

DOI: 10.5281/zenodo.3893057

CZU: 633.854.78:631.526.323

## RELAȚIA DINTRE DISTANȚA GENETICĂ ȘI DISTANȚA GEOGRAFICĂ LA UNELE POPULAȚII DE *OROBANCHE CUMANA* WALLR. DIN REPUBLICA MOLDOVA

Steliana CLAPCO, Rodica MARTEA, Maria DUCA

**Abstract.** The paper presents the results of the analysis of relationship between genetic distance and geographical distance in different broomrape populations (*Orobanche cumana*) - a rhizopathogen specific for sunflower that essentially affects the production of this important oil crop. Thirty-nine broomrape populations collected from different regions of the Republic of Moldova and belonging to different races ( $\leq$  E, F, G and H) have been included in the study. Correlative analysis of the data with reference to the genetic distance calculated based on the results of fingerprinting with SSR (*Simple Sequence Repeats*) and ISSR (*Inter Simple Sequence Repeats*) markers and to the geographical distance suggested that no correlation exists between these two parameters. The matrix of genetic distances was used as input for a principal coordinate analysis (PCoA). The PCoA revealed a more clear grouping of populations from the same region in the case of ISSR analysis, the main part of populations from central and southern part of the country being grouped into two clusters, regardless of their race.

**Key words:** Broomrape; Genetic distance; Geographic distance; SSR markers; ISSR markers.

**Rezumat.** Lucrarea prezintă rezultatele unui studiu destinat analizei relației dintre distanța genetică și distanța geografică la diverse populații de lupoaie (*Orobanche cumana*) – un rizopatogen specific culturii de floarea-soarelui, care afectează esențial producția acestei plante oleaginoase importante. Investigația a inclus 39 de populații de lupoaie provenite din diverse regiuni ale Republicii Moldova și aparținând diferitor rase ( $\leq$  E, F, G și H). Analiza corelativă a datelor cu referire la distanța genetică calculată în baza rezultatelor amprentării cu markeri SSR (*Simple Sequence Repeats*) și ISSR (*Inter Simple Sequence Repeats*) și a distanței geografice a pus în evidență absența corelațiilor semnificative dintre acești doi parametri. Analiza coordonatelor principale (PCoA), realizată în baza matricei distanțelor genetice, a relevat o grupare mai certă a populațiilor din aceeași regiune în cazul analizei cu markeri ISSR, populațiile provenite din partea centrală și de sud a țării, cu unele excepții, fiind grupate în două clustere distincte, indiferent de apartenența rasială.

**Cuvinte-cheie:** Lupoaie; Distanță genetică; Distanță geografică; Marcheri SSR; Marcheri ISSR.

### INTRODUCERE

În ultimii ani se constată o evoluție rapidă a raselor de lupoaie (*Orobanche cumana*) – un rizopatogen specific culturii de floarea-soarelui, care afectează esențial producția acestei plante practic în toate țările cultivate (Duca, M. 2015; Molinero-Ruiz, L. et al. 2015). Înțelegerea mecanismului de apariție a raselor necesită o cunoaștere mai profundă a structurii genetice și dinamicii populațiilor de lupoaie, studiile de acest tip fiind, însă, foarte limitate. Instrumente fiabile pentru astfel de cercetări sunt marcherii moleculari, care oferă rezultate precise în termene restrânse.

Analiza diversității genetice a 8 populații de lupoaie de origine diferită (Bulgaria, România, Turcia, Spania), cu implicarea marcherilor RAPD, a relevat existența a două fonduri de gene incluzând populațiile din Europa de Est și, respectiv, pe cele din Spania, precum și divergențe esențiale între nivelul diversității genetice intra- și interpopulaționale (Gagne, G. et al. 1998), atribuite faptului că lupoaia este o plantă autogamă (Satovic, Z. et al. 2009). Existența a două grupuri distincte de gene a fost raportată și cu referire la *O. cumana* din Tunisia (Jebri, M. et al. 2017). Un nivel înalt al diversității intrapopulaționale a fost stabilit, cu utilizarea marcherilor SSR, în cazul lupoaiei provenite din Rusia și Kazahstan (Guchetl, S. et al. 2014).

Recent, în Spania a fost constatată existența a două fonduri de gene îndepărtate genetic și caracterizate prin variabilitate intra- și interpopulațională semnificativ scăzută (Pineda-Martos, R. et al. 2014). Totodată, un șir de populații au prezentat o diversitate genetică mai înaltă, explicată prin prezența indivizilor din ambele fonduri de gene și a încrucișărilor dintre aceștia. Astfel, s-a stabilit că *O. cumana* nu este strict autogamă, într-o oarecare măsură realizându-se și polenizarea încrucișată. Datele au fost confirmate prin experiențe efectuate cu utilizarea unor forme mutante ale parazitului, lipsite de pigmentație antocianică (Rodríguez-Ojeda, M. et al. 2013).

De rând cu sistemul de încrucișare, un impact esențial asupra structurii genetice a populațiilor îl exercită condițiile geografice și climatice variabile, urmate de acțiunea selecției naturale (Jump,

A. et al. 2009). Un factor important ce împiedică fluxul genic și promovează diferențierea genetică intrapopulațională este considerată și distanța geografică (Kuss, P. et al. 2008), similitudinea genetică scăzând odată cu creșterea acesteia.

