

ARTICOLE DE FOND

CONSIDERAȚII GENERALE PRIVIND MECANISMELE
REZISTENȚEI PLANTELOR LA ANTOFITELE PARAZITE DIN
FAMILIA *OROBANCHACEAE*

Duca Maria, Port Angela, Clapco Steliana, Zgardan Dan, Tabără Olesea

Universitatea Academiei de Științe a Moldovei

Rezumat

Plantele parazite din familia *Orobanchaceae* cauzează pagube mari de recoltă și reduc semnificativ calitatea producției la un spectru larg de culturi agricole. Familia *Orobanchaceae* reprezintă un taxon model pentru studierea evoluției parazitismului la plantele angiosperme. Cunoașterea mecanismelor de rezistență la plantele parazite va permite cercetătorilor să elaboreze strategii de ameliorare a culturilor agricole.

Cuvinte-cheie: parazitism, evoluție, rezistență, răspuns defensiv, *Orobanchaceae*.

Depus la redacție 14 iulie 2016

Adresa pentru corespondență: Clapco Steliana, Universitatea Academiei de Științe a Moldovei, str. Academiei, 3/2, MD2028 Chișinău, R. Moldova; E-mail: stela.clapco@gmail.com, tel.: (+373 22) 73-74-33

În contextul agriculturii intensive, asociată deseori cu indiferența față de protecția mediului înconjurător și sănătatea consumatorilor, se impun noi abordări în evoluția sistemului de producție agricolă, în special, dezvoltarea rezistenței genetice a plantelor față de factorii biotici și abiotici. Realizarea acestui obiectiv necesită cunoașterea profundă a plantei gazdă în aspect genomic și funcțional, a cerințelor și modalităților de cultură, a particularităților de interacțiune și răspuns la agenții fitopatogeni, a condițiilor care favorizează evoluția acestora.

Printre fitopatogeni se enumeră, inclusiv, plante angiosperme. Se consideră că 277 de genuri, 4100 de specii din 22 de familii de dicotiledonate constituie plante parazite, ceea ce reprezintă aproximativ 1% din totalul antofitelor cunoscute [55, 42]. Dintre acestea, reprezentanții a patru genuri: *Orobanche* (lupoiaia), *Striga* (iarba vrăjitoarei), *Cuscuta* (cuscuta) și *Arceuthobium* (vâscul) provoacă daune considerabile cantitative și calitative, iar în unele cazuri compromit producția integral [12-14, 17, 21, 45]. De exemplu, în anul 1991 în regiunile din bazinul mării Mediterane și în Asia de vest, speciile din familia *Orobanchaceae* au cauzat pierderi de recoltă pe o suprafață de 16 mln ha [35]. În funcție de gradul de infestare, recolta de mazăre (*Pisum sativum*), bob (*Vicia faba*), năut (*Cicer arietinum*), tomate (*Solanum lycopersicum*), cartof (*Solanum tuberosum*), morcov (*Daucus carota*), floarea-soarelui (*Helianthus annuus* L.) se poate reduce de la 20% până la 100% [6].

În literatura de specialitate sunt descrise familii, care în conformitate cu modul de nutriție, includ genuri exclusiv semiparazite (*Cassytha*, *Krameriaceae*, *Santalales*), sau doar holoparazite (*Hydnoraceae*, *Cynomoriaceae*, *Cytinaceae*, *Apodanthaceae*, *Rafflesiaceae*, *Balanophoraceae*, *Mitrastemonaceae*, *Lennoaceae*, *Cuscuta*). Spre deosebire de acestea, familia *Orobanchaceae*, cuprinde circa 90 de genuri

și 2000 de specii, atât semiparazite facultative (*Tripshyaria*) sau obligate (*Striga*), cât și holoparazite obligate (*Orobanchae*) [5, 55].

Grație acestui fapt, speciile din familia *Orobanchaceae* constituie obiecte de studiu în cadrul diferitelor proiecte de genomică funcțională, precum *Parasitic Plant Genome Project* (<http://ppgp.huck.psu.edu/>), reprezentând un taxon model pentru studierea răspunsului defensiv al plantelor la acțiunea angiospermelor parazite.

În articol sunt analizate, în plan comparativ, cercetările expuse în publicații științifice și bazele de date publice: *Angiosperm Phylogeny Website*, *Parasitic Plant Connection*, *Parasitic Plant Genome Project* etc.

Evoluția parazitismului la *Orobanchaceae*

Parazitismul își are originea din plantele neparazite, iar evenimentul evoluționist de bază în această tranziție a fost originea haustoriilor invazivi. Se consideră că haustoriile speciilor ancestrale de *Orobanchaceae* se dezvoltau pe partea laterală a rădăcinii similar plantelor semiparazite facultative. La paraziții obligatorii, precum *Striga* și *Orobanchae*, adițional haustoriilor laterali, au evoluat și haustoriile terminali sau primari [41].

