variaz considerabil în func ie de regiunea de cultivare i condi iile de cre tere [47].

În Republica Moldova, cultura florii-soarelui este grav afectat de mana indus de *P. halstedii* F. Berl et de Toni. *P. halstedii* apar ine clasei *Oomycetes* cu numero i reprezentan i: organisme saprofite, agen i patogeni ai plantelor, insectelor, pe tilor, nematozilor, vertebratelor, precum i diferite clase de microorganisme [18]. Oomicetele fitopatogene infecteaz o gam larg de plante gazd , incluzînd culturi agricole, buruieni, plantele ornamentale i arbori [24].

Speciile fitopatogene fac parte din dou ordine a clasei *Oomycetes*. Unicul reprezentant din ordinul *Saprolegniales* apar ine genului *Aphanomyces*. Patogen necrotrofic cauzeaz putregaiul r d cinilor la plantele anuale, inclusiv cele agricole *Pisum sativum* i *Beta vulgaris* [17].

O alt grup de agen i patogeni cu grave efecte economice include reprezentan ii ordinului *Peronosporales*, genurile:

- *Phytophthora*, con ine mai mult de 60 specii, cauzeaz ofilirea i putregaiul r d cinelor;
- *Pythium*, provoac putregaiurile semin elor i r d cinelor, ofilirea plantei;
- *Albugo*, cauzeaz albumeal , rugin alb ;
- *Bremia*, *Peronospora*, *Hyaloperonospora*, *Plasmopara* i *Pseudoperonospora* provoac mana la numeroase culturi de importan economic [18].

Inciden a manii florii-soarelui într-un câmp agricol poate varia, de la urme pîn la cca 50% sau chiar 95%. În Europa, începînd cu anul 1941, cînd a fost observat pentru prima dat , boala s-a r spîndit rapid, fiind considerat în anul 1977 o “boal major ” în toate rile produc toare de floarea-soarelui din aceast parte a lumii. Majoritatea plantelor systemic infectate mor prematur sau pot produce un num r foarte mic de semin e viabile. R spîndirea bolii variaz considerabil în func ie de condi iile de cre tere, în special nivelul de umiditate i curen ii atmosferici [47].

Principala sursa de infec ie cu *P. halstedii* sunt semin ele i solul infectat cu oospori (sporii de rezisten), capabili s supravie uiasc timp de 8-10 ani, ceea ce spore te dificultatea eliminarii integrale a bolii odat ce a fost identificat .

În practica agricol se ob in i se comercializeaz numero i hibridi de floarea-soarelui rezisten i la man , îns apari ia noilor rase patologice pun sub semnul întreb rii cultivarea cu succes a acestora în anumite regiuni [20]. Pentru a opri r spîndirea bolii sunt utilizate fungicide cu propriet i sistemice de lung durat , de exemplu, metalaxil sau compu i similari [59].

Prelucrarea semin elor cu fungicide este recomandat uneori i în cazul soiurilor rezistente [55]. De exemplu, în cazul materialului semincer importat se aplic m suri fitosanitare ce includ monitoring-ul timp de 2-3 ani i dac se înregistreaz semne

de infec ie, se identific rasa patogenului. În Australia, chiar dac *P. halstedii* nu este semnalat la semin ele importate, acestea oricum sunt supuse prelucr rii cu ap fierbinte, fungicide i sunt crescute în recipien i timp de dou sezoane [2].

Ciclu vital și condiții de răspândire a manii florii-soarelui

Mana florii-soarelui cauzat de *P. halstedii*, similar altor specii taxonomic apropiate, precum *P. viticola* la vi a-de-vie, *Peronospora tabacina* la tutun, *Pseudoperonospora cubensis* la castravete, *Phytophthora infestans* la cartof [17] are un ciclu vital complex (Fig. 1). Oosporii germineaz timp de 3-12 ore dând na tere la un singur sporangiu [11; 33], în care are loc diferen ierea zoosporilor i eliminarea lor ulterioar . În prezen a apei libere, zoosporii se r spîndesc rapid i dac în apropiere se afl esutul plantei-gazd (r d cin , peri ori absorban i, tulpin sau mai pu in frecvent frunze) se fixeaz , formînd un site de infec ie, se închisteaz apoi germineaz . Penetrarea în planta-gazd se produce direct prin epiderm [56]. În cazul combina iei compatibile gazd -patogen, patogenul cre te i colonizeaz sistemic spre apexul plantelor. Miceliu poate fi prezent în toate esuturile vegetale, cu excep ia meristemelor [33].

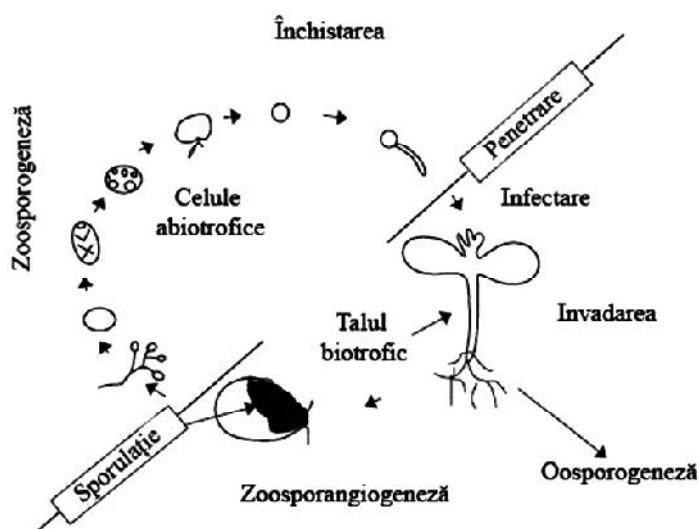


Fig.1. Etapele ciclului vital ontogenetic la *P. halstedii* [34]

În condi ii favorabile, sporula ia asexuat are loc prin intermediul sporangioforilor cu sporangii (Fig. 2A i B), care ies prin stomate sau alte orificii ale esutului invadat. Oosporii sunt, de asemenea, produ i în p r ile infectate ale plantelor, în special în r d cin i tulpin [57].

