

## **DIVERSIFICAREA BAZEI GENETICE A GERMOPLASMEI DE FLOAREA-SOARELUI PENTRU REZISTENȚĂ LA SECETĂ**

### **DIVERSIFYING OF SUNFLOWER GERMOPLASM FOR DROUGHT TOLERANCE**

FLORENTINA SAUCĂ<sup>1</sup>

#### **Abstract**

Although sunflower is known as a drought resistant plants, seed production decreased significantly in soils without water or low atmospheric humidity.

Therefore, selection of genotypes able to recover quickly capacity wilting during drought soil or air periods is a priority in breeding programs to improve sunflower.

Wild sunflower genetic resources are considered important for improving the resistance to various biotic and abiotic stress factors of cultivated sunflower. The best known species to improve drought resistance is *Helianthus argophyllus*.

In order to improve drought resistance of cultivated *Helianthus annuus*, in the period 2008-2011 were carried out hybridization and backcross using a set of 21 sunflower breeding lines and *Helianthus argophyllus*.

In the BC<sub>4</sub> generation, seeds were obtained from nine hybrid combinations whose oil content in seeds (7 combinations of 9) was significantly higher comparatively of the breeding lines used in hybridization. Also and seed production/head was much improved (significantly) in some combinations.

It will continue to improve in the coming years, making it a severe selection for drought resistance of the genetic material obtained. It will look like in the area of Romania known long periods of extreme drought.

The project was funded by the World Bank and the Romanian Government (Grant MAKIS 141 554).

**Key words:** sunflower breeding, genetic progress, *Helianthus argophyllus*, drought resistance. Cuvinte cheie; ameliorare floarea-soarelui, progres genetic, *H. argophyllus*, rezistența la secetă.

#### **INTRODUCERE**

Speciile sălbatice de floarea-soarelui, printre care 12 anuale și 37 perene, au intrat în practica curentă a ameliorării florii-soarelui hibride prin furnizarea primei surse de androsterilitate citoplasmatică, rezultată din încrucișarea speciei sălbatice anuale *Helianthus petiolaris* cu specia cultivată *H. annuus* (Leclercq, 1969). Hibridarea interspecifică constituie o tehnică

---

<sup>1</sup> I.N.C.D.A. Fundulea, județul Călărași, e-mail: tina@ricic.ro

complementară în ameliorarea florii-soarelui, care poate fi folosită cu succes pentru crearea de noi surse de variabilitate genetică (biodiversitate). Cu toate dificultățile care pot apărea datorită diferențelor în privința numărului de cromozomi (2x, 4x, 6x) și a incompatibilității de încrucișare, hibridarea interspecifică este considerată a fi o cale accesibilă de încorporare a germoplasmei sălbatice în floarea-soarelui cultivată, în special pentru ameliorarea rezistenței la factorii abiotici de stres (secetă și arșiță), a calității uleiului și proteinei, a rezistenței la boli, pentru identificarea de noi surse de androsterilitate citoplasmatică și restaurarea fertilității polenului și chiar pentru selecția unor caractere morfologice și fiziologice utile din punct de vedere agronomic (Baldini și colab., 1991, 1992, 1996; Iourăș și colab., 1993; Saucă, 2010; 2011).

### MATERIALUL ȘI METODA DE CERCETARE

În scopul introgresiei de gene de rezistență la secetă de la specia *Helianthus argophyllus* la specia cultivată, în contextul încălzirii globale prognozate de specialiști, în perioada 2008-2011 au fost semănate în Câmpul de Agricultură Ecologică de la I.N.C.D.A. Fundulea, 21 de linii parentale și specia sălbatică *Helianthus argophyllus*.

Aceste linii au fost utilizate ca donatoare de polen, cu care s-a realizat polenizarea florilor castrate de la specia sălbatică iar cu polenul speciei sălbatice s-au polenizat plante castrate ale liniilor mai sus menționate (*Helianthus annuus* x *Helianthus argophyllus* și *Helianthus argophyllus* x *Helianthus annuus*).