Există două ipoteze generale privind originea evolutivă a genelor care codifică funcțiile parazite la plante [55]:

- genele parazite au fost introduse într-un progenitor autotrofic prin transferul orizontal;
- genele parazite au fost generate de modificarea funcției genelor plantei neasociate parazitismului.

Este stabilit transferul orizontal de gene între microbi și plante [57], un exemplu elocvent fiind transferul ADNT de la bacterii la plante, drept consecință a infecției cu *Agrobacterium* - model utilizat cu succes în transgeneza vegetală [34, 16]. Un alt exemplu al transferului orizontal de gene în decursul evoluției este demonstrat prin existența la numeroase specii de *Plantago* a pseudogenei *atp1*, filogenetic înrudită cu gena omoloagă *atp1* din *Cuscuta*, care parazitează pe *Plantago* [33]. Davis C. și colaboratorii au raportat transferul orizontal de gene mitocondriale (*nad1* și *matR*) de la o plantă parazită la *Botrychium virginianum* (ferigă) [9]. Ulterior, prin analiza filogenetică a 102 specii de plante cu utilizarea a trei gene mitocondriale (*atp1*, *23cox1* și *matR*) au fost relevate multiple transferuri orizontale ale *atp1* de la gazdă la parazit, precum și corelații evidente dintre originea parazitismului la angiosperme și achiziția orizontală a intronului invaziv din grupul *cox1* [3].

Potrivit celei de a doua ipoteze, funcții noi ale genelor pot apărea în rezultatul duplicării genomurilor sau prin expresia ectopică a genelor cu promotori modificați [24]. Astfel, gena *DMI3* care codifică proteină chinază calmodulin-dependentă, necesară pentru formarea nodozităților la leguminoase a fost detectată inclusiv la orez și tutun, produsul genei având, probabil, funcție diferită la plantele leguminoase și cele neleguminoase [38].

Deși există argumente pentru ambele modele, datele curente confirmă, în special, modelul endogen de origine a genelor haustoriale. Analiza transcripturilor plantelor parazite exprimate la etapa de dezvoltare a haustoriului nu conțin secvențe similare celor de origine microbiană [48]. Mai mult ca atât, s-a constatat că genele omoloage funcțional din haustoriu au aceeași activitate ca și în plantele autotrofe. Se presupune că mutațiile din promotorii acestor gene în plantele parazite modifică activitatea

de transcripție, astfel încât expresia lor este în continuare indusă în rădăcini și după contactul cu gazda [55]. Acest model sugerează că originea și evoluția parazitismului la plante este asociată cu modificările în reglarea genelor plantelor, care tipic nu exercitau funcții asociate modului parazit de viață.

Factorii care asigură invazia parazitului

Actualmente în literatura de specialitate sunt bine descrise diferite aspecte ale ciclului vital la *Orobanchaceae* care include procese coordonate temporal și spațial la nivelul cărora planta-gazdă declanșează reacții de răspuns [54].

Capacitatea mare de infecție este determinată atât de dimensiunile foarte mici ale semințelor patogenilor, care pot fi ușor transportate de curenții de aer, apă la distanțe mari, cât și de capacitatea germinativă înaltă care se menține timp de 5-8 ani. În condiții favorabile (temperatura de 20°C și umiditate sporită a solului), după 1-2 săptămâni de condiționare semințele germinează, manifestând o reacție de chemotropism pentru rădăcinile plantei - gazdă [12].

Interacțiunea parazitului cu planta este asigurată de stimulenții de germinare care pot fi absolut sau relativ specifici, fapt demonstrat pe modele experimentale în care germinarea semințelor de parazit este indusă artificial în apropierea unei specii non-gazdă. Astfel, semințele de *Striga* germinează și în prezența exudatelor radiculare ale gazdelor nespecifice, spre exemplu bumbacul [8], porumbul [44] sau sorgul [20].

Patosistemul *O. cumana* – *H. annuus* se remarcă prin stimulenți de germinare specifici, reprezentați preponderent de compuși care nu aparțin clasei strigolactonelor (caracteristici *Orobanchaceae*). Primul stimulent de germinare identificat în exudatele radiculare ale florii-soarelui a fost lactona dehidrocoster din clasa sesquiterpenelor [22]. Recent s-a demonstrat că și alți compuși din această clasă pot induce germinarea *O. cumana* la concentrații nano- și micromolare: costunolide, tomentosină, 8-epixantatină [39]. Totuși, asemănător cu alte plante parazite, deși la o rată cu mult mai redusă, germinarea semințelor de *O. cumana* poate fi indusă și de strigolactone, spre exemplu heliolactona [50] și compusul sintetic GR24.

Rata producerii stimulenților de germinare depinde de parametrii mediului extern cum ar fi fertilitatea solului, pH, cantitatea de fosfați etc. La contactul cu rădăcina plantei gazde, din celulele apicale ale radicelei parazitului se formează haustoriul care asigură alimentarea parazitului cu apă și elemente nutritive [30]. Celulele acestei structuri cresc prin epidermă și cortexul plantei-gazdă, procesul fiind facilitat de producerea anumitor enzime, precum pectinmetilesteraze, poligalacturonaze, endocelulaze etc. [4, 32].