Ținând cont de cele expuse, în vederea elucidării diversității genetice a populațiilor de *O. cumana* de pe teritoriul Republicii Moldova, precum și a unor aspecte ale mecanismului de evoluție a raselor, scopul prezentei lucrări constă în analiza relației dintre distanța genetică și distanța geografică la diverse populații de lupoae.

## MATERIALE ȘI METODE

Studiul a inclus analiza integrativă a profilelor moleculare, generate de markerii SSR (*Simple Sequence Repeats*) și ISSR (*Inter Simple Sequence Repeats*), a 39 de populații de lupoae provenite din diverse regiuni ale Republicii Moldova și aparținând diferitor rase ( $\leq$  E, F, G și H), conform figurii 1 (Duca, M. et al. 2017b; Duca, M. et al. 2019).

Zonă	Localitate	Notarea convențională a populațiilor	Coordonate		
			Latitudine N	Longitudine E	
NORD	1. Dondușeni	NE1	48.228892	27.613299	
	2. Soroca	NF2	47.579726	28.362788	
	3. Bălți	NG3	48.104989	28.192428	
	4. Prepeleța	NH4	47.780884	27.849793	
CENTRU	5. Băcioi	CE1	46.915182	28.916058	
	6. Brânceni Noi	CE2	47.373933	28.294544	
	7. Buțeni	CE3	46.852859	28.621420	
	8. Căzănești	CE4	47.381411	28.292311	
	9. Chișinău	CE5	46.575126	28.532648	
	10. Floreni	CE6	46.954296	28.962104	
	11. Fundul Galbenei	CE7	46.881300	28.623780	
	12. Holercani	CE8	47.323136	29.054021	
	13. Izbiște	CE9	47.201635	29.078819	
	14. Sângera	CE10	46.888354	28.982607	
	15. Rassvet	CF11	47.204661	28.425010	
	16. Costuleni	CG12	47.097199	27.894386	
	17. Frăsănești	CG13	47.036199	28.034449	
	18. Verejeni	CG14	47.334185	28.261061	
	19. Ciocâltei	CH15	47.303564	28.373435	
	20. Sărata Mare	CH16	46.774406	28.524220	
	SUD	21. Căzâncic	SE1	46.513600	28.417823
		22. Cimișlia	SE2	46.530926	28.786454
		23. Crihana Veche	SE3	45.834656	28.206904
24. Carabetovca		SF4	46.415016	28.887975	
25. Grigorievca		SF5	46.694832	29.342701	
26. Slobozia Mare		SF6	45.622433	28.312738	
27. Ștefan-Vodă		SF7	46.495555	29.684809	
28. Beșalma		SG8	46.172859	28.648532	
29. Chirsova		SG9	46.152590	28.396450	
30. Ciadâr-Lunga		SG10	46.067189	28.790938	
31. Gura Galbenei		SG11	46.713128	28.671418	
32. Manta		SG12	45.792166	28.245798	
33. Talmaza		SG13	46.627920	29.685250	
34. Alexanderfeld		SH14	45.806667	28.427778	
35. Congaz		SH15	46.126402	28.563278	
36. Corten		SH16	46.031638	28.718046	
37. Ermoclia		SH17	46.333956	23.374065	
38. Svetlăi		SH18	46.228000	28.334264	
39. Taraclia		SH19	45.532478	28.351192	

Figura 1. Locațiile geografice și coordonatele a 39 de populații de *O. cumana* studiate

\*Populațiile din diferite rase și regiuni sunt indicate pe hartă după cum urmează: albastru – rasa E; verde – rasa F; oran – rasa G; roșu – rasa H; N – regiunea Nord, C – regiunea Centru, S – regiunea Sud.

Distanța genetică (DG) dintre populațiile evaluate s-a determinat după Nei (Nei, M. 1978), în baza indicelui de similaritate Jaccard, conform formulei:  $DG = -\ln(SG)$ . Matricea DG a fost utilizată pentru analiza coordonatelor principale (PCoA). PCoA a fost realizată în programul XLSTAT, versiunea 2018.1. De asemenea, pentru fiecare combinație posibilă de populații, în conformitate cu coordonatele locului de colectare a probelor (latitudine/longitudine) a fost calculată distanța geografică în kilometri, cu aplicarea calculatorului online (<https://www.nhc.noaa.gov/gccalc.shtml>).