Oosporii *P. halstedii* servesc în calitate de inoculul primar pentru plantulele tinere de floarea-soarelui. Mana poate fi r spîndit de vînt prin intermediul sporangiilor, provocând infec ii secundare, de obicei locale, semnalate pe partea aerian a plantelor, sau chiar de semin ele produse de plante infectate, care servesc drept surs de r spîndire a miceliului i/sau oosporilor agentului patogen. Se consider c r spîndirea sporangiilor prin intermediul vîntului în ini ierea bolii este de obicei sc zut . Cu toate acestea, infec ia secundar poate constitui un factor important în r spîndirea bolii în anumite regiuni, în condi iile favorabile de mediu [63]. Mai mult ca atît, infec ia secundar produs de sporangi se manifest latent. Astfel de plante nu reprezint simptome evidente de boal în timpul sezonului, produc semin e, care transport patogenul [47].

Cazurile de provocare a bolii de semin e infectate sunt extrem de rare i rezult i într-un procent foarte mic de plante infectate sistemic. În schimb, oosporii din sol transmi i de la o cultur de floarea-soarelui anterior sau chiar de la floarea-soarelui s lbatic sunt sursele de atac sever de man în câmp.

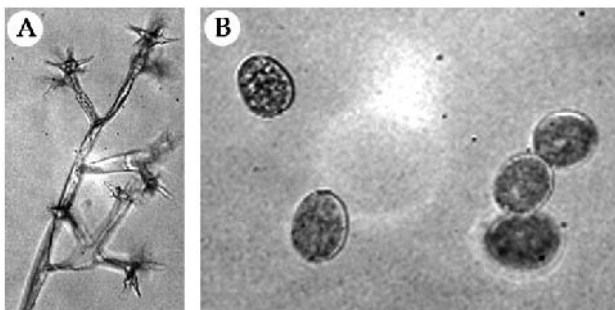


Fig. 2. Sporangiofori (A) și sporangii (B) *P. halstedii* (×640). (Laboratorul Genomică, Centrul universitar Biologie Moleculară, UnAȘM, 2011).

Umiditatea i temperatura sunt factorii de mediu decisivi în dezvoltarea i r spândirea infec iei. Zoosporii, provenind fie din sporula ia sexuat fie din cea asexuat , necesit ap liber pentru p strarea viabilit ii i deplasarea spre site-urile infec iei. Astfel, ploile sau irigarea intens poate fi o condi ie favorabil pentru ini ierea infec iei primare, în special în perioade critice în primele 2-3 s pt mâni dup sem nat [25; 63]. Vârsta plantei i esutul gazd , au, de asemenea, o importan deosebit în determinarea sensibilit ii florii-soarelui la infec ii sistемice provocate de *P. halstedii* [47]. Cu cât mai devreme infec ia apare în sezon, cu atât mai sever va fi manifestarea bolii.

Fenotipul plantelor infectate

P. halstedii poate induce trei tipuri de infec ie (sistemic , local i latent), în func ie de vârsta esutului, volumul inoculului, condi iile de mediu (umiditate i temperatur) i de tipul soiului [49].

Plantele sistemic infectate sunt stagnate în cre tere, au frunze de culoare verde deschis sau cu p tarea clorotic , care se întinde de-a lungul nervurilor principale i a limbului foliar (fig. 3A i 4A). Produc ia de biomas a p r ilor vegetative i generative ale plantei se reduce semnificativ [50]. Frunzele tinere ale plantelor grav afectate devin adesea clorotice în întregime, deformate în partea de jos, sunt rigide i groase (fig. 3B). În condi ii de umeditate sporit se observ cre terea pufului alb - sporangiofori i sporangiile patogenului care se dezvolt pe partea inferioar a frunzelor. Pozi ionarea acestora corespunde strict zonelor clorotice pe suprafa a superioar a frunzelor. Având în vedere scurtarea internodurilor, floarea-soarelui infectat sistemic de man are adesea un aspect fenotipic asem n tor cu varza.

Calatidiile plantelor de floarea-soarelui infectate au dimensiuni reduse, sunt întoarse în sus (calatidii orizontale), sunt lipsite sau au un num r limitat de semin e cu viabilitate mic . Sistemul radicular al florii-soarelui atacat de man este slab dezvoltat, cu o mic orare în formarea r d cinelor secundare i de o culoare maro-închis pe suprafa a lor. Alte simptome asociate cu infec ii sistемice, mai rar întâlnite, includ ofilirea i muceg irea plantulelor, decolorarea tulpinilor i/sau calatidiului, altera ii la nivelul inflorescen ei, r sucirea, deformarea frunzelor (fig. 4C) i formarea cecidiilor bazale [1; 47].



Fig. 3. Diversitatea simptomelor produse de mana *P. halstedii* la floarea-soarelui. A – plante cultivate în câmp, cloroza frunzelor, nanism, calatidii orizontal. B – cloroza frunzelor la plantule în faza de două perechi de frunze. C – Sporula ia la suprafața cotiledoanelor inoculate în condiții artificiale cu *P. halstedii*. D – Sporula ia pe tulpina plantulei la nivelul solului observat în ser [1].

Mai mult ca atât, infecțiile sistemice produse de mana pot fi localizate în rădăcină și pe esuturile bazale ale tulpinii la unele combinații de gazd-patogen sub anumite condiții [28; 58]. În condiții umede, astfel de infecții sunt caracterizate prin sporula ie alb pe frunze cotiledonale și tulpini (fig. 3C și D).