Pentru dezvoltarea haustorului este necesară prezența unei clase de factori eliminați de către planta-gazdă în rizosferă și anume a factorilor HIF (*Haustorial Initiation Factor*) care pot fi flavonoizi, ρ -hidroxi acizi, chinone, citochinine etc. [2]. Există diferențe calitative între factorii HIF exudați de gazde înalt înrudite sugerând că aceste semnale reprezintă determinanți importanți ai specificității.

Specificitatea interacțiunii gazdă-parazit este deseori polivalentă, în unele cazuri parazitul poate să germineze, dar nu formează haustori și nu se atașează, sau se atașează, însă nu se dezvoltă sau se dezvoltă doar parțial [46].

Cunoașterea fenomenelor morfologice și moleculare ce au loc la fiecare etapă pot elucidă bazele specificității interacțiunii, mecanismele de rezistență potențiale și, prin urmare, strategiile de ameliorare cu scopul conferirii rezistenței.

Reacții defensive ale plantelor la atacul *Orobanchaceae*

Plantele manifestă rezistență, toleranță sau susceptibilitate la atacul patogenilor prin diferite mecanisme fiziologice. Primele bariere de protecție constituie stratul de ceară de pe suprafața frunzelor, peretele celular și diferiți compuși chimici sintetizați de către plantă. După depășirea sistemului de apărare pasivă, patogenii stabilesc o relație parazitară cu plantele.

Actualmente, rămâne a fi necunoscut mecanismul prin care planta parazit evită barierele naturale și previne activarea reacțiilor defensive în sistemele compatibile. Mayer a sugerat două posibilități:

- similaritatea biochimică și fiziologică între parazit și gazdă, ambele fiind plante superioare;
- blocarea activă de către planta parazit a inducerii proceselor defensive ale gazdei [31].

Cercetătorii Joel și Portnoy au demonstrat că o gazdă susceptibilă recunoaște parazitul ca *non-self* [23]. Activarea proteinelor PR (*pathogenesis related*) și expresia genei 3-hidroxi-3-metilglutaril-CoA reductaza [56] sunt dovezi privind recunoașterea atacului nu doar de gazdele rezistente, dar și de cele compatibile, sugerând faptul că parazitul blochează activ răspunsurile defensive. Spre exemplu, compușii fenolici ai parazitului ar putea funcționa ca inhibitori ai reacțiilor de apărare ale gazdei. De asemenea, se cunoaște că plantele parazite interferează cu sinteza hormonilor gazdei alterând echilibrul hormonal și afectând răspunsul defensiv [23].

Plantele, ca răspuns la atacul patogenului, dezvoltă rezistență specifică și nespecifică pentru a preveni atașarea și expansiunea acestuia. Rezistența nespecifică prezintă un sistem de protecție durabil, multifactorial, la nivel morfologic, histologic și metabolic față de un spectru larg de rase ale patogenului, spre deosebire de cea specifică cu caracter restrâns și selectiv de acțiune [53]. S-a constatat, că la câteva ore de stabilire a interacțiunii gazdă-parazit, planta inițiază expresia unui set de gene de apărare atât la nivel local, cât și sistemic. Astfel, local de multe ori se declanșează un semnal sistemic, care transformă rezistența nespecifică în rezistența sistemică dobândită (*Systemic Acquired resistance - SAR*) [1].

Deși bazele moleculare ale rezistenței plantelor la paraziți rămân a fi neelucidate pe deplin, în literatura de specialitate au fost descrise câteva mecanisme de rezistență, grupate în două clase: *pre-haustoriale*, care previn pătrunderea haustorului în cilindrul central și *post-haustoriale* declanșate în cazul pătrunderii haustorului în cilindrul central [29].

Rezistența gazdei la speciile de antofite parazite se realizează printr-o serie de procese de fortificare a peretelui celular care implică peroxidaze, specii reactive de oxigen, proteine PR, sinteza de lignină, suber, compuși fenolici, caloză etc. Astfel, îngroșarea pereților celulari ca rezultat al lignificării, suberizării a fost demonstrată la floarea-soarelui parazitată de *O. cumana*, precum și la alte patosisteme. Prin experimente *in situ* s-a observat că la stoparea patogenelor în celule la nivelul cilindrului central, sporește fluorescența în țesuturile și vasele xilemice vecine, datorită concentrării compușilor fenolici toxici pentru parazit [15, 25].

În această ordine de idei, este remarcabil faptul că la trei specii de mazărice rezistente la *O. aegyptiaca*, atacul patogenilor a declanșat o creștere a conținutului

enzimei fenilalanin-amoniac liaza, care catalizează convertirea L-fenilalaninei în amoniac și acid trans-cinamic, etapă în biosinteza compușilor polifenolici, așa ca flavonoidele, fenipropanoizii și lignina, dar și a alcaloizilor [1, 19].

