

A R G U M E N T A R E A
direcției științifice,
prezentată de membrul corespondent al AȘM,
profesor universitar Maria Duca

Creșterea și dezvoltarea plantelor se realizează în condiții fluctuabile de mediu, fiind influențate de stresul biotic și abiotic. Aceste procese sînt determinate de multiple interacțiuni dinamice - lineare și nonlineare - între elementele, care formează matricea structurală și baza funcțională a organismelor (ADN, ARN, proteine, metaboliți, organite, celule, țesuturi, organe, etc.). Din aceste considerente o prioritate strategică a științei biologice moderne reprezintă investigațiile sistemice, care ar permite identificarea conexiunii dintre factorii ereditari nucleari și extranucleari, identificarea expresiei genelor la diverse niveluri de organizare a materiei vii, precum și elucidarea unor noi aspecte moleculare ale fenomenelor biologice generale.

Această strategie integrativă, precum și asocierea investigațiilor fundamentale cu cele aplicative, a stat la baza cercetărilor noastre. Valorificînd o abordare multidisciplinară și diversificînd de la an la an metodele de cercetare am încercat să organizăm și efectuăm studii în diverse direcții științifice, ce țin de domeniul geneticii fiziologice al plantelor.

Conceptul investigațiilor științifice vizează analiza diferitor sisteme model în cadrul cărora genele determină caractere biologice și economice valoroase, inclusiv sistemul ASC-Rf, linii izogene, fenocopii plante modificate genetic, intercțiunea gazdă-parazit, etc în scopul elucidării mecanismelor polivalente de inducere și expresie fenotipică a genelor sub influența factorilor endo- și exogeni.

Pentru înțelegerea succesiunii de fenomene, care se produce pe parcursul expresiei diferențiate și realizării fenotipice a genelor, metodologia de cercetare în cadrul fiecărui sistem s-a axat pe:

- caracterizarea polimorfismului genetic al sistemelor model (*RAPD, SSR, AFLP, etc.*)
- identificarea genelor, care formează aceste sisteme model (*analize hibridologice, bioinformatică și moleculare, PCR cu primeri specifici, CAPS-PCR, secvențiere*)
- elucidarea tipului de moștenire (*scheme dialele de analize, topcross-uri și bakcross-uri*)
- expresia genelor nucleare și mitocondriale prin analiza acestora la nivel de transcripti (RT-PCR, qPCR, Northern Blot, Southern Blot, BLAST) și proteine (*electroforeză, cromatografie lichidă, Western Blot, tehnologii chip*)
- relevarea mecanismelor de interacțiune a căilor metabolice și identificarea rețelelor de gene implicate în exteriorizarea factorilor ereditari (*analiza in silico a genelor, instrumente bioinformatică*)
- elucidarea mecanismelor fiziologo-biochimice de realizare fenotipică a factorilor ereditari (*prin metode de cromatografie, spectrofotometrie, tehnologii chip*)
- analiza fenotipică a caracterelor, determinate de gene concrete (*fenologie, fenotipare, morfologie*) la nivel organismic.

Strategia cercetărilor conturată pe parcursul anilor stă la baza studiilor efectuate în cadrul a patru direcții de cercetare dezvoltate de noi:

- **Gene și rețele de gene implicate în transducția semnalelor *in silico***, care are drept scop studiul diferitor procese metabolice în baza plantelor cu genom secvențiat;
- **Semnalizarea retro- și anterogradă**, investigată în baza sistemului model ASC-Rf și ASI la floarea – soarelui cu scopul elucidării mecanismelor de interacțiune nucleu-mitocondrii;
- **Particularitățile fiziologice și biochimice ale răspunsului defensiv în sistemul *H. annuus L.* și *O. cumanna Wallr.*** în scopul identificării unor aspecte privind mecanismele rezistenței specifice, nespecifice și sistemice;
- **Polimorfismul genetic al plantelor medicinale din flora spontană a RM**, direcție realizată cu scopul identificării produșilor metabolic activi.

Investigațiile efectuate conform acestei strategii ne-au permis să identificăm variabilitatea genetică a materialului utilizat în cercetări. Evaluarea polimorfismului proteic și molecular în cadrul genofondului de floarea-soarelui a contribuit la evidențierea unor particularități specifice de moștenire a spectrelor proteice

și ampliconilor ADN în baza similarității genetice, distanței genetice și frecvenței locilor și relevarea unor noi argumente în suportul teoriilor dominanței și codominanței heterozisului. Clusterizarea genotipurilor după spectrele produselor RAPD și proteinelor ne-a permis să stabilim indicii favorabili și strategia de selectare a liniilor după capacitatea combinativă și să pronosticăm efectul de heterozis.