Infecția locală a frunzelor apare frecvent, dar de obicei nu atrage prea mult atenție. Ca rezultat, pe frunze apar pete de culoare verde-deschis, mici, unghiulare, delimitate de nervuri. În condiții de umiditate relativ ridicată, pe suprafața inferioară a frunzelor se dezvoltă puful (sporula ie) (fig. 4B). Într-o etapă ulterioară, esutul plantei gazd se necrotizează lăsând leziuni maronii de frunze. Pentru o perioadă lungă de timp a fost ignorat faptul că infecțiile locale pot provoca infecții sistemice, creșterea patogenului prin pe ioli în tulpină [47]. Astfel, observațiile făcute în Germania, în anul 1999, au demonstrat că patogenul are ușurătate să invadeze pe iolul și să ducă la propagarea infecției sistemice în părțile superioare a plantelor în 8% de plante cu infecții locale [49].

Infecția latentă decurge fără simptome și plantele afectate nu pot fi recunoscute prin analiza aspectului exterior.

Infecția latentă poate apărea în partea subterană a plantelor, care sunt capabile să controleze invadarea patogenului prin stoparea extinderii infecției de la rădăcină și hipocotil în epicotil sau de la infecțiile întârziate în timpul stadiului de înflorire, când creșterea părților vegetative s-a terminat, prin urmare, simptomele sunt invizibile.

Primul tip este tipic pentru unele genotipuri de floarea-soarelui așa-numite rezistente (care permit uneori sporula ie pe hipocotil și cotiledoane [52]).

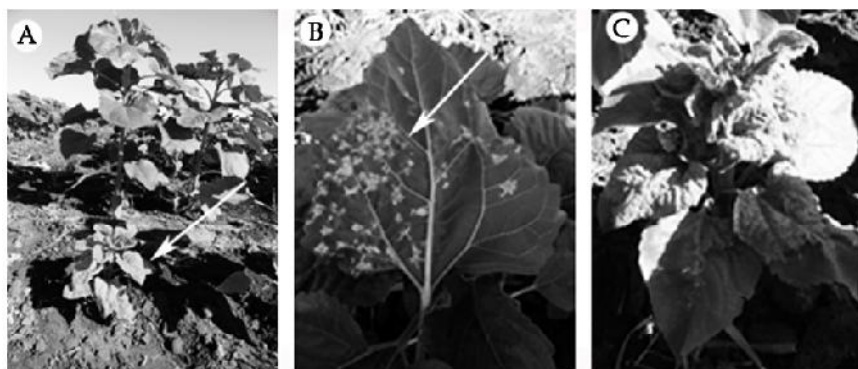


Fig. 4. Simptomele produse de mana *P. halstedii* în condiții de câmp. A – plantă și plantă infectată de mana, stagnată în creștere; B – dezvoltarea sporulației pe partea inferioară a frunzelor; C – cloroza și deformarea frunzelor. (Laboratorul Genomic, Centrul universitar Biologie Moleculară, UnA M, experiență în câmp, 2011).

Cel de al doilea duce la contaminarea semințelor, ca urmare a sistemului de reglare fitohormonal, poate fi recunoscut prin descompunerea întârziată de clorofil și inhibarea reacției gravitropice a calatidiului în timpul îmbatrânirii [49]. Trebuie de remarcat faptul că în ambele cazuri, agentul patogen rămâne viabil și este capabil să finalizeze ciclul vital prin reproducerea sexuală, formând oospori [23].

Diversitatea raselor de mană

Mana *P. halstedii* prezintă variații considerabile a nivelului de virulență în cazul infecției liniilor de floarea-soarelui. Actualmente, sunt izolate și cunoscute în lume 35 rase ale patogenului [19].

Pentru caracterizarea profilului virulenței tulpinilor manei, fitopatologii și geneticienii utilizează linii diferențiatore, care conțin genele majore asociate cu rezistența dominantă. Reacția genotipurilor în teste pe linii stări [52] asigură posibilitatea de a grupa izolatele în funcție de patotip (toate tulpinile cu un *pattern* de virulență comun). Pentru simplificarea procedurii de identificare a raselor [21] a fost propusă utilizarea sistemului nomenclator definit de Limpert și Muller în 1994 [26]. Acest nomenclator, aprobat în anul 2000, a deschis posibilitatea de determinare a virulenței tulpinilor manei în baza de nouă linii diferențiatore grupate în trei seturi [52]. Astfel, dacă primul diferențiator este sensibil, contribuie cu „1” la codul respectiv, iar dacă a doua linie este sensibilă, contribuie cu „2”. Dacă a treia linie dintr-un set este sensibilă, ea contribuie cu „4”, deoarece valoarea „3” ar rezulta, de asemenea, când prima și a doua linie sunt sensibile. În cazul, când toate trei liniile dintr-un set sunt sensibile, codul de virulență pentru acesta devine „7”. Dacă toți cei 9 diferențiatori sunt sensibili, codul izolatei respective va fi „777”. Avantajul acestui sistem este determinat de faptul că, doar cei 9 diferențiatori și ordinea lor în cele trei seturi trebuie memorate, iar formula de virulență rezultat este formată doar din trei cifre [64]. Rasele principale identificate sunt prezentate în tabelul 1.

Această clasificare este utilă din punct de vedere practic, însă nu este adaptată pentru relevarea variațiilor genetice minore sau prezenței raselor minore în izolate. Totodată, se fac investigații privind clasificarea genetică a raselor cunoscute.

Tabelul 1. Rasele principale ale manii identificate în lume și reacția liniilor diferențiatore [21; 52].