O altă reacție de apărare frecvent întâlnită, cuplată cu procesele de lignificare/suberificare reprezintă depozitarea calozei (β -1,3-glucan) în peretele celular, care împiedică pătrunderea parazitului spre vasele conducătoare, servind ca barieră mecanică. Astfel, Letousey și colaboratorii au constatat la genotipurile de floarea-soarelui rezistente la *O. cumana* fortificarea pereților celulari precedată de sporirea expresiei genei HaGLS1 care codifică sinteza calozei [27].

Rezistența poate apărea și după interconectarea cu succes a parazitului la sistemul vascular al gazdei și poate lua o varietate de forme. Blocarea canalelor conducătoare ale gazdei cu substanțe gelatinoase, lignificarea dependentă de peroxidaze, depozitarea mucilagiului și dezorganizarea haustorului au fost atestate ca făcând parte din cauzele necrozei și morții tuberculilor de *Orobanche* în dezvoltare [15, 25]. În fiecare din aceste cazuri, blocajul periclită eficient fluxul de apă și nutrienți de la gazdă la parazit prevenind supraviețuirea acestuia.

Un alt mecanism potențial atestat la *Striga hermonthica* este abioza – transferul compușilor toxici în sistemul vascular al gazdei cu scopul pătrunderii în țesuturile parazitului prin intermediul haustorului. Spre exemplu, când *Tripsacum dactyloides* este parazitat de *S. hermonthica*, parazitul face conexiune cu vasele xilemice ale gazdei și, deși nu există un blocaj al acestora, parazitul moare [18]. Transferul de toxine a fost raportat și între tuberculii de *O. crenata* și gazdele *Cicer arietinum* și *M. truncatula* [40].

Leziunile peretelui celular cauzate de atacul patogenilor determină sinteza fitoalexinelor - metaboliți secundari cu masă moleculară mică din clasa terpenoidelor, glicosteroidelor și alcaloizilor, polifenolilor cu spectru larg de inhibare a metabolismului patogenului. Toxicitatea acestor compuși se manifestă printr-o reacție hipersenzitivă, necroză și moartea ulterioară a parazitului. Fitoalexinele, scopoletina și aiapina produse de floarea-soarelui (cumarine 7-hidroxilate) au demonstrat efect inhibitor inclusiv asupra germinării semințelor de *O. cumana* [15, 25]. Acești compuși sunt eficienți în apărare doar dacă sunt produși rapid și în concentrații suficiente, întrucât plantele de *Orobanche* pot metaboliza fitoalexinele, fapt confirmat în cazul scopoletinei [43].

Cunoașterea naturii chimice a stimulenților sau a inhibitorilor de germinare prezintă interes pentru elaborarea strategiilor de rezistență bazate pe expresia redusă a stimulenților de germinare și utilizarea speciilor non-gazde sau a compușilor chimici care declanșează germinarea suicidală, astfel purificând solul de semințele patogenului [59].

Există numeroși metaboliți rezultați din calea fenilpropanoidă, cunoscuți ca inhibitori ai enzimelor pectin metilesteraze, poligalacturonaze și endocelulaze, dar nu și exocelulaze, β -glucozidaze sau xilanaze secretate de *Orobanche* pentru facilitarea expansiunii în organismul-gazdă. Studiile imunohistochemice *in situ* au demonstrat că pectin metilesterazele sunt prezente în celulele haustoriale ale *Orobanche* și în apoplastul celulelor din țesuturile adiacente [28].

Proteinele inhibitoare ale poligalacturonazei sunt bine cunoscute în asigurarea rezistenței plantelor superioare la fungi. Acestea sunt proteine bogate în leucină ale

peretelui celular, larg răspândite, care se atașează cu afinitate mare la poligalacturonaze inhibându-le. Mai mult ca atât, există date care atestă scăderea concentrației pectinelor metilate în lamela medie a gazdei în vecinătatea celulelor intruzive ale plantelor parazit. Inhibarea poligalacturonazei și a pectinmetilesterazei de către exudatele radulare reprezintă un factor de rezistență perfect, blocând procesul de invazie [10]. Sinteza peroxidazelor reprezintă un alt răspuns defensiv al plantelor la atacul patogenilor [1]. Utilizarea metodelor de cercetare SSH (*suppression-subtractive hybridization*) au permis identificarea unor gene ale peroxidazelor cu expresie activă indusă de atacul speciilor de *Orobanche* [52].

Acțiunea peroxidazelor și sinteza calozei sunt fenomene ce pot avea loc în tandem ca urmare a activării reacției de răspuns. Astfel, pe baza patosistemului *O. crenata* - *Pisum sativum* a fost demonstrată blocarea invaziei patogenului în cortexul gazdei înainte de pătrunderea în cilindrul central, atestându-se acumularea calozei, a peroxidazelor și a H_2O_2 în celulele învecinate. Autorii Perez-de-Luque et al. explică mecanismul de apărare prin reacțiile de *cross-linking* ce se petrec la nivelul peretelui celular [36].

