

## POSSIBILITĂȚI DE ESTIMARE A PURITĂȚII GENETICE LA FLOAREA-SOARELUI

*Maria DUCA, Alexei LEVIȚCHI, Tudor ROTARU\**

*LCȘ „Securitate Biologică”*

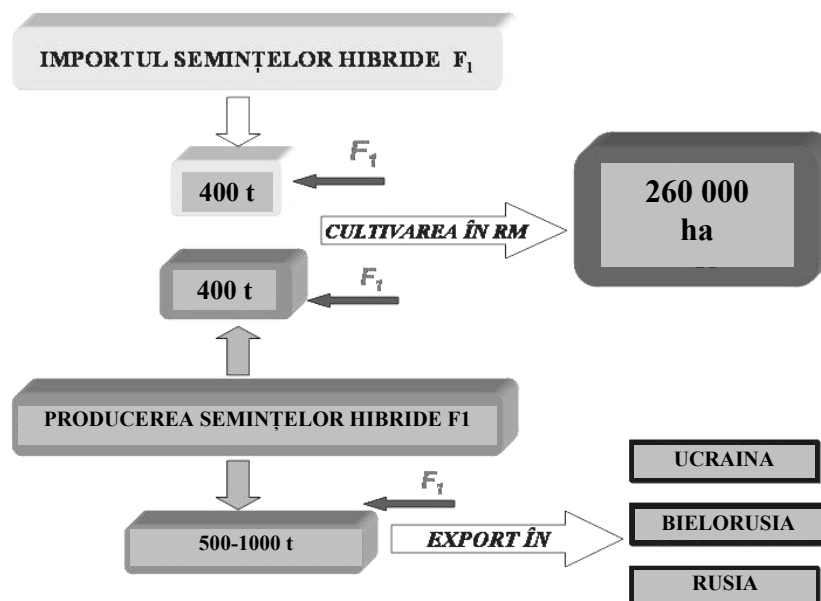
*\*AȘP „Magroselect” SRL (or. Soroca)*

The efficiency of application of different techniques to monitor the biologic purity of initial material designed for the amelioration ensures the success of breeding programs. This means allow to estimate both, the homogeneity of inbred lines and the polymorphism of in frame of populations. Field tests are much easier and exact, but are time consuming, whereas laboratory tests provide fast results obtaining and reduce the expences for plant breeding programs. The utilization of different existant methods are determined by the budget, developed by the breeders, for the analyses and by the level of technical equipping of the laboratories. The most used method is based on the utilisation of storage protein electrophoretic spectra, being relative cheap and sufficiently exact.

Obținerea soiurilor și hibridilor de perspectivă la plantele de cultură este bazată pe ameliorarea lor prin metode tradiționale [1,2] sau prin aplicarea ingineriei genetice [3]. Însă, ambele direcții presupun în egală măsură aplicarea unor tehnici eficiente care asigură monitoringul materialului inițial, utilizat în programele de selecție, inclusiv omogenitatea liniilor consangvinizate, gradul de hibridare în  $F_1$ , precum și estimarea polimorfismului populațiilor studiate.

Floarea-soarelui este una dintre culturile agricole de bază în Republica Moldova. Conform datelor statistice FAO (2004), Republica Moldova este a 15-a țară exportatoare de semințe de floarea-soarelui pe plan internațional. În economia republicii această cultură de asemenea ocupă un loc de bază, întrucât, după costul producției, exportul uleiului de floarea-soarelui, se află pe locul doi, iar după exportul de semințe – pe locul 9.

Annual pe câmpurile agricole ale republicii se cultivă în jur de 250-270 mii ha de floarea-soarelui (anii 2003-2004), însemănțate cu semințe  $F_1$ . Pentru aceasta sunt necesare cca 800 tone de semințe hibride pentru producere. Acest volum este asigurat la cca 50% de producătorii autohtoni, iar cealaltă parte provine din import. Totodată, Republica Moldova exportă anual între 500-1000 t de semințe de floarea-soarelui hibridă în Rusia, Belarus și Ucraina (Fig.1). Astfel, în circuit pe piață se află cca 1500-1800 tone de semințe de elită, fiecare 25 tone dintre care necesită a fi apreciate pentru calitatea semințelor și certificate (Fig.2).