	D1	D2	D3	D4	D5	D6	D7	D8	D9
Rase	HA304	RHA265	RHA274	PMI3	PM17	803.1	HAR4	QHP1	HA335
100	S	R	R	R	R	R	R	R	R
300	S	S	R	R	R	R	R	R	R
304	S	S	R	R	R	R	R	R	S
307	S	S	R	R	R	R	S	S	S
314	S	S	R	S	R	R	R	R	S
330	S	S	R	S	S	R	R	R	R
334	S	S	R	S	S	R	R	R	S
700	S	S	S	R	R	R	R	R	R
703	S	S	S	R	R	R	S	S	R
704	S	S	S	R	R	R	R	R	S
707	S	S	S	R	R	R	S	S	S
710	S	S	S	S	R	R	R	R	R
714	S	S	S	S	R	R	R	R	S
717	S	S	S	S	R	R	S	S	S
730	S	S	S	S	S	R	R	R	R
770	S	S	S	S	S	S	R	R	R
774	S	S	S	S	S	S	R	R	S

O încercare de a caracteriza variabilitatea moleculară a manii a fost făcută de Roeckel-Drevet și colaboratorii în 2003, analizând prin tehnica RAPD (Random Amplified Polymorphic DNA) cu 21 primeri 77 izolate din 12 țări de pe patru continente. Rezultatele acestui studiu au constituit primul raport privind diversitatea genetică a patogenului evaluat la nivel internațional. Analiza statistică a demonstrat că nu există corelație între gruparea izolatelor și rasa sau originea geografică a acestora, fapt care poate fi explicat prin apariția lor recentă determinată de efectul de „strangulare a populației” [44; 46]. Prin tehnicile moleculare aplicate la etapa timpurie a studiului diversității genetice a patogenului, precum sunt RFLP (Restriction Fragments Length Polymorphism) [5], RAPD [6; 44] și ISSR (Inter-Simple Sequence Repeat) [22] s-a reușit identificarea diversității genetice între probele investigate, dar au fost diferențiate populațiile doar la nivel intraspecific [60].

Numeroase investigații privind caracterizarea genetică a raselor manii se desfășoară în Franța. Astfel, Giresse și colaboratorii în 2007 au elaborat 12 markeri SNP (Single-Nucleotide Polymorphism), care pot fi aplicați pentru genotiparea fină a izolatelor din leziunile cu sporulație [16]. Utilizând combinațiile acestor markeri Delmotte și colaboratorii în 2008 au analizat 24 izolate individuale, care includ 14 rase întâlnite în Franța. Datele obținute au demonstrat o corelație puternică între structura genetică și fenotipică a populațiilor studiate, indicând faptul că cele 14 rase sunt încadrate în trei grupe distincte. Fiecare grup include una din cele trei rase majore din Franța 100, 703 și 710. De asemenea, nivelul scăzut de heterozigoitate denotă faptul că *P. halstedii* este o specie homotalică [12]. Cu toate acestea, cercetările respective pun în evidență doar structura genetică a populațiilor patogenului și nu furnizează nici o informație funcțională privind profilurile patogenetice [12; 60].

Astfel, în Franța de la începutul anilor 1960 pînă la sfîrșitul anilor 1980, a fost identificat doar rasa 100 (cunoscută și ca rasa 1 sau rasa Europeană). În 1988-1989, au fost descoperite două rase noi: rasa 703 și 710 [9]. Toți hibridii comerciali utilizați în aceea perioadă au manifestat susceptibilitate față de rasele 703 și 710. Începînd cu 1995, în Franța au fost identificate 11 rase: 300 și 700 (în 1995), 304 (în 2000), 314 (în 2001), 307, 704 și 714 (în 2002), 334, 707 și 717 (în 2004) și 730 (în 2005) [12; 53].

Evoluția rapidă a populațiilor *P. halstedii* în ultimii zece ani [19] indică asupra necesității de optimizare a nomenclaturii actuale.

Genele de rezistență și markerii moleculari asociați cu rezistența floare-soarelui la mană

Interacțiunea dintre floarea-soarelui și *P. halstedii* poate fi descrisă ca o relație tipică gen-pentru-gen unde patotipurile patogenului au caracter de virulență diferită și pot întâlni genotipuri de floarea-soarelui cu sau fără gena/gene de rezistență efective împotriva lor. Cu toate că genetica rezistenței floare-soarelui la *P. halstedii* are o istorie de cercetare lungă și o serie de gene *Pl* sunt identificate și încorporate în soiurile rezistente la mană, au rămas multe întrebări nerezolvate, elucidarea cărora va permite controlul eficient al acestei boli devastatoare pe termen îndelungat. Actualmente, cercetătorii din diferite țări lucrează pentru a înțelege mai bine mecanismul, precum și baza genético-moleculară a rezistenței, selectând gene sau clustere de gene noi care conferă rezistență genotipurilor de interes cu ajutorul markerilor moleculari în programe de ameliorare și încercînd să descopere modalități alternative de asigurare a rezistenței la floarea-soarelui [60].

Ameliorarea pentru rezistență la mană a fost inițiată la VNIIMK-Krasnodar, prin încrucișarea topinamburului (*H. tuberosus* var. *purpurellus*) ca formă maternă, cu soiul VNIIMK 8931 [37; 38; 40]. Cu toate dificultățile referitoare la menținerea rezistenței în generațiile avansate de back-cross, s-au obținut unele forme hibride rezistente, care au stat la baza creșterii unor soiuri de floarea-soarelui cu conținut ridicat de ulei. Astfel, soiurile Novinka și Progress, obținute de G.V. Pustovoit și colaboratorii în 1976 prin încrucișarea interspecifică, conțin o genă dominantă de rezistență la mană, provenită de la *H. tuberosus* [39; 40].