Cercetările fundamentale ce țin de relevarea caracterului de moștenire și expresie a genelor au permis identificarea și caracterizarea fenotipică și genetică a două tipuri de ASC – ASC₁ (lenticularis) și ASC_p (petiolaris). Au fost evidențiate 2-3 gene nealele Rf, care interacționează complementar sau după tipul polimeriei cumulative și o genă nouă - Rf₁, cu expresie specifică în ASC₁. Pentru prima dată a fost constatată moștenirea independentă a genelor restauratoare de fertilitate și a genelor care conferă culoarea antocianică, rezultatele servind la cartarea acestora în grupele de linkage.

Prin analize moleculare au fost identificate genele *orf H 522*, metoda fiind propusă pentru determinarea purității genetice a liniilor cu ASC, gena *Rf₁*, care prin digestie cu endonucleaza *HinfI* permite identificarea stării dominante homo- și heterozigotă și deci - selectarea genotipurilor heterozigote. Tot prin PCR au fost identificate și alogenele *bar*, ce determină rezistența la erbicide, *CsLFY*, asociată cu precocitatea la plantele transgenice – ambele caractere agronomice importante și *Or₅*, care conferă rezistență la rasa E de lupoaie.

Analiza structurală a produsului de amplificare de 650 pb a relevat o similaritate de 100% a acestora la toate genotipurile analizate, ceea ce denotă caracterul filogenetic conservativ al fragmentului genomic studiat. Procesarea secvenței în bazele de date ne-a permis să constatăm o similaritatea de 86% cu gena ce codifică precursorul proteinei inhibitor a enzimei poligalacturonaza (PIPG), care inhibă poligalacturonazele secretate de parazit și astfel blochează pătrunderea haustoriilor lupoaiei printre celulele epidermale și cortexul plantei-gazdă după atașarea semințelor de *O. cumana Wallr.*, astfel fiind demonstrat rolul funcțional al genei evidențiate.

În aceeași ordine de idei s-a constatat că cel mai frecvent producții de expresie a genelor Rf cu motive specifice de recunoaștere, contribuie la destabilizarea transcriptul mitocondrial ASC, astfel anihilând întreaga cale metabolică pe care o declanșează genele mitocondriale, conducând spre apoptoza celulară. ALDH, asociată cu genele Rf participă deja la acest nivel în interacțiune, detoxificând aldehida acetică, care se acumulează drept rezultat al activizării proceselor catabolice și intensificării glicolizei pe fundalul mitocondriilor lezați.

S-a constatat, că pentru sistemele ASC-Rf la diverse specii de plante proteinele asociate cu genele restauratoare de fertilitate posedă domene strict noncitoplasmatică în timp ce proteinele asociate cu ASC - domene noncitoplasmatică, transmembranare și citoplasmatică. Aceste date au confirmat rezultatele obținute de noi anterior prin care am pus în evidență proteina 16kDa și au stabilit un nivel mai înalt în fracția mitocondrială comparativ cu cea citoplasmatică.

A fost elaborat un concept nou, conform căruia fenomenele de androsterilitate/androfertilitate la floarea-soarelui sunt determinate de raportul AIA/AG₃, rolul primordial revenind giberelinelor. Prin identificarea, la aplicarea giberelinelor, unui nou cadru de citire (*orf*) cu o omologie de 99-100% cu gena mitocondrială *orfH522* și sinteza *de novo* a proteinei 16 kDa, corelată cu ASC la floarea-soarelui, a fost pusă în evidență similaritatea structurală și funcțională (la nivel morfologic, fiziologic, biochimic și genetic, inclusiv la nivel de transcripție și translație) a ASC și ASI.

Rezultatele cercetărilor au fost expuse în 293 lucrări științifice, publicate în reviste de prestigiu, inclusiv 9 monografii și manuale și 25 de lucrări didactico-științifice, etc. Aceste cercetări au servit drept bază pentru susținerea a 11 teze de doctorat la fiziologia plantelor, biochimie și genetică și au contribuit la formarea școlii științifice în domeniul Geneticii fiziologice. Majoritatea realizărilor sunt implementate în procesul de instruire a studenților, în cercetare și în procesul de ameliorare.

Pe parcursul activității au fost obținute nouă brevete de invenții și șapte hibrizi de floarea-soarelui, dintre care - patru omologați în Republica Moldova, Ucraina, Federația Rusă și Republica Belarusi.

Rezultatele investigațiilor au contribuit la promovarea în continuare a noii direcții, care ține de studiul sistemic - fundamental și aplicativ al plantelor - cercetări ce vizează și aduc o nouă contribuție la dezvoltarea domeniului **Genetica fiziologică**.