## REZULTATE ȘI DISCUȚII

Una dintre abordările utilizate în studiile diversității genetice inter- și intrapopulaționale se bazează pe comparația genotipurilor individuale și construcția unei matrice de similaritate/disimilaritate genetică (Kosman, E. et al. 2005). În acest scop sunt utilizați markerii moleculari dominanți, de tipul RAPD și ISSR (Benharrat, H. et al. 2002; Ciuca, M. et al. 2004), precum și markerii SSR, cărora li se acordă prioritate în ultimul timp datorită avantajelor oferite – moștenirea codominantă, numărul multiplu de alele și gradul înalt de polimorfism (Bilgen, B. et al. 2019; Martin-Sanz, et al. 2016; Pineda-Martos, R. et al. 2013, 2014). Markerii SSR și ISSR au fost utilizați inclusiv pentru studiul diversității populațiilor de *O. cumana* de pe teritoriul Republicii Moldova (Duca, M. et al. 2017b; Duca, M. et al. 2019), unde patogenul a fost detectat încă la sfârșitul secolului XIX, dezvoltând rapid rase noi, astfel încât, actualmente, pe câmpurile din țară sunt prezente toate rasele cunoscute, inclusiv cele mai virulente (G și H) (Duca, M., 2015; Duca, M. et al. 2017a).

Analiza amprentelor moleculare, obținute cu utilizarea a 12 markeri SSR (Duca, M. et al. 2017b) și 13 ISSR (Duca, M. et al. 2019), a relevat particularități moleculare comune sau asemănătoare, dar și divergențe genetice între cele 39 de populații de *Orobancha cumana* colectate din diferite localități ale Republicii Moldova. Astfel, distanța genetică, care relevă gradul de înrudire (similaritate/disimilaritate), fiind un indicator util pentru reconstrucția istoriei populațiilor și înțelegerea originii biodiversității, a demonstrat valori cuprinse între 0,16-0,75 și, respectiv, 0,17-0,81 (tabelul 1). Aceste date sugerează că printre populațiile studiate se întâlnesc grupuri cu multe gene similare, cu distanțe genetice mici, fiind strâns legate și/sau având un strămoș comun recent, precum și populații cu o structură genetică distantă. De remarcat că distanța geografică minimă dintre combinațiile populațiilor de lupoaie a constituit 45 km, iar cea maximă – 189 km.

În baza datelor obținute cu markerii SSR, cele mai variabile valori ale distanței genetice au fost detectate în regiunea de Sud (DG=0,16-0,75) și centrală a țării (DG=0,27-0,73). La populațiile din partea de Nord, indicii dați variază nesemnificativ, ceea ce este evident, ținând cont de numărul redus de populații analizate din această regiune. Cele mai mari valori ale distanței genetice (DG=0,75) s-au constatat la populațiile SE1-SF7 (Cazangic – Ștefan-Vodă) și SF6-CF11 (Gura Galbenei – Rassvet), aparținând raselor E și F. Valorile maxime ale distanței genetice în regiunea de Nord (0,63) și Centru (0,73) au fost constatate pentru populațiile NF2-NG3 (Soroca și Bălți) și CG12-CF11 (Rassvet și Costuleni), iar în partea de Sud – între SE1-SF7 (Cazangic și Ștefan-Vodă).

**Tabelul 1.** Distanța genetică și geografică a populațiilor de lupoaie de pe teritoriul Republicii Moldova (în funcție de regiunea de proveniență)

	Populații	Distanță maximă		Populații	Distanță minimă		Media
		Genetică	Geografică, km		Genetică	Geografică, km	
<b>NORD</b>							
<b>SSR</b>	NF2-NG3	0,63	60	NF2-NH4	0,46	44	0,53
<b>ISSR</b>	NF2-NG3	0,58	60	NE1-NH4	0,37	53	0,45
<b>CENTRU</b>							
<b>SSR</b>	CG12-CF11	0,73	42	CE2-CE6	0,27	69	0,46
<b>ISSR</b>	CE2-CE7	0,52	60	CE7-CH16	0,22	95	0,39
<b>SUD</b>							
<b>SSR</b>	SE1-SF7	0,75	97	SG10-SH19	0,16	68	0,48
<b>ISSR</b>	SG12-SG8	0,76	98	SG13-SF7	0,21	48	0,45
<b>TOATE POPULAȚIILE</b>							
<b>SSR</b>	CF11-SF6 SE1-SF7	0,75	124	SG10-SH19	0,16	68	0,49
<b>ISSR</b>	NH4-SG8	0,81	189	NF2- SH16	0,17	174	0,45

La analiza per ansamblu a populațiilor de lupoaie, cele mai mici valori ale distanței genetice și, respectiv, cel mai înalt grad de similaritate, au fost constatate între probele SG10-SH19 ( $DG=0,16$ ), colectate din Ciadâr-Lunga și Taraclia, precum și la CH15-SG13, CH16-SH15, SF4-SG9 ( $DG=0,21-0,25$ ). Pe regiuni, valorile minime se constată la următoarele grupuri de populații – NF2-NH4 (Nord), CE2-CE6 (Centru) și, respectiv, SG10-SH19 (Sud).

În mod similar, rezultatele analizei populațiilor de lupoaie cu utilizarea markerilor ISSR denotă faptul că distanța genetică a variat de la 0,17 până la 0,81 pentru NF2-SH17 (Soroca – Ermoclia) și, respectiv, pentru NH4-SG8 (Prepeșița – Beșalma). În funcție de poziția geografică, populațiile au prezentat valori minime ale distanței genetice în cazul combinațiilor NE1-NH4 ( $DG=0,37$ ), CE7-CH16 ( $DG=0,22$ ) și SG13-SF7 ( $DG=0,21$ ), iar valori maxime – în cazul NF2-NG3 ( $DG=0,58$ ), CE2-CE7 ( $DG=0,39$ ) și SG12-SG8 (0,76).