Toate genele de rezistență identificate pînă în prezent sunt gene simple, dominante, fiind specifice pentru determinarea diferitelor rase de mană. Genele de rezistență la mană pot fi ușor transferate în genotipurile sensibile, dar valoroase din punct de vedere agronomic, pentru crearea de linii izogenice sau surse noi de germoplasm. Transferarea se face prin metoda back-cross, linia inițială fiind folosită întotdeauna ca formă maternă. După fiecare generație de back-cross se fac teste artificiale cu inocul de la izolatele raselor pentru care se face selecția. Genele *Pl* pot fi transferate în genotipul uneia din liniile parentale care formează hibridii simpli de floarea-soarelui, de preferință linia maternă androsterilă, realizându-se astfel hibridi rezistenți la atacul *P. halstedii* [64].

În anii 90 au fost depuse eforturi considerabile pentru determinarea localizării genelor de rezistență în cadrul genomului floare-soarelui și de a aplica cunoștințele respective în ameliorare [60]. Actualmente, sunt cunoscute mai mult de 20 gene de rezistență majore *Pl*, dintre care zece au fost cartate. Unsprezece gene *Pl* au fost localizate pe hărți de linkaj cu ajutorul markerilor moleculari [3; 4; 7; 8; 10; 13; 14; 15; 27; 31; 32; 36; 41; 42; 45; 54].

Similar cu alte gene de rezistență la plante, genele *Pl* de la floarea-soarelui sunt aranjate în clustere în cadrul grupelor de linkaj. Două clustere majore sunt localizate în grupul de linkaj 8 și 13 pe harta publică a markerilor microsatelelii. Un cluster conține Pl_1, Pl_2, Pl_6, Pl_7 și Pl_{15} , a fost cartat în grupul de linkaj 8 al hărții de linkaj SSR (Simple Sequence Repeat), elaborate de Yu și colaboratorii în 2003 [4; 7; 10; 15; 31; 43; 45; 48; 54; 62]. Cel de al doilea cluster major, care conține Pl_5 și Pl_8 , a fost localizat în grupul de linkaj 13 al hărții de linkaj SSR, elaborate de Yu și colaboratorii în 2003 [4; 42; 62]. În grupul de linkaj 1 al hărții genetice elaborate de Tang și colaboratorii în 2003 [51] de asemenea au fost localizate gene *Pl*, inclusiv Pl_{Arg} de la *H. argophyllus* ARG-1575-2 și Pl_{13} de la HA-R5, la fel ca și Pl_{14} de la 29004, linia de la Advanta Semillas S.A.I.C [3; 13; 32; 42]. Gena Pl_{Arg} este localizată în acest grup de linkaj, însă într-o regiune diferită de gene Pl_{13} și Pl_{14} . Pentru genele din grupul de linkaj 1 nu este clar dacă acestea sunt gene singulare sau sunt organizate în clustere care asigură rezistența fa de mai multe rase a patogenului [32; 61].

Markerii strâns linkați cu genele *Pl* au fost elaborați în cazul mai multor gene. Cartarea moleculară a genelor Pl_1, Pl_2 și Pl_6 a relevat localizarea în vecinătatea acestor trei gene [31; 45; 54]. Veer și colaboratorii în 1997 au arătat că locusul Pl_6 este compus din cel puțin 2 gene strâns linkate, prezentând astfel un locus complex. Locusul Pl_2 posibil este o parte a locusului complex Pl_6 sau locusul Pl_2 însă reprezintă un cluster de gene [54]. Brahm și colaboratorii în 2000 au identificat noi markeri RAPD și doi markeri AFLP (Amplified Fragments Length Polymorphism) pentru locusul Pl_2 , care de asemenea pot fi aplicați în selecția privind locusul Pl_6 . Markerii RAPD OPAA14₇₅₀ și OPAC20₈₃₁ și markerul AFLP E35M48-3 sunt linkați cu gena Pl_2 la o distanță de 2 cM [8].

Marker CAPS (Cleaved Amplified Polymorphic Sequence) pentru locus Ha-4W2, linkat cu gena Pl_1 , a fost elaborat de către Gedil și coautorii în 2001. Liniile sensibile la mană (HA89 și HA372) nu dispuneau de un fragment de 276 pb obișnuit în urma restricției cu enzima Tsp509I, care a fost prezent la liniile rezistente la *P. helianthi* (HA370, 335, 336, 337, 338 și 339). Deși markerii genetici pentru Ha-4W2 pot fi utilizați în procesul de selecție asistat de markeri, gena (RGC – Resistance Gene Candidate) detectată de marker CAPS a fost exclusivă ca o genă candidat pentru Pl_1 . [14] Alți markeri linkați cu gena Pl_1 sunt ORS1043 și ORS166 la distanța de 3.4 cM [48]. Markerul ORS166 de asemenea a fost linkat cu locusul Pl_{15} la o distanță de 3.4 cM [10].

Secvențierea a 13 markeri STS (Sequenced Tagged Sites) aflați la distanță genetică de 0.0–1.4 cM de la locusul Pl_6 a pus în evidență existența genelor de rezistență conservative din clasa toll-interleukin1 receptor-nucleotide binding site-leucine rich repeat (TIR-NBS-LRR) [7]. De asemenea, au fost elaborați 14 STS (sequence tagged sites) markeri în cadrul locusului Pl_5/Pl_8 , care asigură rezistența la un spectru larg de rase *P. halstedii*. Acești markeri au fost obținuți în urma clonării și cartării a două gene de rezistență analoge (RGA) din clasa CC-NBS-LRR. Locusul Pl_5/Pl_8 aparține grupului de linkaj 6 [42].