**Fig.1.** Necesitatea certificării semințelor hibride.  
 $F_1$  indică momentele aplicării certificării.

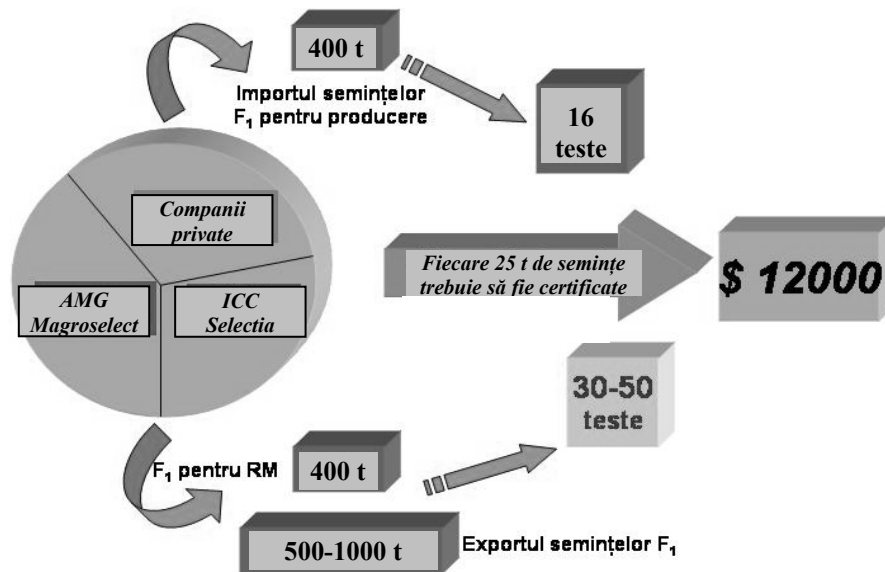


Fig.2. Cheltuielile necesare certificării semințelor hibride pe piața Republicii Moldova.

Aprecierea calității semințelor și identificarea posibilelor impurificări biologice sau mecanice se efectuează prin diferite metode (Fig.3), printre care aprobarea în câmp a materialului semincier. Metodele de seră sau de câmp țin de verificarea polimorfismului/omogenității prin studierea creșterii și dezvoltării plantelor, fiind un proces îndelungat care necesită cheltuieli considerabile de resurse umane și materiale. În acest caz identificarea și estimarea omogenității/polimorfismului se face în baza caracterelor morfologice care, din punct de vedere genetic, sunt caractere cantitative, fiind determinate de mai multe gene, astfel încât sunt mai puțin stabile și manifestă o variabilitate fenotipică mult mai largă sub influența factorilor de mediu [4]. Numărul acestor indici este limitat, iar determinarea modului lor de moștenire este mult mai dificilă.