S-a constatat că, pentru ambele tipuri de markeri utilizați, nu a existat o diferență esențială între valorile medii ale distanței genetice între populații per ansamblu ( $DG=0,49$  în cazul SSR și  $DG=0,45$  în cazul ISSR), și nici pentru plantele colectate din regiunea de Sud ( $DG=0,48$  și  $DG=0,45$ , respectiv), distincții mai evidente fiind relevate în cazul probelor din Nord ( $DG=0,53$  și  $DG=0,45$ ) și Centru ( $DG=0,46$  și  $DG=0,39$ ). Dintre toate perechile de populații (740 de variante), majoritatea au prezentat valori ale distanței genetice mai mici sau egale cu 0,5, ponderea acestora fiind mai înaltă în cazul analizei cu markeri ISSR, comparativ cu markerii SSR. Astfel, la amprentarea SSR, indici mai mici de 0,5 au fost relevați în 56% de cazuri, pe când la analiza ISSR acest indicator a fost de 76%. La analiza populațiilor per regiuni, cele mai mari diferențe între ponderea combinațiilor cu valori mai mici sau egale cu 0,5 au fost stabilite în zona de Nord, constituind 33% și, respectiv, 100% în cazul markerilor SSR și ISSR, și în zona de Sud – cu 70% și, respectiv, 98%. În regiunea centrală diferența este de doar 10%, ponderea combinațiilor fiind de 64% la analiza SSR și de 74% la analiza ISSR.

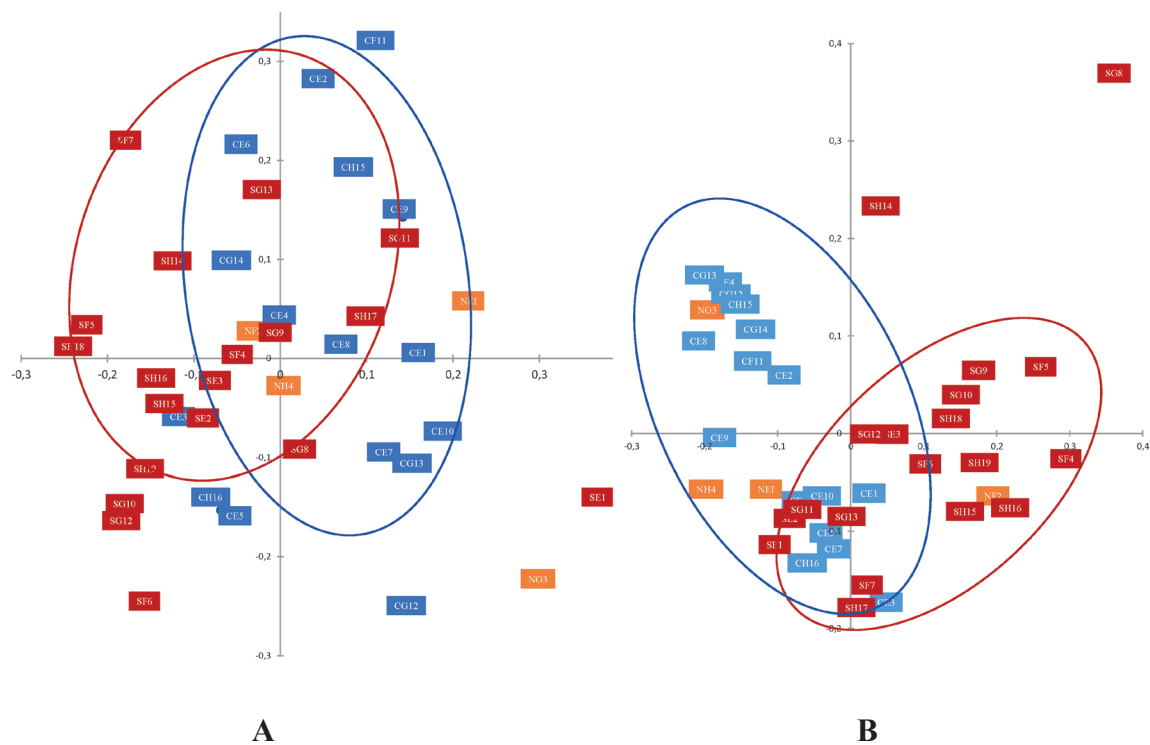
Analizând lotul integral de populații de lupoaie colectate de pe teritoriul Republicii Moldova, s-a constatat că, în cazul amprentării SSR, cele mai distanțate din punct de vedere genetic ( $DG=0,73-0,75$ ) sunt probele colectate în partea de Sud a țării: SE1-SF7 (Cazangic – Ștefan-Vodă); SF6-CF11 (Gura Galbenei – Rassvet), SE1-SH18 (Cazangic – Svetlâi), SF6-SG11 (Slobozia Mare – Gura Galbenei), SF6-SG11 (Slobozia Mare – Gura Galbenei), SE1-SF6 (Cazangic – Slobozia Mare), deși acestea sunt amplasate în aceeași regiune, iar distanța geografică dintre ele nu este atât de mare, variind între 32-124 km. O tendință similară este observată inclusiv la analiza datelor per regiune. Astfel, distanța geografică dintre populațiile cu cele mai mari valori ale distanței genetice constituie 60 km la probele din Nord, 42 km la cele din Centru și 97 km la cele din Sud. Valorile menționate nu se deosebesc esențial de cele remarcate la combinațiile care sunt cele mai apropiate din punct de vedere genetic. În acest context, distanța dintre probele care au marcat cele mai mici valori ale distanței genetice este cuprinsă între 68-125 km.