Pankovic și colaboratorii în 2007 au elaborat doi markeri CAPS, care segregă cu gena Pl_6 [36]. Recent, de către Mulpuri și coautorii (2009) a fost stabilit poziția genei Pl_{13} în grupa de linkaj 1, flancată de markeri SSR dominant ORS1008 pe de o parte, la o distanță de 0,9 cM și ORS 965-1 pe de altă parte la o distanță de 5,8 cM. Acești markeri

strâns linka i cu gena Pl_{13} , și sunt recomandate de către trei autori pentru selecția genotipurilor rezistente în cadrul programelor de ameliorare a florii-soarelui. De asemenea, autorii au elaborat 6 perechi de primeri de tip STS în baza markerilor RFLP, dintre care una STS10D6 a generat profilul polimorf între genotipurile rezistente și sensibile și poate fi utilizat în calitate de marker molecular codominant pentru gena Pl_{13} [32].

Pînă în prezent, au fost descriși markeri SSR și EST-SSR (Expressed Sequence Tags-Simple Sequence Repeats) linka i cu gena Pl_{Arg} și NBS-LRR, care codifică gene candidate de rezistență RGC flancante cu genele Pl_{Arg} , Pl_8 și Pl_{14} [3; 61]. Acești markeri vor facilita procesul de selecție asistată de markeri și piramidizarea genelor de rezistență, care este considerată una din cele mai eficiente metode de sporire a rezistenței plantelor de cultură [29; 30].

Bibliografie

1. Diagnostics - Diagnostic: *Plasmopara halstedii*. // Bulletin OEPP/EPPO Bulletin, 2008, vol. 38, p. 343–348.
2. Sunflower downy mildew. // Plant Quarantine Leaflet, 1981, No. 13. Commonwealth Department of Health, Canberra, Australia.
3. Bachlava E., Radwan O.E., Abratti G. et al. Downy mildew (Pl_8 and Pl_{14}) and rust ($Radv$) resistance genes reside in close proximity to tandemly duplicated clusters of non-TIR-like NBS-LRR-encoding genes on sunflower chromosomes 1 and 13. // TAG, 2011, vol. 122, p. 1211–1221.
4. Bert P.F., De Labrouhe D.T., Philippon J. et al. Identification of a second linkage group carrying genes controlling resistance to downy mildew (*Plasmopara halstedii*) in sunflower (*Helianthus annuus* L.). // TAG, 2001, vol. 103, p. 992–997.
5. Borovkov A. Y. and McClean P. E. A tandemly repeated sequence from the *Plasmopara halstedii* genome. // Gene, 1993, vol. 123, p. 127–130.
6. Borovkova I. G., Borovkov A. Y., McClean P. E. et al. Restriction fragment length polymorphisms and RAPD markers in DNA of *Plasmopara halstedii*, the downy mildew fungus of sunflower. // Proceedings of the 13th International Sunflower Conference, Pisa, Italy, 1992, p. 1420–1425.
7. Bouzidi M.F., Badaoui S., Cambon F. et al. Molecular analysis of a major locus for resistance to downy mildew in sunflower with specific PCR-based markers. // TAG, 2002, vol. 104, p. 592–560.
8. Brahm L., Röcher T., Friedt W. PCR-based markers facilitating marker assisted selection in sunflower for resistance to downy mildew. // Crop Sci., 2000, vol. 40, p. 676–682.
9. De Guenin M. C. Mildew on sunflower: a newly reappeared disease. // Phytoma, 1990, p. 26–30.
10. de Romano A.B., Romano C., Bulos M. et al. A new gene for resistance to downy mildew in sunflower. // In: Proc. Int. Symposium “Sunflower breeding on resistance to diseases”, Krasnodar, Russia, 2010, p. 141–146.
11. Delanoë D. Biologie et épidémiologie du mildiou du tournesol (*Plasmopara helianthi* Novot.). // CETIOM Informations Techniques, 1972, vol. 29, p. 1–49.
12. Delmotte F., Giresse X., Richard-Cervera S. et al. Single nucleotide polymorphisms reveal multiple introductions into France of *Plasmopara halstedii*, the plant pathogen causing sunflower downy mildew. Infection, Genetics and Evolution, 2008, vol. 8, p. 534–540.
13. Dußle C.M., Hahn V., Knapp S.J. and Bauer E. Pl_{Arg} from *Helianthus argophyllus* is unlinked to other known downy mildew resistance genes in sunflower. // TAG, 2004, vol. 109, p. 1083–1086.
14. Gedil M.A., Slabaugh M.B., Berry S. et al. Candidate disease resistance genes in

sunflower cloned using conserved nucleotide binding site motifs: genetic mapping and linkage to downy mildew resistance gene *Pl1*. // Genome, 2001, vol. 44, p. 205–212.

15. Gentzbittel L., Mouzeyar F., Badaoui S. et al. Cloning of molecular markers for disease resistance in sunflower, *Helianthus annuus* L. // TAG, 1998, vol. 96, p. 519–525.

16. Giresse X., De Labrouhe D. T. and Richard-Cervera S. Twelve polymorphic expressed sequence tags-derived markers for *Plasmopara halstedii*, the causal agent of sunflower downy mildew. // Molecular Ecology Notes, 2007, vol. 7, p. 1363–1365.

17. Grenville-Briggs L. J., Avrova A., Bruce C. R. et al. Elevated amino acid biosynthesis in *Phytophthora infestans* during appressorium formation and potato infection. // Fungal Genet. Biol., 2005, vol. 42, p. 244–256.

18. Grenville-Briggs L. J. and van West P. The Biotrophic Stages of Oomycete–Plant Interactions. // Adv. in Appl. Micr., 2005, vol. 57, p. 213–243.