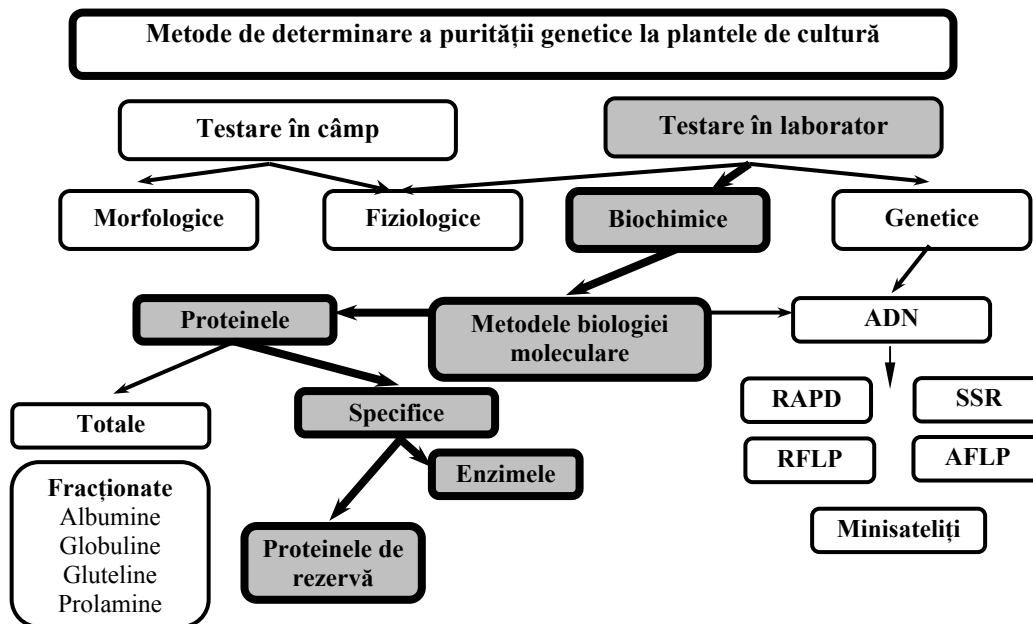


Fig.3. Varietatea metodelor de estimare a purității genetice la plantele de cultură (Strategia utilizată în cercetare este indicată prin fond sur).

Determinarea calității materialului ameliorativ, realizat prin metodele de analiză de laborator, nemijlocit înaintea semănatului, este mai sigură și efectiv mai economă în timp. Testele din laborator asigură rapiditatea în obținerea rezultatului privitor la analiza indicilor menționați. Analizele se pot efectua la diferite etape ontogenetice ale plantelor, dar mult mai eficientă și mai relevantă este utilizarea semințelor care reprezintă o fază ontogenetică fixă [5-7].

Diverse metode de laborator, la baza cărora stă evidențierea markerilor pentru estimarea polimorfismului/omogenității, care inițial au servit doar pentru genotiparea speciilor și varietăților în scopul cercetărilor științifice, sunt aplicate în prezent în activități comerciale la importul sau exportul semințelor de elită, destinate cultivării plantelor pe terenurile agricole [8,9]. Totodată, aceste metode se utilizează pentru a rezolva probleme ce țin de:

- Veridicitatea calității produsului;
- Încălcarea drepturilor de autor;
- Susținerea drepturilor și a patentelor amelioratorilor de plante;
- Controlul programului de selecție a plantelor;
- Investigații legale (judiciare).

Astăzi, pentru aprecierea polimorfismului genetic și a variabilității, cu succes se implementează metode bazate pe explorarea markerilor moleculari genetici (MMG): RAPD – *Rrandom Amplified Polymorphic DNA* (ADN Polimorfic Amplificat Randomizat), AFLP – *Amplified Fragment Length Polymorphism* (Polimorfismul Lungimilor de Fragmente Amplificate), SSR – *Simple Sequence Repeat* (Repetiții de Secvențe Simple), RFLP – *Restriction Fragment Length Polymorphism* (Polimorfismul Lungimilor Fragmentelor Restricționate), SNP – *Single Nucleotide Polymorphism* (Polimorfismul după o Singură Nucleotidă) etc. Un factor important, care determină aplicarea unei sau altei metode, este nivelul la care se cercetează populațiile și gradul de polimorfism asigurat de markerul utilizat (Tab.1).

Tabelul 1

## Criteriile de selectare a MMG pentru cercetarea problemelor biologice clasice [8]

Nivelul biodiversității	Nivelul de variabilitate	Natura informației necesare	Exemple de cei mai utilizați markeri
<b>Intrapopulațional</b>			
Structura fină a populației, sistemul de reproducere, rata de înmulțire	Medie - înaltă	(N) loci codominanți = genotip (multilocular) <sup>1</sup>	Microsateliți, proteine specifice
Amprentarea, analiza parentală	Foarte înaltă	Loci codominanți sau loci dominanți numeroși <sup>2</sup>	Microsateliți (RAPD, AFLP) <sup>2</sup>
Demografia	Medie - înaltă	Frecvența alelelor la diferite perioade de timp <sup>3</sup>	Proteine specifice, microsateliți
Istoria demografică	Medie - înaltă	Frecvența alelelor + relațiile evolutive <sup>3</sup>	Secvențe ADNmt
<b>Interpopulațional</b>			
Filogeografia, definirea unităților evolutiv semnificative (structura populației)	Medie - înaltă	Frecvența alelelor în fiecare populație <sup>3</sup>	Proteine specifice, microsateliți (riscul homoplaziei de marime)
Bioconservarea	Medie	Este preferabilă cunoașterea relațiilor evolutive ale alelelor	ADNmt (dacă este destul de variabil)
<b>Interspecific</b>			
Specii înrudite	cca 1%/ma <sup>4</sup>	Multe caractere. Lipsa variabilității în cadrul speciei, dacă e posibilă	Secvențe de ADNmt, SIT <sup>4</sup> al Rdna,
Diferite genuri, familii	cca 0,1%/ma <sup>4</sup>		Unele SMA <sup>4</sup> ale domnelor rDNA (D1<D2, D8), dar și ADNmt sau SMi <sup>4</sup> rDNA
Diferite clase,...,filumuri	cca 0,01%/ma <sup>4</sup>		D1 al SMA <sup>4</sup> rDNA, SMi <sup>4</sup> rDNA