Un tablou diferit s-a conturat în cazul amprentării ISSR, cele mai mari distanțe genetice ( $DG=0,78-0,81$ ) fiind constatate la combinațiile dintre diverse populații de lupoaie din regiunea de Sud cu probe din Nord (NE1-SG8; NG3-SG8; NH4-SG8) și Centru (CE9-SG8), distanțate semnificativ, inclusiv geografic (119-241 km). Totodată, unele populații, deși sunt, practic, la fel de distanțate genetic ( $DG=0,74-0,76$ ), sunt localizate la distanțe fizice de 32-99 km. Distanțele geografice sunt destul de mari și în cazul majorității combinațiilor ce au prezentat valori minime ale distanței genetice (0,17-0,23). Astfel, distanța geografică la populațiile NF2-SH16 (Soroca – Corten), CE3-SH17 (Bușeni – Ermoclia), CH16-SH17 (Sarata-Mereșeni – Ermoclia), SE2-SH17 (Cimișlia – Ermoclia), SF7-SH17 (Ștefan-Vodă – Ermoclia) variază între 174-484 km. În cazul unor combinații, atât distanța genetică, cât și cea geografică prezintă valori minime, constituind 0,22-0,23 și, respectiv, 6-43 km.

Datele analizei coordonatelor principale (PCoA), generate în baza amprentelor moleculare, prezentate în figura 2, pun în evidență diferențele esențiale dintre populații, acestea fiind dispersate pe grafic într-un spațiu bidimensional, și relevă gruparea preferențială a populațiilor amplasate în aceeași regiune geografică.

În reprezentarea grafică generată în baza matricelor de date SSR (figura 2A), cele mai distanțate și dispersate spațial sunt populațiile din Rassvet (CF11), Costuleni (CG12), Cazangic (SE1), Slobozia Mare (SF6), Ștefan-Vodă (SF7), Gura Galbenei (SG11), Ermoclia (SH17), din Sudul și Centrul țării, precum și probele colectate din localitatea Bălți (NG3), regiunea de Nord. Populațiile menționate se caracterizează prin cel mai înalt nivel de disimilaritate față de celelalte populații, iar diverse combinații ale acestora cu populații provenite din alte localități prezintă valori maxime ale distanței genetice (tabelul 1).





**Figura 2.** Analiza coordonatelor principale (PCoA) în baza amprentelor moleculare a 39 de populații de *O. cumana* cu utilizarea markerilor SSR (A) și ISSR (B)

O grupare mai certă a populațiilor cu proveniență geografică comună (din aceeași regiune) se relevă în cazul analizei cu markeri ISSR (figura 2B). Astfel, populațiile provenite din partea centrală și sudică a țării, cu unele excepții, sunt grupate în două clustere distincte, indiferent de apartenența rasială, iar populațiile din Nordul Moldovei sunt dispersate în ambele grupuri. De asemenea, se demonstrează o similitudinea genetică redusă a populațiilor SG8 (Beșalma) și SH14 (Alexanderfeld), în raport cu celelalte populații analizate, acestea prezentând o distanță genetică înaltă.

Analiza corelativă a datelor cu referire la distanța genetică, calculată în baza rezultatelor amprentării cu markeri SSR și ISSR, și a celor privind distanța geografică pune în evidență absența corelațiilor semnificative dintre acești doi parametri, acest fapt fiind mai evident în cazul studiului SSR (tabelul 2).

**Tabelul 2.** Relația dintre distanța genetică, stabilită în baza amprentelor SSR și ISSR, și cea geografică (în funcție de regiunea de proveniență a lupoaiei)

	DG (SSR) / Distanța geografică	DG (ISSR) / Distanța geografică
<b>Nord</b>		
N x N	-0,16 <sup>ns</sup>	0,39 <sup>ns</sup>
N x C	0,12 <sup>ns</sup>	-0,02 <sup>ns</sup>
N x S	0,15 <sup>ns</sup>	0,16 <sup>ns</sup>
<b>Centru</b>		
C x N	0,12 <sup>ns</sup>	-0,02 <sup>ns</sup>
C x C	0,21 <sup>ns</sup>	0,48 <sup>ns</sup>
C x S	-0,01 <sup>ns</sup>	-0,05 <sup>ns</sup>
<b>Sud</b>		
N x S	0,15 <sup>ns</sup>	0,16 <sup>ns</sup>
C x S	-0,01 <sup>ns</sup>	-0,05 <sup>ns</sup>
S x S	0,06 <sup>ns</sup>	-0,10 <sup>ns</sup>
<b>Toate populațiile</b>		
	0,12 <sup>ns</sup>	0,08 <sup>ns</sup>

Notă: <sup>ns</sup> – valori ne semnificative statistic

La utilizarea markerilor ISSR, în cazul populațiilor din partea de Nord și de Centru a țării, au fost puse în evidență valori mai înalte ale coeficienților de corelație dintre distanța genetică și cea geografică ( $N:N=0,39$  și, respectiv,  $C:C=0,48$ ), acestea fiind, însă, ne semnificative statistic.