Peroxidazele sunt, de asemenea, implicate în formarea papilelor, compuse prioritar din caloză și reziduuri fenolice, reprezentând un alt tip de fortificări ale peretelui celular [58].

Studiile de transcriptomică al sistemului *O. cumana* - *H. annuus* au relevat la câteva zile după atașarea parazitului și înainte de necroza tuberculului o expresie sporită a genei PR SA-responsive *Hade1*, care codifică o clasă de defensine ce reprezintă peptide mici cu rol în sistemul imun înăscut la plante. Expresia acestei gene a fost mai intensă în liniile rezistente, sugerând rolul de compus-cheie inductibil implicat în necroza parazitului [27]. Se consideră, că mecanismul de acțiune al defensinelor se bazează pe interacțiuni non-covalente cu sfingolipide sau glucosilceramide specifice, care duc la permeabilizarea membranelor țintă pentru ionii de K^+ , Ca^{2+} , cauzând inhibarea creșterii și, în final, apoptoza celulară [51]. Defensinele pot interacționa și cu alte ținte specifice, natura, funcția structurală sau metabolică și localizarea (perete celular, membrană sau citoplasmă) cărora rămâne a fi determinată.

Alt mecanism de protecție care împiedică pătrunderea haustorului în cortex și dezvoltarea ulterioară a plantei parazite este răspunsul hipersensibil (HR-*hipersensitive response*) sau fenomene similare acestuia, asociate cu moartea programată a celulelor infectate. Apariția unui răspuns hipersensibil care blochează invazia haustorală a *O. aegyptiaca* a fost descrisă la gazda *Vicia atropurpurea*, iar eșecul dezvoltării semințelor de *Orobanche* după atașare, urmat de necroza parazitului a fost observată la diferite specii de leguminoase și floarea-soarelui [15, 25, 37].

Studii comprehensive ale profilelor transcripționale asociate reacției defensive în sistemele *O. cumana* – floarea-soarelui și *O. crenata* – *Medicago truncatula* au relevat trei variante de ANDc puternic induse în genotipul rezistent la 8 zile de post infecție. Aceste gene potențial codifică enzimele metionin-sintaza, glutation S-transferaza și chinon-oxidoreductaza, implicate în detoxifierea speciilor reactive de oxigen (SRO) [7, 27]. În condiții de stres celulele plantelor produc o “explozie” de SRO constituită în special de H_2O_2 , care asigură activarea unui spectru divers de mecanisme de rezistență. SRO participă în semnalizarea celulară asociată cu inducerea expresiei genelor

răspunsului defensiv, răspunsului de hipersensibilitate, formarea legăturilor dintre proteine în cadrul peretelui celular, sinteza fitoalexinelor și enzimelor antioxidante, depunerea calozei, rezistența sistemică dobândită etc. [11, 47, 49].

Acidul salicilic (AS), acidul jasmonic (AJ) și etilena (ET) reprezintă reglatori hormonal importanți ai expresiei genelor de apărare. Într-un studiu detaliat combinatoric cu utilizarea a multipli mutații blocați la nivelul diferitelor căi de semnalizare, un grup de cercetători au identificat interacțiuni complexe sinergice între semnalizarea AS și AJ-ET amplificând răspunsul defensiv. În absența semnalizării AS, răspunsul AJ-ET contribuie la menținerea unui nivel substanțial al rezistenței la patogen [26].

Vieira Dos Santos et al. au examinat modificările în profilul de transcriere a 20 gene implicate în transducția semnalelor și răspunsul defensiv activat în timpul infectării *A. thaliana* de către *O. ramosa*, constatând inducerea căilor de semnalizare reglate de acidul jasmonic și etilenă, chiar și înainte de atașarea parazitului la rădăcină. Contrar, nu a fost observat nici un efect asupra expresiei genelor implicate în răspunsurile defensive mediate de acidul salicilic [52].

În concluzie, se poate afirma că mecanismele de apărare a plantelor la atacul antifitelor patogene sunt universale, caracterizate, în special, de următoarele tipuri de reacții defensive:

- formarea unei bariere fizice în calea penetrării haustorului prin depozitarea carbohidraților, fenolilor, suberului pe pereții celulari, lignificarea vaselor xilemice sau a endodermisului, formarea unui strat încapsulat pe parenchimul cortical;
- sinteza și secreția de către planta-gazdă a inhibitorilor de germinare și dezvoltare a paraziților, reducerea cantității stimulatoarelor de germinare;
- sinteza de către celulele rădăcinilor plantelor-gazdă a compușilor citotoxici (fenoli, fitoalexine) și transferul acestora prin intermediul sistemului vascular în organismul parazitului;
- moartea celulară programată ca parte a răspunsului hipersenzitiv la *situs*-ul de atașare și pătrundere a haustorului, limitând astfel, dezvoltarea parazitului și a conexiunilor vasculare cu gazda (xilem-xilem sau floem-floem);
- inducerea expresiei proteinelor PR;
- producerea formelor active de oxigen și sporirea activității unor enzime specifice;
- modificarea căilor de semnalizare fitohormonală, în special, cele mediate de acidul salicilic, acidul jasmonic, etilena etc.