La 10 zile de la efectuarea polenizărilor, au fost prelevați embrionii imaturi pentru două motive: salvarea embrionilor în cazul existenței barierei de incompatibilitate între specia cultivată și cea sălbatică și accelerarea procesului de ameliorare. În această lucrare vor fi prezentate rezultatele obținute în anul 2011 când aceste combinații hibride se găsesc în generația 4 de backcross.

S-a calculat producția medie de semințe/3 calatidii, MMB și s-a determinat conținutul de ulei (%) din sămânță nedistructibilă cu ajutorul RMN.

### REZULTATE

Din rezultatele privind producția de semințe obținută în anul 2011, putem sublinia următoarele aspecte: s-au obținut semințe mature la 7 combinații în care specia cultivată a fost formă mamă și de la două combinații în care specia sălbatică a fost formă mamă iar linia cultivată cea tată.

O combinație hibridă reușită între specia cultivată și *H. argophyllus* s-a dovedit a fi în cazul în care linia mamă a fost Bio2 BC<sub>4</sub>/2011. La această combinație producția medie de semințe/calatidii și MMB nu au depășit caracteristicile liniei mamă în generația BC<sub>4</sub> dar procentul de ulei s-a îmbunătățit distinct semnificativ la varianta 1 și semnificativ la variantele 3, 4 și 5 (tabelul 1).

La această combinație hibridă, după o generație de hibridare, o generație de backcrossare, două generații autopolenizare, urmate de alte trei backcross-uri, s-au obținut semințe în cantități cuprinse între 71,67 și 37,0 g/plantă.

Linia mamă de la care s-a pornit procesul de ameliorare a produs o cantitate medie de 61,32 g de sămânță pe calatidiu. Este important faptul că producția de semințe și MMB nu au scăzut semnificativ până în generația BC<sub>4</sub> dar și mai important este că a crescut semnificativ conținutul de ulei din semințele combinațiilor hibride comparativ cu linia mamă utilizată în hibridare.

*Tabelul 1*

**Producția medie de semințe, MMB și conținutul de ulei în generația BC<sub>4</sub>  
la combinația 1**

(Average yield of seeds, MMB, oil content in the BC<sub>4</sub> generation at 1<sup>st</sup> combination)

Varianta	Producție medie (g/calatidiu)	MMB g	Conținut ulei (%)
Mamă (Bio 2 BC <sub>4</sub> /2011)	61,32	74,92	23,5
Comb.1 BC <sub>4</sub> V <sub>1</sub>	33,35	63,76	29,9**
Comb.1 BC <sub>4</sub> V <sub>2</sub>	71,67	72,64	28,79
Comb.1 BC <sub>4</sub> V <sub>3</sub>	56,95	78,8	30,51*
Comb.1 BC <sub>4</sub> V <sub>4</sub>	38,98	61,2	32,12*
Comb.1 BC <sub>4</sub> V <sub>5</sub>	44,43	57,72	30,63*
<i>DL 5%</i>	<i>43,12</i>	<i>24,24</i>	<i>6,18</i>

În cazul combinației 2, realizată între linia mamă Bio 4 BC<sub>4</sub>/2011 și specia *Helianthus argophyllus*, deși a existat o bună compatibilitate a polenului, embrionii imaturi s-au dezvoltat normal, nu s-au înregistrat progrese semnificative în urma încrucișărilor, cu toate că la unele variante s-au înregistrat producții de semințe mai mari decât la linia maternă (V<sub>4</sub> și V<sub>5</sub>), MMB mai mare la V<sub>3</sub> și conținut de ulei mai mare sau egal față de linia maternă la toate variantele dar nu cu valori asigurate din punct de vedere statistic (tabelul 2). Producții de semințe mai mici față de producția liniei mamă s-au înregistrat la variantele 1 și 2.