Divergențele semnificative, inclusiv dintre populațiile amplasate geografic la distanțe mici, sugerează faptul că fluxul de gene între populații este destul de redus, iar diferențele dintre populații pot fi atribuite preferențial introducerii separate a acestora, în diferite zone, concomitent cu semințele de floarea-soarelui, date similare fiind raportate și de alți cercetători (Jebri, M. et al. 2017; Pineda-Martos, R. et al. 2014).

Analiza datelor amprentării SSR în cazul grupării populațiilor de lupoaie în baza criteriului de apartenență rasială (E, F, G, H) relevă cele mai mici valori ale distanței genetice la combinația CE2-CE6 ( $DG=0,27$ ) pentru rasa E, la SF5-SF7 ( $DG=0,33$ ) pentru rasa F, la SG8-SG9 ( $DG=0,28$ ) pentru rasa G și la CH16-SH15 ( $DG=0,23$ ) pentru rasa H (tabelul 3).

**Tabelul 3.** Distanța genetică și geografică a populațiilor de lupoaie de pe teritoriul Republicii Moldova (în funcție de apartenența rasială)

	Populația	Distanța maximă		Populația	Distanța minimă		Media
		Genetică	Geografică, km		Genetică	Geografică, km	
<b>RASA E</b>							
<b>SSR</b>	CE2-SE1	0,70	96	CE2-CE6	0,27	69	0,48
<b>ISSR</b>	CE2-CE7	0,52	60	CE1-CE6	0,25	6	0,40
<b>RASA F</b>							
<b>SSR</b>	CF11-SF6	0,75	176	SF5-SF7	0,33	34	0,53
<b>ISSR</b>	CF11-SF4	0,54	95	NF2-SF4	0,23	135	0,41
<b>RASA G</b>							
<b>SSR</b>	NG3-SG11	0,63	159	SG8-SG9	0,28	80	0,47
	NG3-SG13	0,63	199				
<b>ISSR</b>	NG3-SG8	0,78	217	SG11-SG13	0,28	78	0,49
<b>RASA H</b>							
<b>SSR</b>	SH14-SH15	0,58	37	CH16-SH15	0,23	72	0,45
<b>ISSR</b>	SH14-SH15	0,72	37	CH16-SH17	0,23	397	0,47

De menționat că majoritatea dintre populațiile date sunt colectate din aceeași regiune, distanța geografică dintre ele variind între 34-80 km. Valorile maxime ale distanței geografice au fost stabilite la combinațiile CE2-SE1 ( $DG=0,70$ ) pentru probele din rasa E, la CF11-SF6 ( $DG=0,75$ ) pentru probele din rasa F, NG3-SG11 și NG3-SG13 ( $DG=0,63$ ) pentru probele din rasa G și SH14-SH15 ( $DG=0,58$ ) pentru cele din rasa H. Se poate constata, astfel, că cele mai distanțate genetic sunt îmbinările dintre populații care provin din diverse zone geografice, amplasate la distanțe de 96-399 km.

Un tablou distinct se remarcă în cazul rezultatelor obținute cu implicarea markerilor ISSR, constatăndu-se că distanța geografică variază esențial, de la valori destul de mici (6,0 km) până la valori mari (397,0 km), atât în cazul populațiilor cel mai distanțate, cât și al celor mai apropiate din punct de vedere genetic. Astfel, valorile maxime ale distanței genetice la populațiile de lupoaie din diferite rase variază între 0,52-0,78, iar cele minime – între 0,23-0,28, pe când distanțele geografice dintre populațiile menționate sunt cuprinse între 37-217 km și, respectiv, 6-397 km.

Generalizând rezultatele obținute, se constată că, la majoritatea raselor, distanța genetică dintre populații este, preferențial, mai mare de 0,5 la amprentarea SSR și, respectiv, mai mică de 0,5 la utilizarea markerilor ISSR. Astfel, la analiza SSR, ponderea combinațiilor ce au prezentat valori ale  $DG \geq 0,5$  a constituit 48% (rasa E), 67% (rasa F), 54% (rasa G) și 36% (rasa H) din totalul de combinații posibile. În cazul studiului cu markeri ISSR, ponderea combinațiilor caracterizate prin valori ale  $DG \geq 0,5$  a fost semnificativ mai mică, în special pentru probele din rasa E și F (5,5% și, respectiv, 13%), și aproximativ egală cu cea relevată la analiza SSR pentru combinațiile de populații aparținând raselor mai virulente G (43%) și H (32%).