<sup>1</sup> Pentru a compara proporțiile observate de heterozigoți cu cele teoretice în baza legii echilibrului Hardy–Weinberg, se detectează abaterile de la legea echilibrului datorită amestecurilor în populație, lipsa panmixiei sau selecția (procesul mutațional este neglijat). Compararea locilor independenți permite diferențierea efectului cauzat de acțiunea migrației de cel determinat de selecție.

<sup>2</sup> Un marker dominant cu un număr mare de fragmente polimorfe (fiecare corespunzând locusului dominant) poate asigura o rezoluție mai fină decât câțiva loci codominanți [10], când este cunoscut unul din părinți.

<sup>3</sup> Metodele ce studiază genotipurile după mai mulți loci sunt încă puțin aplicate, față de cele după un singur locus, deși sunt mai puternice pentru cercetarea amestecurilor în populații, a numărului de migranți și a variațiilor demografice [2,11,12].

<sup>4</sup> ma – milioane de ani; SIT – spacer intern transcris; SMA – subunitate mare SMi – subunitate mică.

Capacitatea de diferențiere a genotipurilor este un parametru important și depinde de tipul markerilor utilizați. Izoenzimele, în general, sunt codificate de câteva alele și posedă o capacitate limitată de diferențiere genotipică. Cea mai mică capacitate de identificare a genotipurilor o posedă metoda RAPD, comparativ cu toți ceilalți markeri. Însă, această problemă ar putea fi rezolvată prin utilizarea unui număr mare de primeri arbitrari RAPD. Alte tipuri de markeri, ca SSR sau AFLP, au capacitate de diferențiere net superioară, însă metodele de analiză cu acești markeri sunt mai complexe și costisitoare pentru a putea fi implementate și dezvoltate în laboratoare de certificare a producției agricole. Spre exemplu, markerii SSR sunt înalt polimorfi, abundenți, se moștenesc dominant/codominant și sunt relativ ușor de procesat în laborator, dar pot fi utili doar în cazul când sunt cunoscuți și bine studiați, cel puțin câțiva dintre aceștia pentru specia dată sau o altă specie înrudită. Situația este mult mai complicată când este necesar a caracteriza markerii SSR *de novo*.

Fiecare metodă oferă atât anumite avantaje, cât și unele dezavantaje. Alegerea metodei depinde de posibilitățile și experiența laboratorului, de necesitățile clientului, modul de utilizare a informației, bugetul, existența sau lipsa markerilor moleculari predeterminați pentru specia dată, de distanța genetică dintre genotipuri etc. (Tab.2).