*Tabelul 2*

**Producția medie de semințe, MMB și conținutul de ulei în generația BC<sub>4</sub>  
la combinația 2**

(Average yield of seeds, MMB, oil content in the BC<sub>4</sub> generation at 2<sup>th</sup> combination)

Varianta	Producție medie (g/calatidiu)	MMB g	Conținut ulei (%)
Mamă (Bio 4 BC <sub>4</sub> /2011)	48,65	57,12	25,07
Comb.2 BC <sub>4</sub> V <sub>1</sub>	26,68 °	953	29,26
Comb.2 BC <sub>4</sub> V <sub>2</sub>	25,33 °	84,6	25,07
Comb.2 BC <sub>4</sub> V <sub>3</sub>	41,18	96,2	27,72
Comb.2 BC <sub>4</sub> V <sub>4</sub>	52,40	52,7	28,21
Comb.2 BC <sub>4</sub> V <sub>5</sub>	50,85	74,7	31,64
<i>DL 5%</i>	<i>20,46</i>	<i>61,08</i>	<i>10,28</i>

Cea mai bună combinație a fost cea la care linia mamă a fost Bio 6 BC<sub>4</sub>/2011 (tabelul 3) unde la toate cele trei caractere luate în studiu se constată creșteri asigurate statistic semnificativ și distinct semnificativ. Astfel, producția medie de semințe/calatidiu s-a dublat în cazul variantelor V<sub>1</sub>, V<sub>3</sub> și V<sub>5</sub> și oricum s-a depășit, neasigurat statistic, producția liniei mamă la variantele 2 și 4. În ceea ce privește parametrul MMB, la toate variantele s-au înregistrat valori superioare liniei ameliorate iar în cazul variantelor 1 și 5 aceste valori sunt asigurate statistic. Cel mai mare progres s-a realizat pentru parametrul conținut de ulei. Linia mamă are o pondere de numai 26,32%, în timp ce la 4 variante din cele 5 combinații hibride conținutul de ulei depășește 33,0%.

Tabelul 3

**Producția medie de semințe, MMB și conținutul de ulei în generația BC<sub>4</sub> la combinația 3**

(Average yield of seeds, MMB, oil content in the BC<sub>4</sub> generation at 3<sup>th</sup> combination)

Varianta	Producție medie (g/calatidiu)	MMB g	Conținut ulei (%)
Mamă (Bio 6 BC <sub>4</sub> /2011)	45,72	48,61	26,32
Comb.3 BC <sub>4</sub> V <sub>1</sub>	101,07**	72,08*	33,10
Comb.3 BC <sub>4</sub> V <sub>2</sub>	71,43	52,62	33,59
Comb.3 BC <sub>4</sub> V <sub>3</sub>	95,56**	61,72	36,66*
Comb.3 BC <sub>4</sub> V <sub>4</sub>	78,24*	57,84	34,79*
Comb.3 BC <sub>4</sub> V <sub>5</sub>	100,39**	81,76**	29,87
DL 5%	31,41	18,99	7,38

Rezultate foarte bune s-au obținut și în cazul utilizării în hibridare cu specia sălbatică a liniei mamă Bio 7 BC<sub>4</sub>/2011 (tabelul 4), când conținutul de ulei a crescut semnificativ la toate cele 5 variante, cu valori cuprinse între 6,84% și 11,34%, comparativ cu linia mamă.

Tabelul 4

**Producția medie de semințe, MMB și conținutul de ulei în generația BC<sub>4</sub> la combinația 4**

(Average yield of seeds, MMB, oil content in the BC<sub>4</sub> generation at 4<sup>th</sup> combination)

Varianta	Producție medie (g/calatidiu)	MMB g	Conținut ulei (%)
Mamă (Bio 7 BC <sub>4</sub> /2011)	54,28	53,81	29,62
Comb.4 BC <sub>4</sub> V <sub>1</sub>	77,75	69,96	39,58*
Comb.4 BC <sub>4</sub> V <sub>2</sub>	52,28	52,24	38,39*
Comb.4 BC <sub>4</sub> V <sub>3</sub>	64,10	65,04	36,46*
Comb.4 BC <sub>4</sub> V <sub>4</sub>	46,34	64,96	38,09*
Comb.4 BC <sub>4</sub> V <sub>5</sub>	60,03	53,15	40,96**
DL 5%	27,23	4,47	6,81