În cazul grupării populațiilor în funcție de apartenența rasială, analiza corelativă a datelor privind distanța genetică și cea geografică denotă existența unor corelații slabe (0,30-0,37) la rasele E și G, în cazul ambelor tipuri de markeri. Populațiile din rasa F se evidențiază prin corelații rezonabile, în sens pozitiv (0,50), la amprentarea SSR, și prin valori negative (-0,55) – la amprentarea ISSR (tabelul 4).

**Tabelul 4.** Relația dintre distanța genetică, stabilită în baza amprentelor SSR și ISSR, și cea geografică (în funcție de apartenența rasială)

Rasa	DG (SSR) / Distanța geografică	DG (ISSR) / Distanța geografică
E	0,17 <sup>ns</sup>	0,37*
F	0,50**	-0,55**
G	0,30**	0,33**
H	0,26 <sup>ns</sup>	-0,29 <sup>ns</sup>

Notă: <sup>ns</sup> – valori ne semnificative statistic; \* valori semnificative la nivelul de semnificație  $p < 0.01$ ; \*\* valori semnificative la nivelul de semnificație  $p < 0.05$ ;

Deși unele studii au arătat că izolarea geografică afectează în mod semnificativ diferențierea populațiilor și că distanțele genetice sunt corelate cu distanțele geografice (Alpert, P. et al. 1993), în cazul prezentelor analize nu au fost detectate corelații evidente și semnificative între distanțele genetice și geografice. Rezultatele obținute corespund datelor raportate de alți cercetători, conform cărora distanțele geografice nu provoacă neapărat diferențierea genetică a populațiilor și că acești parametri nu corelează semnificativ (Wang, Q. et al. 2003).

## CONCLUZII

Analiza corelativă a datelor privind distanța genetică calculată în baza rezultatelor amprentării cu markeri SSR și ISSR a 39 populații de lupoai provenite din diverse regiuni ale Republicii Moldova, aparținând diferitor rase ( $\leq$  E, F, G și H), și a distanței geografice a pus în evidență absența corelațiilor semnificative dintre acești doi parametri.

Studiul coordonatelor principale (PCoA), realizat în baza matricei distanțelor genetice, a relevat o grupare mai certă a populațiilor din aceeași regiune în cazul analizei cu markeri ISSR, populațiile provenite din zona de Centru și de Sud a țării, cu unele excepții, fiind grupate în două cluster distincte, indiferent de apartenența rasială.

## REFERINȚE BIBLIOGRAFICE

- ALPERT, P., LUMARET, R.D., GIUSTO, F. (1993). Population structure inferred from allozyme analysis in the clone herb *Fragaria chiloensis* (Rosaceae). In: American Journal of Botany, vol. 80, pp. 1002–1006. ISSN 0002-9122.
- BENHARRAT, H., THALOUARN, P., THEODET, C., VERONESI, C. (2002). Orobanche species and population discrimination using intersimple sequence repeat. In: Weed Research, vol. 42, pp. 470-475. ISSN 0043-1737.
- BILGEN, B. B., BARUT, A. K., DEMIRBAŞ, S. (2019). Genetic characterization of Orobanche cumana populations from the Thrace region of Turkey using microsatellite markers, In: Turkish Journal of Botany, vol. 43, pp. 38-47. ISSN 1300-008X.
- CIUCA, M., PACUREANU, M., IUORAS, M. (2004). RAPD markers for polymorphism identification in parasitic weed Orobanche cumana Wallr. In: Romanian Agricultural Research, vol. 21, pp. 29-32. ISSN 1222-4227.
- DUCA, M. (2015). Historical aspects of sunflower researches in the Republic of Moldova. In: Helia, vol. 38, pp. 79–92. ISSN 1018-1806.
- DUCA, M., ACCIU, A., CLAPCO, S. (2017a). Distribuția geografică și caracteristica unor populații de *O. cumana* din Republica Moldova. In: Buletinul Academiei de Științe a Moldovei. Științele Vieții, vol. 2(332), pp. 65-76. ISSN 1857-064X.
- DUCA, M., JOIȚA-PĂCUREANU, M., PORT, A., MARTEA, R., BOICU, A., RÎȘNOVEANU L., CLAPCO S. (2019). Genetic diversity analysis of sunflower broomrape populations from Republic of Moldova using ISSR markers. In: Romanian Agricultural Research, vol. 37, pp.3-11. ISSN 1222-4227.
- DUCA, M., PORT, A., BOICU, A., ȘESTACOVA, T. (2017b). Molecular characterization of broomrape populations from republic of Moldova using SSR markers. In: Helia, vol. 40, pp. 47-59. ISSN 1018-1806.
- GAGNE, G., ROECKEL-DREVET, P., GREZES-BESSET, B. et al. (1998). Study of the variability and evolution of Orobanche cumana populations infesting sunflower in different European countries. In: Theoretical and Applied Genetics, vol. 96, pp. 1216–1222. ISSN 0040-5752.
- GUCHETL, S.Z., ANTONOVA, T.S., TCHELUSTNIKOVA, T.A. (2014). Genetic similarity and differences between the Orobanche cumana Wallr. populations from Russia, Kazakhstan, and Romania revealed using the markers of simple sequence repeat. In: Russian Agricultural Sciences, vol. 40, pp. 326-330. ISSN 1068-3674.