Tabelul 2

## Avantajele și dezavantajele diferitor metode de amprentare [9]

Metoda utilizată	Avantajele metodei	Dezavantajele metodei
Proteinele de rezervă	- Relativ ieftină - Codominant - Genele expresate	- Rezoluția mică a benzilor electroforetice - Markerii sunt greu de diferențiat, datorită bandării complexe a proteinelor oligomere și comigrării la electroforeză
Izoenzimele	- Relativ ieftin - Codominant - Genele expresate	- Numărul mic de sisteme izoenzimatică poate duce la imposibilitatea discriminării probelor - Rezoluția mică a benzilor electroforetice - Markerii sunt greu de diferențiat, datorită bandării complexe a izozimelor oligomere și comigrării la electroforeză
RAPD	- Relativ ieftin - Simplu	- ADN necaracteristic datorită amplificării nespecifice nu asigură informație suplimentară - Strictețea joasă a PCR utilizat în RAPD poate genera probleme de reproductibilitate a profilului - Funcția necunoscută a genei
AFLP	- Discriminare înaltă - Mulți markeri	- Costisitoare - Procedură complexă - Funcția necunoscută a genei
SSR	- Discriminare înaltă - Înalt reproductibilă - Codominant - ADN caracteristic	- Procedură complexă - Costisitoare - Are succes între genuri înrudite - Funcția necunoscută a genei
RFLP	- Înalt reproductibilă - Codominantă - ADN caracteristic	- Procedură complexă - Laborioasă
SNP	- Înalt reproductibilă - Codominantă	- Procedură complexă - Nu este în uz general

Imperativul aplicării comerciale a diferitelor metode de identificare și tipizare a genotipurilor este maximizarea eficienței și simplității acestora, precum și nivelul de reproductibilitate a rezultatelor. Cei mai utili markeri, care pot fi implementați în genotiparea exactă a materialului ameliorativ, sunt markerii codominanți, ca izoenzimele, SSR sau RFLP, iar în cazul înregistrărilor pentru drepturile de autor asupra soiurilor și hibrizilor de plante de cultură sunt preferabil utilizați markerii care derivă de la procesul de expresie genetică, cum sunt izoenzimele sau markerii RFLP. Însă, utilizarea markerilor RFLP și, mai ales, a AFLP este extrem de complexă, considerent din care ei sunt mai puțini atractivi pentru aplicarea practică. Mai mult ca atât, deseori se înregistrează o reproductibilitate joasă a markerilor RAPD [13], determinată de strictețea condițiilor de realizare a PCR-ului [14,15]. Motiv din care tehnica RAPD este puțin explorată [16]. Rezultate reproductibile ale cercetării polimorfismului și identificării markerilor moleculari oferă doar 14% din primerii folosiți [17]. Polimorfismul identificat prin astfel de tehnică se estimează prin prezență-absență și efectul de segregare după alelele dominante, ceea ce la fel reprezintă un dezavantaj pentru RAPD-PCR [17-20]. Aceasta nu permite diferențierea formelor homozigote dominante și heterozigote în populațiile hibride.

Însă, metoda RAPD asigură detectarea polimorfismului pentru diferite plante de cultură. Astfel, s-a arătat că polimorfismul la cartofii dulci este de 77,6% [21], la sorgo – 55,3% [22] și la cereale – 9,3% [23]. Comparativ cu acestea, pentru floarea-soarelui s-a evidențiat o variabilitate mult mai înaltă – 83% [24]. Rezultatele date demonstrează că RAPD poate fi utilizat pentru cercetările genetice ale liniilor la floarea-soarelui.

În contextul bazei tehnico-materiale existente în Republica Moldova, în controlul programelor de selecție și semenologia amelioratorii pot fi utilizate cu succes proteinele de rezervă pentru confirmarea gradului de hibridare și a identității hibridului, precum și a purității biologice a liniilor sau pentru verificarea paternității, pentru a exclude erorile la încrucișare. Marcarea plantelor, care fac parte din diferite taxoane – de la biotip și soi la specie, gen și mai superioare, cu ajutorul proteinelor a fost inițiată anterior prin identificarea proteinelor și caracterelor proteice, care cel mai bine ar caracteriza sistemele date [6], fiind evidențiate trei tipuri de variabilitate: genomică, genică și alelică (Fig.4) [25].