Cunoașterea simptomatologiei și etiologiei bolilor la plante, patogenezei, relațiilor gazdă - agent patogen - condiții de mediu asigură succesul în elaborarea și aplicarea măsurilor de profilaxie și combatere a infecției și randamentul economic al recoltei.

Bibliografie

1. Al-Wakeel, S., Moubasher, H., Gabr, M., Madany, M. Induced systemic resistance: an innovative control method to manage branched broomrape (*Orobancha ramosa* L.) in tomato //IUFS Journal of Biology, 2013, 72(1), p. 9-21
2. Bandaranayake, P., Filappova, T., Tomilov, A., Tomilova, N., Jamison-McClung, D., Ngob, Q., Inoueb, K., Yoderb, J. A Single-Electron Reducing Quinone Oxidoreductase Is Necessary to Induce Haustorium Development in the Root Parasitic Plant *Triphysaria*[C][W] //The Plant Cell, 2010, vol. 22, no. 4, p. 1404-1419.

3. Barkman, T., Mcneal, J., Lim, S-H., Coat, G., Croom, H., Young, N. Mitochondrial DNA suggests at least 11 origins of parasitism in angiosperms and reveals genomic chimerism in parasitic plants. //BMC Evolutionary Biology, 2007, 7, p. 1-15.
4. Ben Hod, G., Losner, D., Joel, D., Mayer, A. Pectin methyl-esterase in calli and germinating seeds of *Orobanchae aegyptiaca*. //Phytochem, 1993, vol. 32, p. 1399–1402.
5. Bennett, J., Mathews, S. Phylogeny of the parasitic plant family *Orobanchaceae* inferred from phytochrome A. //American Journal of Botany. 2006; 93(7), p. 1039-1051.
6. Bernhard, R., Jensen J., Andreasen, C. Department of Agricultur Prediction of yield loss caused by *Orobanchae* spp. in carrot and pea crops based on the soil seedbank. //Weed Research, 1998, vol. 38, Issue 3, p. 191–197.
7. Chandra, S., Martin, G. B., Low, P. S. The Pto kinase mediates a signaling pathway leading to the oxidative burst in tomato. //Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America. 1996, 93(23), p. 13393–13397.
8. Cook, C., Whichard, L., Wall, M., Egley, G., Coggon, P., Luhan, P., McPhail, A. Germination stimulants. 2. The structure of strigol—a potent seed germination stimulant for witchweed (*Striga lutea* Lour.). //J Am Chem Soc, 1972, vol. 94, p. 6198–6199.
9. Davis, C., Anderson, W., Wurdack, K. Gene transfer from a parasitic flowering plant to a fern. //Proc Biol Sci, 2005, vol. 272(1578), p. 2237-2242.
10. DeLorenzo G, D'Ovidio R, Cervone F, The role of polygalacturonase-inhibiting proteins (PGIPs) in defence against pathogenic fungi. //Ann. Rev. Phytopathology, 2001, 39, p. 313-335.
11. Desikan, R., Soheila, A., Mackernes, H., Hancock, J.T., Neill, S.J. Regulation of the *Arabidopsis* transcriptome by oxidative stress. //Plant Physiol., 2001, 127, p. 159–172.
12. Duca, M., Glijin, A., Acciu. A. The biological cycle of broomrape (*Orobanchae cumana* Wallr.). //Journal of Plant Development, Iasi, 2013, vol. 20, p. 71-78.
13. Duca, M., Glijin, A.. The broomrape effect on some physical and mechanical properties of sunflower seeds. //Scientific Annals of „Alexandru Ioan Cuza” University of Iasi, Section II A, Vegetal Biology. 2013, vol.59, nr. 2, p. 75-83.
14. Duca, M., Pacureanu-Joita, M., Glijin, A. Effect of *Orobanchae cumana* Wallr. on fat content in different sunflower (*Helianthus annuus* L.) genotypes. //Proc. 2nd Int. Symp. Conserv. Plant Diversity. Chisinau, 2012, p. 96 - 102.
15. Echevarria-Zomeno, S., Perez-de-Luque, A., Jorriñ, J. Maldonado, A. Pre-haustorial resistance to broomrape (*Orobanchae cumana*) in sunflower (*Helianthus annuus*): cytochemical studies //Journal of Experimental Botany, 2006, Vol. 57, No. 15, p. 4189–4200.
16. Gelvin, S. Agrobacterium-Mediated Plant Transformation: the Biology behind the “Gene-Jockeying” Tool. //Microbiol Mol Biol Rev., 2003, vol. 67(1), p. 16–37.
17. Glijin, A. Influence of *Orobanchae cumana* Wallr. on protein content in different sunflower (*Helianthus annuus* L.) genotypes. //Botanical Journal, 2012, vol. 4, p. 84-89.
18. Gurney, A., Grimanelli, D., Kanampiu, F., Hoisington, D., Scholes, J., Press, M. Novel sources of resistance to *Striga hermonthica* in *Tripsacum dactyloides*, a wild relative of maize. //New Phytol, 2003, vol. 160, p. 557–568.
19. Hahlbrock, K., Grisebach, H. Enzymic controls in the biosynthesis of lignin and flavonoids //Annu. Rev. Plant Physiol., 1979. v. 30, p. 105-130.
20. Hauck, C., Muller, S., Schildknecht, H. A germination stimulant for parasitic flowering plants from Sorghum bicolor, a genuine host plant. //J Plant Physiol, 1992, vol. 139, p. 474–478.
21. Jiang, L., Wijeratne, A., Wijeratne, S., Fraga, M., Meulia, T., Doohan, D., Li, Z., Qu F. Profiling mRNAs of Two Cuscuta Species Reveals Possible Candidate Transcripts Shared by Parasitic Plants//PLOS one, 2013, 27, p. 1-9.