În cazul în care linia mamă a fost Bio 10 BC<sub>4</sub>/2011 (tabelul 5), rezultatele obținute în verigile de ameliorare nu au fost spectaculoase dar dacă genotipul obținut la final va manifesta rezistență ridicată la secetă (testarea se va face în 2012 și 2013 în regiuni cu secetă extremă, în condiții de câmp neirigat) caracterele luate în acest studiu, așa cum se prezintă în tabelul 5, sunt mai mult decât satisfăcătoare. Important este faptul că procentul de ulei nu a scăzut la nicio variantă comparativ cu linia mamă, ci a crescut chiar dacă nu semnificativ. Parametrul principal pentru care s-a făcut selecție drastică a fost conținutul de ulei care a fost determinat pentru fiecare generație. Nici producția nu a fost neglijată, de aceea considerăm că rezultatele obținute până în acest stadiu sunt conforme cu obiectivele urmărite.

În tabelul 5 sunt prezentate rezultatele obținute în cazul în care linia mamă a fost Bio 10 BC<sub>4</sub>/2011. În cazul acestei combinații, important este faptul că s-a găsit compatibilitate bună așa încât parametrii luați în studiu s-au menținut cel puțin la nivelul liniei ameliorate. Trebuie să subliniem istoricul acestui experiment. Inițial au fost luate în studiu 21 de linii, din care numai 9 au manifestat grad ridicat de compatibilitate cu specia *Helianthus argophyllus*, între care se regăsește și linia Bio 10 BC<sub>4</sub>/2011.

Tabelul 5

**Producția medie de semințe, MMB și conținutul de ulei în generația BC<sub>4</sub>  
la combinația 5**

(Average yield of seeds, MMB, oil content in the BC<sub>4</sub> generation at 5<sup>th</sup> combination)

Varianta	Producție medie (g/ calatidiu)	MMB g	Conținut ulei (%)
Mamă (Bio 10 BC <sub>4</sub> /2011)	51,64	66,98	30,03
Comb.5 BC <sub>4</sub> V <sub>1</sub>	49,32	62,16	37,27
Comb.5 BC <sub>4</sub> V <sub>2</sub>	33,22	54,86	30,94
Comb.5 BC <sub>4</sub> V <sub>3</sub>	51,05	62,70	34,43
Comb.5 BC <sub>4</sub> V <sub>4</sub>	58,34	55,5	36,47
Comb.5 BC <sub>4</sub> V <sub>5</sub>	48,44	78,28	30,74
DL 5%	21,05	23,1	9,62

Linia mamă Bio 11 BC<sub>4</sub>/2011 a fost folosită pentru combinația 6 ca primitoare de polen de la specia sălbatică iar în cazul combinației 8 (tabelul 8) a fost donatoare de polen pentru specia sălbatică. În tabelul 6 se poate observa că producția de semințe a fost superioară producției genotipului mamă la toate variantele, și creșterea a fost semnificativă în cazul variantelor 3 și 5. De asemenea, MMB și conținutul de ulei au înregistrat creșteri la toate variantele, asigurate statistic la varianta 5 (MMB) și variantele 2 și 5 (conținutul de ulei).

Tabelul 6

**Producția medie de semințe, MMB și conținutul de ulei , în generația BC<sub>4</sub>  
la combinația 6**

(Average yield of seeds, MMB, oil content in the BC<sub>4</sub> generation at 6<sup>th</sup> combination)