19. Gulya T. J. Distribution of *Plasmopara halstedii* races from sunflower around the world. // In: Advances in Downy Mildew Research, Palacky University and JOLA Publishers, 2007, vol. 3, p. 121–134.

20. Gulya T.J., Sackston W.E., Virányi F. et al. New races of the sunflower downy mildew pathogen (*Plasmopara halstedii*) in Europe and North and South America. // Journal of Phytopathology, 1991, vol. 132, p. 303–311.

21. Gulya T.J., Tourvieille De Labrouhe D., Masirevic S. et al. Proposal for standardized nomenclature and identification of races of *Plasmopara halstedii* (sunflower downy mildew). // In: Proceedings of the ISA Symposium III, Sunflower Downy Mildew, Fargo, ND, USA, 1998, p. 130–136.

22. Intelmann F. and Spring O. Analysis of total DNA by minisatellite and simple-sequence repeat primers for the use of population studies in *Plasmopara halstedii*. // Can. J. Microbiol., 2002, vol. 48, p. 555–559.

23. Heller A., Rozynek B. and Spring O. Cytological and physiological reasons for the latent type of infection in sunflower caused by *Plasmopara halstedii*. Journal of Phytopathology, 1997, vol. 145, p. 441–445.

24. Koch E. and Slusarenko A. Arabidopsis is susceptible to infection by a downy mildew fungus. // Plant Cell, 1990, vol. 2, p. 437–445.

25. Kolte S.J. Diseases of annual edible oilseed crops. // Sunflower, safflower & nigerseed diseases. CRC Press, Inc., Boca Raton, USA. 1985. Vol. 3.

26. Limpert E., Müller K. Designation of pathotypes of plant pathogens. // J. Phytopath., 1994, vol. 140, p. 346–358.

27. Liu Z., Gulya T. J., Seiler G. J. et al. Molecular mapping of the *Pl16* downy mildew resistance gene from HA-R4 to facilitate marker-assisted selection in sunflower. // TAG, 2012, vol. 125, p. 121–131.

28. Ljubich A., Gulya T.J. Cotyledon-limited systemic downy mildew infection. // Proceedings of 1988 Sunflower Research Workshop, Bismarck, USA, National Sunflower Association, 1988, p. 9.

29. McHale L.K., Truco M.J., Kozik A. et al. The genomic architecture of disease resistance in lettuce. // TAG, 2009, vol. 118, p. 565–580.

30. Michelmore R.W. The impact zone: genomics and breeding for durable disease resistance. // Curr. Opin. Plant Biol., 2003, vol. 6, p. 397–404.

31. Mouzeyar S., Roeckel-Drevet P., Gentzbittel L. et al. RFLP and RAPD mapping of the sunflower *Pl1* locus for resistance to *Plasmopara halstedii* race 1. // TAG, 1995, vol. 91, p. 733–737.

32. Mulpuri S., Liu Z., Feng J. et al. Inheritance and molecular mapping of a downy mildew resistance gene, *Pl13* in cultivated sunflower (*Helianthus annuus* L.). // TAG, 2009, vol. 119, p. 795–803.

33. Novotel'nova N.S. Downy mildew of sunflower. // Nauka, Moscow, Russia, 1966. 150 pp.
34. Oros G. Differential responses of *Plasmopara halstedii* developmental forms to various steroid alkaloids. // Int. J. Life Sci., 2010, vol. 4, p. 1-15.
35. Paniego N., Heinz R., Fernandez P. et al. Sunflower. // In Genome Mapping and Molecular Breeding in Plants. Edited by: Kole C. Berlin Heidelberg: Springer-Verlag, 2007, vol. 2, p. 153-177.
36. Panković T.D., Radovanović T.N., Jocić T.S. et al. Development of co-dominant amplified polymorphic sequence markers for resistance of sunflower to downy mildew race 730. // Plant Breed., 2007, vol. 126, p. 440-444.
37. Pustovoit G.V. Selekcija podsolnetcnika na gruppovoi immunitet metodom. medzvidovoi gibridizaciji. // sl. i efiromaslitcnoi kulturii, s v , 1963, p. 75-92.
38. Pustovoit G.V. Interspecies hybridization as a method of sunflower selection on group immunity. // Genetika, 1966, vol. 2, p. 59-69.
39. Pustovoit G. V., Krokhin E.Y. Inheritance of resistance in interspecific hybrids of sunflower to downy mildew // Skh. Biol., 1977, vol. 12, p. 231-236.
40. Pustovoit G.V., Ilatovsky V.P., Slyusar E.L. Results and prospects of sunflower breeding for group immunity by interspecific hybridization. // Proc. of the 7th Intl. sunflower Conf., Krasnodar, Russia, 1976, p. 193-204.
41. Radwan O., Bouzidi M.F., Vear F. et al. Identification of non-TIR-NBS-LRR markers linked to the *Pl5/Pl8* locus for resistance to downy mildew in sunflower. // TAG, 2003, vol. 106, p. 1438-1446.
42. Radwan O., Bouzidi M. F., Nicolas P. and Mouzeyar S. Development of PCR markers for the *Pl5/Pl8* locus for resistance to *Plasmopara halstedii* in sunflower *Helianthus annuus* L. from complete CC-NBS-LRR sequences. // T AG, 2004, vol. 109, p. 176-185.
43. Radwan O., Gandhi S., Heesacker A. et al. Genetic diversity and genomic distribution of homologs encoding NBS-LRR disease resistance proteins in sunflower. // Mol. Genet. Genomics, 2008, vol. 280, p. 111-125.
44. Roeckel-Drevet P., Coelho V., Tourvieille J. et al. Lack of genetic variability in french identified races of *Plasmopara halstedii*, the cause of downy mildew in sunflower *Helianthus annuus*. // Can. J. Microbiol., 1997, vol. 43, p. 260-263.
45. Roeckel-Drevet P., Gagne G., Mouzeyar S. et al. Colocation of downy mildew (*Plasmopara halstedii*) resistance genes in sunflower (*Helianthus annuus* L.). // Euphytica, 1996, vol. 91, p. 225-228.
46. Roeckel-Drevet P., Tourvieille J., Gulya T.J. et al. Molecular variability of sunflower downy mildew, *Plasmopara halstedii*, from different continents. // Can. J. Microbiol., 2003, vol. 49, p. 492-502.
47. Sackston W.E. Downy mildew of sunflower. // In: The downy mildews (Ed. by Spencer D.M.), Academic Press, London, UK, 1981, p. 545-575.
48. Slabaugh M.B., Yu J.K., Tang S. et al. Haplotyping and mapping a large cluster of downy mildew resistance gene candidates in sunflower using multilocus intron fragment length polymorphisms. // Plant Biotechnol. J., 2003, vol. 1, p. 167-185.
49. Spring O. Non-systemic infections of sunflower with *Plasmopara halstedii* and their putative role in the distribution of the pathogen. // Journal of Plant Diseases and Protection, 2001, vol. 108, p. 329-336.
50. Spring O., Benz A. and Faust V. Impact of downy mildew infection on the development and metabolism of sunflower. // Zeitung für Pflanzenkrankheiten und Pflanzenschutz, 1991, vol. 98, p. 597 - 604.
51. Tang S., Kishore V.K., Knapp S.J. PCR-multiplexes for a genome-wide framework of simple sequence repeat marker loci in cultivated sunflower. // TAG, 2003, vol. 107, p. 6-19.