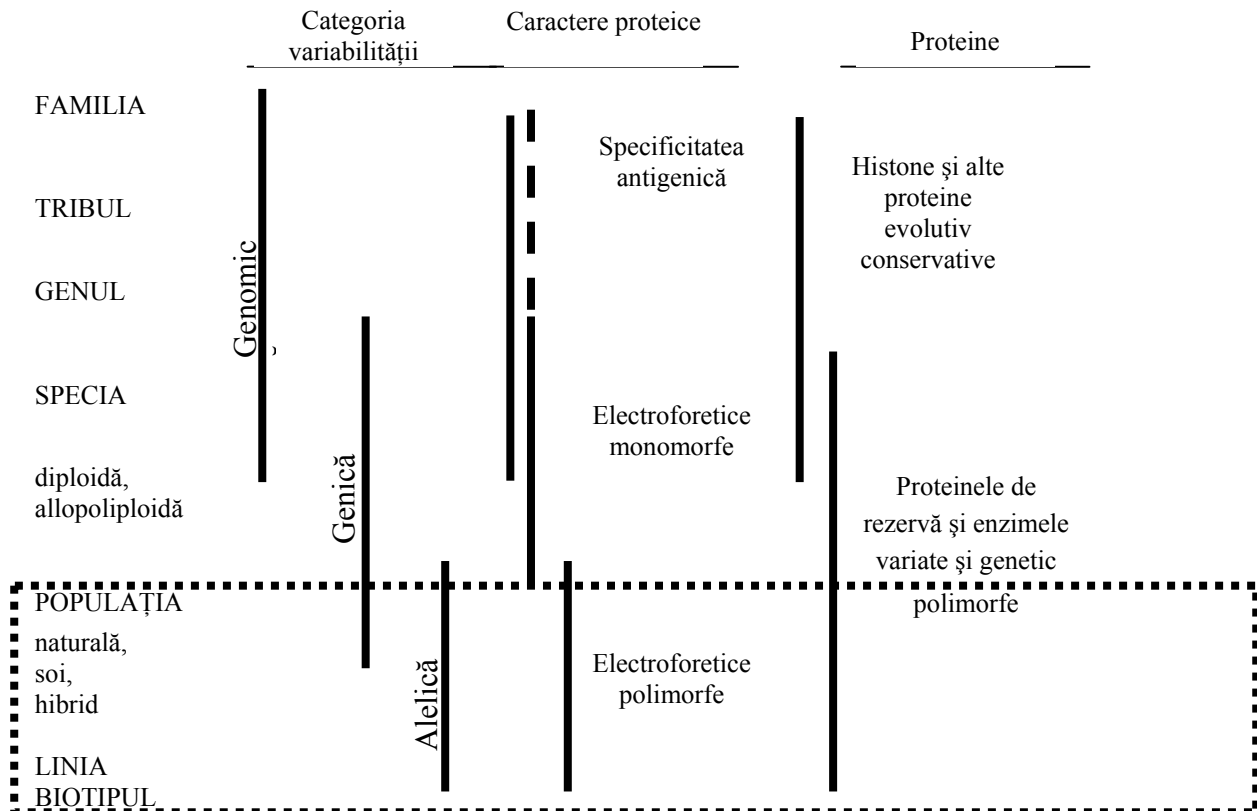


Fig.4. Cele trei categorii ale variabilității genetice evidențiate în baza markerilor proteici la plante. Linia punctată indică domeniul de interes al selecționarilor și amelioratorilor.

Pentru identificarea soiurilor și rezolvarea problemelor legate de variabilitatea intraspecifică și intrapopulațională, sunt necesare sisteme proteice genetic polimorfe. Polimorfismul unor astfel de sisteme este determinat de variabilitatea alelică și cel mai bine este evidențiat prin analiza electroforetică, care permite diferențierea genotipurilor și evidențierea soiurilor, biotipurilor și a liniilor în baza spectrului electroforetic.

Totalitatea spectrelor proteinelor multiple (poligenice) și genetic polimorfe (datorită polialelismului) permite evidențierea poligeniei pentru proteina dată, a structurii alelice a genelor, a structurii populației, a componenței biotipice a soiului și a relațiilor genetice dintre soiuri. Variabilitatea proteinelor poate fi condiționată și de procesele posttranslaționale de glicozilare, metilare, fosforilare, proteoliză etc. [26].

În baza spectrelor electroforetice ale proteinelor polimorfe este posibilă și analiza populațiilor morfologic identice. Polipeptidele specifice, identificate ca markeri proteici, permit excluderea plantelor heterozigote la primele etape ale proceselor semenologice și păstrarea caracteristicilor necesare ale genotipului, ale cărui plante sunt morfologic nediferențiable. Această metodă deschide posibilități largi de obținere accelerată a liniilor homozigote și a semințelor de elită și introducerea lor rapidă în producere pentru obținerea hibridilor cu calități superioare.