Varianta	Producție medie (g/calatidiu)	MMB g	Conținut ulei (%)
Mamă (Bio 11 BC <sub>4</sub> /2011)	73,03	50,87	25,73
Comb.6 BC <sub>4</sub> V <sub>1</sub>	102,21	62,28	32,06*
Comb.6 BC <sub>4</sub> V <sub>2</sub>	82,36	62,82	28,91
Comb.6 BC <sub>4</sub> V <sub>3</sub>	139,3*	77,78	30,84
Comb.6 BC <sub>4</sub> V <sub>4</sub>	106,27	71,80*	30,80
Comb.6 BC <sub>4</sub> V <sub>5</sub>	144,75*	84,64	31,58*
<i>L 5%</i>	<i>57,41</i>	<i>29,39</i>	<i>5,56</i>

Și în cazul combinației 7, când s-a folosit linia Bio 12 BC<sub>4</sub>/2011, s-au înregistrat rezultate mulțumitoare, deoarece la toți parametrii studiați s-au realizat sporuri comparativ cu linia de la care s-a pornit, chiar dacă nu s-au stabilit creșteri semnificative de producție și de conținut de ulei (tabelul 7).

Tabelul 7

**Producția medie de semințe, MMB și conținutul de ulei în generația BC<sub>4</sub>  
la combinația 7**

(Average yield of seeds, MMB, oil content in the BC<sub>4</sub> generation at 7<sup>th</sup> combination)

Varianta	Producție medie (g/calatidiu)	MMB g	Conținut ulei (%)
Mamă (Bio 12 BC <sub>4</sub> /2011)	38,12	64,50	25,52
Comb.7 BC <sub>4</sub> V <sub>1</sub>	87,73	82,16	32,09
Comb.7 BC <sub>4</sub> V <sub>2</sub>	82,59	66,00	25,65
Comb.7 BC <sub>4</sub> V <sub>3</sub>	55,82	61,88	29,23
Comb.7 BC <sub>4</sub> V <sub>4</sub>	76,45	63,70	29,50
Comb.7 BC <sub>4</sub> V <sub>5</sub>	88,83	87,56	32,02
<i>L 5%</i>	<i>55,81</i>	<i>33,19</i>	<i>6,82</i>

În tabele 8 și 9 sunt prezentate rezultatele obținute în cazul încrucișărilor în care specia sălbatică a fost castrată și s-a folosit polen de la specia cultivată. Inițial, s-au făcut astfel de polenizări pentru toate combinațiile dar numai în cazul acestor două s-a reușit obținerea de semințe până în generația BC<sub>4</sub>. În urma hibridărilor dintre *Helianthus argophyllus* x *Helianthus annuus*, producția de semințe/calatidiu s-a menținut aproape de cea a liniei mamă Bio 11 BC<sub>4</sub>/2011 (tabelul 8) și a scăzut la toate variantele când a fost utilizată în hibridare linia tată (Bio 13 BC<sub>4</sub>/2011) (tabelul 9). La combinația 9, producția de

semințe a scăzut, cu valori asigurate statistic, la variantele 2 și 4, în schimb, MMB a înregistrat creșteri semnificative la variantele 1, 3 și 4.

*Tabelul 8*

**Producția medie de semințe, MMB și conținutul de ulei, în generația BC<sub>4</sub>  
la combinația 8**

(Average yield of seeds, MMB, oil content in the BC<sub>4</sub> generation at 8<sup>th</sup> combination)

Varianta	Producție medie (g/calatidiu)	MMB g	Conținut ulei (%)
Mamă ( Bio 11 BC <sub>4</sub> /2011)	84,85	73,5	24,45
Comb.8 BC <sub>4</sub> V <sub>1</sub>	73,03	50,87	25,73
Comb.8 BC <sub>4</sub> V <sub>2</sub>	73,79	67,10	25,03
Comb.8 BC <sub>4</sub> V <sub>3</sub>	81,68	70,40	22,88
Comb.8 BC <sub>4</sub> V <sub>4</sub>	74,10	81,50	23,34
Comb.8 BC <sub>4</sub> V <sub>5</sub>	90,51	72,54	25,60
<i>L 5%</i>	<i>89,39</i>	<i>26,70</i>	<i>3,92</i>