22. Joel, D., Chaudhuri, S., Plakhine, D., Ziadna, H., Steffens, J. Dehydrocostus lactone is exuded from sunflower roots and stimulates germination of the root parasite *Orobanche cumana*. //Phytochemistry, 2011, vol. 72, p. 624–634.
23. Joel, D., Portnoy, V. The angiospermous root parasite *Orobanche L. (Orobanchaceae)* induces expression of a pathogenesis related (PR) gene in susceptible tobacco roots. //Annals of Botany, 1998, vol. 81, p. 779–781.
24. Kaessmann, H. Origins, evolution, and phenotypic impact of new genes. //Genome Res., 2010, vol. 20(10), p. 1313–1326.
25. Labrousse, P., Arnaud, M. C., Serieys, H., Berville, A., Thalouarn, P. Several Mechanisms are Involved in Resistance of *Helianthus* to *Orobanche cumana* Wallr. //Annals of Botany, 2001, vol. 88, p.859-868.
26. Leon-Reyes, A., Spoel, S. H., De Lange, E. S., Abe, H., Kobayashi, M., Tsuda, S. Millenaar, F., Welschen, R., Ritsema, T., Pieterse, C. Ethylene modulates the role of nonexpressor of pathogenesis-related GENES1 in cross talk between salicylate and jasmonate signaling. //Plant Physiol., 2009, vol. 149, p. 1797–1809.
27. Letousey, P, de Zelicourt, 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. //Plant Pathol, 2007, vol. 56, p. 536–546
28. Losner-Goshen, D., Portnoy, V., Mayer, A., Joel, D. Pectolytic activity by the haustorium of the parasite plant *Orobanche L (Orobanchaceae)* in host roots. //Ann. Bot., 1998, 81, p. 319-326.
29. 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 //Front Plant Sci. 2016, vol. 7, p. 590.
30. Marzec, M., Muszynska, A., Gruszka, D. The Role of Strigolactones in Nutrient-Stress Responses in Plants //Int. J. Mol. Sci. 2013, vol. 14, p. 9286-9304.
31. Mayer, A. Pathogenesis by fungi and by parasitic plants: similarities and differences. //Phytoparasitica, 2006, vol. 34, p. 3–16.
32. Mitsumasu, K., Seto, Y., Yoshida, S. Apoplastic interactions between plants and plant root intruders //Front Plant Sci. 2015, vol. 6, p. 617.
33. Mower, J., Stefanovic, S., Young, G., Palmer, J. Gene transfer from parasitic to host plants. //Nature, 2004, vol. 432, p. 165–166.
34. Nester, E., Gordon, M., Kerr, A. *Agrobacterium tumefaciens*: from plant pathology to biotechnology. APS Press, 2005 St. Paul, MN, 320 p.
35. Parker, C. Observations on the current status of *Orobanche* and *Striga* problems worldwide. //Pest Manag. Sci., 2009, vol. 65, p. 453–459.
36. Perez-de-Luque, A., Gonzalez-Verdejo, C., Lozano, D., Dita, M., Cubero, J., Gonzalez-Melendi, P., Risuen, M., Rubiales D. Protein cross-linking, peroxidase and b-1,3-endoglucanase involved in resistance of pea against *Orobanche crenata*. //Journal of Experimental Botany, 2006, Vol. 57, No. 6, p. 1461–1469.
37. Pérez-De-Luque, A., Rubiales, D., Cubero, J., Press, M., Scholes, J., Yoneyama, K., Takeuchi, Y., Plakhine, D., Joel, D. Interaction between *Orobanche crenata* and its Host Legumes: Unsuccessful Haustorial Penetration and Necrosis of the Developing Parasite. //Ann Bot, 2005, vol. 95 (6), p. 935-942.
38. Raka, M., Cynthiam A., Anne, E., James, H., Giles, E., Sharon, R. A Ca²⁺/calmodulin-dependent protein kinase required for symbiotic nodule development: gene identification by transcript-based cloning //Proc Natl Acad Sci USA, 2004, vol. 101, p. 4701 – 4705
39. Raupp, F., Spring, O. New Sesquiterpene Lactones from Sunflower Root Exudate as Germination Stimulants for *Orobanche cumana*. //J. Agric. Food Chem., 2013, 61 (44), p 10481–10487.