52. Tourvieille L. D., Gulya T. J., Masirevic S. et al. New nomenclature of races of *Plasmopara halstedii* (sunflower downy mildew). // In: Proceedings of the 15th International Sunflower Conference, Toulouse, 2000, vol. 2-I, p. 61–65.
53. Tourvieille L. D., Mestries E. and Walser P. Quelles perspectives pour la lutte génétique vis-a-vis du mildiou du tournesol? // OCL, 2005, vol. 12(2), p. 85–93.
54. Vear F., Gentzbittel L., Philippon J. et al. The genetics of resistance to five races of downy mildew (*Plasmopara halstedii*) in sunflower (*Helianthus annuus* L.). // TAG, 1997, vol. 95, p. 584–589.
55. Virányi F. Harmful incidence of *Plasmopara halstedii* in downy mildew “Resistant” sunflowers. // J. Phytopath., 1978, vol. 91, nr. 4, p. 362–364.
56. Virányi F. *Plasmopara halstedii*. // In: European handbook of plant diseases (Ed. by Smith I.M.; Dunez J.; Phillips D.H.; Lelliot R.A.; Archer S.A.), 1988a, p. 228-230. Blackwell Scientific Publications, Oxford, UK.
57. Virányi F. Factors affecting oospore formation in *Plasmopara halstedii*. // Proceedings of the 12th International Sunflower Conference, Novi Sad. 1988b, vol. 2, p. 32-37.
58. Virányi F. and Gulya T. J. Expression of resistance in the *Plasmopara halstedii*—sunflower pathosystem. // In: ISA Symposium I. Disease Tolerance in Sunflower, Beijing, 1996, p. 14–21.
59. Virányi F. and Oros G. Developmental stage response to fungicides of *Plasmopara halstedii* (sunflower downy mildew). // Mycol. Res., 1991, vol. 95, p. 199-205.
60. Virányi F. and Spring O. Advances in sunflower downy mildew research. // Eur. J. Plant Pathol., 2011, vol. 129, p. 207–220.
61. Wieckhorst S., Bachlava E., Dußle C.M. et al. Fine mapping of the sunflower resistance locus *PIARG* introduced from the wild species *Helianthus argophyllus*. // TAG, 2010, vol. 121, p. 1633–1644.
62. Yu J.K., Tang S., Slabaugh M.B. et al. Towards a saturated molecular genetic linkage map for cultivated sunflower. // Crop Sci., 2003, vol. 43, p. 367–387.
63. Zimmer D.E., Hoes J.A. Diseases. // In: Sunflower science and technology (Ed. by Carter J.F.), American Society of Agronomy, Madison, USA, 1978, p. 225-262.
64. Vrânceanu A. Floarea-soarelui hibrid . // Bucure ti: Ceres, 2000. 520 p.

SPECIES COMPOSITION AND SEASONAL HUMAN BITING ACTIVITY OF MOSQUITOES (DIPTERA: CULICIDAE) IN THE RECREATIONAL AREAS OF THE MUNICIPALITY CHISINAU

Sulesco Tatiana

Institute of Zoology, Academy of Sciences of Moldova

Rezumat

În premier este analizat , generalizat și actualizat informația privind componența faunistică și activitatea sezonieră de atac a anarilor asupra omului în municipiul Chișinău. În total, în opt zone de agrement, au fost capturate 3255 exemplare de anari adulți. Colectarea anarilor a fost efectuată prin două metode: capturarea manuală a anarilor de pe organismul uman și capturarea anarilor cu ajutorul filierelor entomologice de pe substratul vegetal. Au fost identificate în total 22 specii de anari din 9 genuri, ceea ce constituie 55% din diversitatea speciilor care apar în familia *Culicidae* în Republica Moldova. În ceea ce privește antioanele colectate de pe corpul uman au fost depistate 17 specii antropofile cu activitate sezonieră diversă de atac asupra lui. Mai frecvent întâlnit s-a