*Tabelul 9*

**Producția medie de semințe, MMB și conținutul de ulei în generația BC<sub>4</sub>  
la combinația 9**

(Average yield of seeds, MMB, oil content in the BC<sub>4</sub> generation at 9<sup>th</sup> combination)

Varianta	Producție medie (g/capitul)	MMB g	Conținut ulei (%)
Tată ( Bio 13 BC <sub>4</sub> /2011)	14,34	24,23	24,52
Comb.9 BC4V1	12,17	47,60*	24,67
Comb.9 BC4V2	8,15 <sup>oo</sup>	39,12	25,41
Comb.9 BC4V3	12,9	56,49**	25,24
Comb.9 BC4V4	10,93 <sup>o</sup>	43,62*	24,72
Comb.9 BC4V5	9,80	39,75	22,37
<i>L 5%</i>	<i>3,52</i>	<i>16,88</i>	<i>3,08</i>

## CONCLUZII

- Prin diversificarea bazei genetice a germoplasmei din cadrul programelor de ameliorare a florii-soarelui pot crește șansele de progres genetic pentru a face față schimbărilor climatice prognozate de specialiștii în domeniu.

- Din cele 21 de genotipuri ameliorate luate în studiu în scopul introgresiei de gene de la specia sălbatică, 9 au fost identificate ca având compatibilitate bună a polenului cu specia sălbatică.

- In majoritatea combinațiilor rezultate, producția de semințe a fost net superioară sau cel puțin egală cu cea a liniei ameliorate de la care s-a pornit experimentul.

- In toate cazurile în care linia ameliorată a fost polenizată cu polen de la specia *Helianthus argophyllus*, MMB și conținutul de ulei din semințe în generația BC<sub>4</sub> au înregistrat valori superioare liniei ameliorate.

- In cele două cazuri când specia sălbatică a primit polen de la *Helianthus annuus* nu s-au înregistrat creșteri de producție și conținut de ulei, acești parametri menținându-se la nivel înregistrat la liniile ameliorate.

- Pe parcursul celor 4 ani de experimentare, prin metodele folosite, s-au realizat în mod constant două generații/an.

Notă. Cercetările au fost efectuate cu finanțare de la Banca Mondială și Guvernul României (Grant MAKIS 141554).

#### REFERINȚE BIBLIOGRAFICE

- BALDINI, M., CECCONI, F., VANNOZZI, G.P., 1992 – *Drought resistance in a wild species (Helianthus argophyllus) with respect to cultivated sunflower*. Proc. 13<sup>th</sup> Intern. Sunflower Conf., Pisa, Italy, vol. I: 522-530.
- BALDINI, M., CECCONI, F., VANNOZZI, G.P., BENVENUTI, A., 1991 – *Effect of drought water on yield reduction in different sunflower hybrids*. Helia, 15: 71-76.
- BALDINI, M., VANNOZZI, G.P., CECCONI, F., TURI, M., 1996 – *Prospects for the use of physiological traits during the selection for drought resistance in a sunflower population*. Proc. of 14<sup>th</sup> Int. Sunf. Conf., Beijing-Shenyang, P.R.China, 12-20 June, vol. I: 26-35.
- IUORAȘ, MONICA; VRÂNCEANU, V.A., RĂDUCANU, FLORENTINA 1993 – *Immature embryo culture for acceleration breeding proces*. Sunflower Biotechnology in Europe, Albena, pg. 80.
- LECLERCQ, P., 1969 – *Une sterilité male cytoplasmique chez le tournesol*. Ann. Amélior. Plant, 19: 99-106.
- SAUCĂ, FLORENTINA, 2010 – *Introgression of drought-resistant gene(s) from Helianthus argophyllus to Helianthus annuus specie, using embryo rescue techniques*. Romanian Agricultural Research, 27, 2010: 48-51.
- SAUCA, FLORENTINA, LAZAR, D., 2011 – *Scientific results regarding the gene(s) introgression of drought-resistant to Helianthus annuus specie, using embryo rescue*. Romanian Biotechnological Letters, 1: 3-8.

Prezentată Comitetului de redacție la 15 mai 2011