40. Restuccia, A., Marchese, M., Mauromicale, G., Restuccia, G. Biological Characteristics and Control of *Orobanche Crenata* Forsk. a Review //Ital. J. Agron, 2009, vol. 1, p. 53-68
41. Riopel, J., Timko, M. Haustorial initiation and differentiation. //Parasitic Plants, 1995, p. 39-79.
42. Selvi, B., Kadamban, D. Studied on the parasitic plants of Pondicherry Engineering College Campus //Puducherry International Journal of Plant Sciences, 2009, vol. 4, nr. 2, p. 547-550
43. Serghini, K., Pérez de Luque, A., Castejón-Muñoz, M., García-Torres, L., Jorrín, J. Sunflower (*Helianthus annuus* L.) response to broomrape (*Orobanche cernua* Loefl.) parasitism: induced synthesis and excretion of 7-hydroxylated simple coumarins. //J. Exp. Bot., 2001, 52 (364), p. 2227-2234.
44. Siame, B., Weerasuriya, Y., Wood, K., Ejeta, G., Butler, L. Isolation of strigol, a germination stimulant for *Striga asiatica*, from host plants. //J Agric Food Chem, 1993, vol. 41, p. 1486-1491.
45. Teka, H.B. Advance research on *Striga* control: A review //African Journal of Plant Science, 2014, vol. 8(11), p. 492-506.
46. Thorogood, C., Hiscock, S. Specific developmental pathways underlie host specificity in the parasitic plant *Orobanche*. //Plant Signaling & Behavior, 2010, vol. 5(3), p. 275-277.
47. Torres, M. A., Jones, J. D. G., Dangl, J. Reactive Oxygen Species Signaling in Response to Pathogens. //Plant Physiol., 2006, vol. 141(2), p. 373-378.
48. Torres, M., Tomilov, A., Tomilova, N., Reagan, R., Yoder, J. Psroph, a parasitic plant EST database enriched for parasite associated transcripts. //BMC Plant Biol, 2005, 5:24, p. 1-9.
49. Tripathy, B. C., Oelmüller, R. Reactive oxygen species generation and signaling in plants. //Plant Signal Behav. //2012, vol. 7(12), p. 1621-1633.
50. Ueno, K., Furumoto, T., Umeda, S., Mizutani, M., Takikawa, H., Batchvarova, R., Sugimoto, Y. Heliolactone, a non-sesquiterpene lactone germination stimulant for root parasitic weeds from sunflower. //Phytochemistry. 2014, vol. 108, p. 122-130
51. Van der Weerden, N., Anderson, M. Plant defensins: Common fold, multiple functions. //Fungal biology reviews, 2013, vol. 26, p. 121-131. Goldwasser, Y., Kleifeld, Y., Plakhine, D., Rubin, B. Variation in vetch (*Vicia* spp.) response to *Orobanche aegyptiaca*. //Weed Science, 1997, vol. 45, p. 756-762.
52. Vieira Dos Santos, C., Delavault, P., Letousey, P., Thalouarn, P. Identification by suppression subtractive hybridization and expression analysis of *Arabidopsis thaliana* putative defence genes during *Orobanche ramose* infection. //Physiological and Molecular Plant Pathology, 2003, vol. 62, p. 297-303.
53. Vrânceanu, A.V., Floarea-soarelui hibridă (Hybrid Sunflower). Ed Ceres, București: 2000, p. 455-456.
54. Walker, T., Bais, H., Grotewold, E., Vivanco, J. Root Exudation and Rhizosphere Biology //Plant Physiology, 2003 vol. 132 no. 1, p. 44-51.
55. Westwood, J., Yoder, J., Timko, M., de Pamphilis, C. The evolution of parasitism in plants. //Trends Plant Sci., 2010, -V. 15, p. 227-235.
56. Westwood, J., Yu, X., Foy, C., Cramer, C. Expression of a defense-related 3-hydroxy-3-methylglutaryl CoA reductase gene in response to parasitization by *Orobanche* spp. //Mol Plant Microbe Interact, 1998, vol. 11, p. 530-536.
57. Yoshida, S., Maruyama, S., Nozaki, H., Shirasu, K. Horizontal gene transfer by the parasitic plant *Striga hermonthica*. //Science, 2010, vol. 328, p. 1128
58. Zeyen, R. J., Carver, T. L. W., Lyngkjaer, M. F. Epidermal cell papillae. *The Powdery Mildews: A Comprehensive Treatise*, eds Belanger R. R., Buschnell W. R., Dik A. J., Carver T. L. W., editors. (St. Paul, MN: APS Press;), 2002, p. 107-125
59. Zwanenburg, B., Mwakaboko, A., Kannan, C. Suicidal germination for parasitic weed control. //Pest Manag Sci, 2016, p. 2-10.