11. JEBRI, M., BEN KHALIFA, M., FAKHFAKH, H., PÉREZ-VICH, B., VELASCO, L. (2017). Genetic diversity and race composition of sunflower broomrape populations from Tunisia. In: *Phytopathologia Mediterranea* vol. 56, pp. 421-430. ISSN 0031-9465.
12. JUMP, A.S., MARCHANT, R., PEÑUELAS, J. (2009). Environmental change and the option value of genetic diversity. In: *Trends in Plant Science*, vol. 14, pp. 51–58. ISSN 1360-1385.
13. KOSMAN, E., LEONARD, K.J. (2005). Similarity coefficients for molecular markers in studies of genetic relationships between individuals for haploid, diploid, and polyploid species. In: *Molecular Ecology*, vol. 14, pp. 415 – 424. ISSN 0962-1083.
14. KUSS, P., PLUESS, A.R., AEGISDOTTIR, H.H., STOCKLIN, J. (2008). Spatial isolation and genetic differentiation in naturally fragmented plant populations of the Swiss Alps. In: *Journal of Plant Ecology*, vol. 1, pp. 149–159. ISSN 1752-9921.
15. SATOVIC, Z., JOEL, D. M., RUBIALES, D., CUBERO, J. I., ROMÁN, B. (2009). Population genetics in weedy species of Orobanche. In: *Australian Plant Pathology*, vol. 38, pp. 228–234. ISSN 0815-3191.
16. MARTÍN-SANZ, A., JEBRI, M., FERNÁNDEZ-MARTÍNEZ, J. M., PÉREZ-VICH, B., VELASCO, L. (2016). Increased virulence in sunflower broomrape (*Orobanche cumana* Wallr.) populations from Southern Spain is associated with greater genetic diversity. In: *Frontiers in Plant Science*. <https://doi.org/10.3389/fpls.2016.00589>.
17. MOLINERO-RUIZ, L., DELAVAUULT, Ph., PÉREZ-VICH, B., PACUREANU-JOITA, M., BULOS, M., ALTIERI, E., DOMÍNGUEZ, J. (2015). History of the race structure of *Orobanche cumana* and the breeding of sunflower for resistance to this parasitic weed: A review. In: *Spanish Journal of Agricultural Research*, vol. 13, pp. 1-19. ISSN 1695-971X.
18. NEI, M. (1978). Estimation of average heterozygosity and genetic distance from a small number of individuals. In: *Genetics*, vol. 89, pp. 583-590. ISSN 0016-6731.
19. PINEDA-MARTOS, R., VELASCO, L., FERNANDEZ-ESCOBAR, J., FERNANDEZ-MARTINEZ, J.M., PÉREZ-VICH, B. (2013). Genetic diversity of *Orobanche cumana* populations from Spain assessed using SSR markers. In: *Weed Research*, vol. 53, pp. 279-289. ISSN 0043-1737.
20. PINEDA-MARTOS, R., PUJADAS-SALVÀ, J. A., FERNÁNDEZ-MARTÍNEZ, J.M., STOYANOV, K., VELASCO, L., PÉREZ-VICH, B. (2014). The genetic structure of wild *Orobanche cumana* Wallr. (*Orobanchaceae*) populations in Eastern Bulgaria reflects, introgressions from weedy populations. In: *The Scientific World Journal*, <https://doi.org/10.1155/2014/150432>.
21. RODRÍGUEZ-OJEDA, M. I., FERNÁNDEZ-MARTÍNEZ, J. M., VELASCO, L., PÉREZ-VICH, B. (2013). Extent of cross-fertilization in *Orobanche cumana* Wallr. In: *Biologia plantarum*, vol. 57, pp. 559–562. ISSN 1435-8603.
22. WANG, Q. (2003). Genetic diversity of three species of *Ligularia* (*Asteraceae*) in Eastern of Qinghai- Tibet plateau of China. M.D. Thesis, pp. 14-19.

### INFORMAȚIE DESPRE AUTORI

**CLAPCO Steliana**  <https://orcid.org/0000-0001-7147-2740>

doctor în științe biologice, conferențiar cercetător, Centrul de Genetică Funcțională, Universitatea de Stat “Dimitrie Cantemir”, Republica Moldova

*E-mail: clapcostela@gmail.com*

**MARTEA Rodica**  <https://orcid.org/0000-0002-1244-7147>

doctor în științe biologice, Centrul de Genetică Funcțională, Universitatea de Stat “Dimitrie Cantemir”, Republica Moldova

*E-mail: rodica.martea@gmail.com*

**DUCA Maria**  <https://orcid.org/0000-0002-5855-5194>

doctor habilitat în științe biologice, profesor universitar, academician, Centrul de Genetică Funcțională, Universitatea de Stat “Dimitrie Cantemir”, Republica Moldova

*E-mail: mduca2000@yahoo.com*

Data prezentării articolului: 06.04.2020

Data acceptării articolului: 25.05.2020