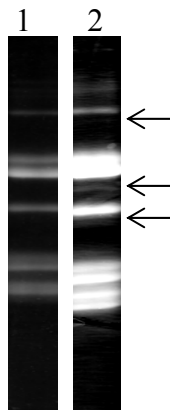
Analiza în baza proteinelor totale sau fracționate este ineficientă, întrucât se caracterizează printr-o neuniformitate a spectrelor obținute și un număr mare de benzi ce prezintă greutatea în diferențierea probelor [27-29].

În acest aspect sunt mai efective enzimele polimorfe (izoenzimele) și proteinele de rezervă (Fig.3). Ultimele sunt polimorfe și sunt localizate în țesuturi morfogenetic omogene – endospermul și cotiledoanele seminței mature, fiind utilizate pe larg în identificarea soiurilor. Cantitatea lor în semințe este suficientă pentru efectuarea analizei electroforetice individuale.

Mult mai eficiente sunt proteinele de rezervă, care se sintetizează similar cu proteinele secretorii în reticulul endoplasmatic al celulelor de rezervă și care se depun sub forma corpiilor proteici [30-32]. Aceste proteine se formează în cotiledoane și sunt determinate de sistemele genetice ale nucleului diploid, fapt ce determină și modul de moștenire a componentelor proteice de la formele parentale la hibridi [29]. Proteinele de rezervă rămân constante pe parcursul mai multor ani. Reproducibilitatea rezultatelor separării electroforetice a acestui grup de proteine este considerată bună [5-7].

Globulinele sunt cele mai răspândite proteine de rezervă. Există două tipuri de bază ale globulinelor la floarea-soarelui – 11S și 7S [31,32]. Structura biochimică a moleculei 11S, care este proteina de rezervă majoră, este reprezentată de o globulină cu structură quaternară complexă. Aceasta reprezintă un heterohexamer din subunitățile cu Mr ~ 60 kDa legate necovalent. În prezența reducătorilor aceasta se descompune în două polipeptide diferite: una cu caracter acid cu masa ~ 40 kDa și alta – bazică de cca 20 kDa [32,33]. Controlul polimorfismului/omogenității prin intermediul electroforezei proteinelor este foarte efektiv pentru rezolvarea unor probleme practice și poate mări eficiența proceselor semenologice, în același rând poate reduce termenele de creare a liniilor și hibridilor de la 7 la 5 ani.

Pentru identificarea soiurilor, liniilor și a hibridilor sau pentru evidențierea variabilității intraspecifice este important polimorfismul genetic, determinat de diversitatea alelică. Această variabilitate este cu succes studiată



**Fig.5.** Electroforeza heliantininei în GPAA:  
1 – gel 12,5%; 2 – 14%; săgețile indică benzi polipeptidice noi apărute.

cu ajutorul analizei electroforetice a proteinelor de rezervă din semințele individuale în prezența detergenților sau a altor agenți reducători [34]. Un aspect metodologic important în aplicarea practică a acestor metode este problema rezoluției benzilor electroforetice, care în unele sisteme electroforetice prezintă dificultăți la interpretarea rezultatelor. Indiscutabil, electroforeza în gel de poliacrilamidă sau în capilare poate rezolva aceste probleme, dar îmbunătățirea și optimizarea condițiilor de electroforeză (Fig.5), precum și utilizarea sistemelor electroforetice mai precise rămân a fi în continuare aspecte dintre cele actuale pentru cercetările în domeniu. Astfel de dificultăți se întâlnesc și în lucrul cu izoenzimele, care în gelul de amidon reprezintă benzi difuze [35], iar SSR în gel de agaroză deseori produc separarea slabă a benzilor [36].

Procesarea datelor obținute la separarea electroforetică a proteinelor cu ajutorul calculatorului este mai rapidă și ușoară și permite obținerea imediată a rezultatelor, precum puritatea genetică, gradul de hibridare sau de sterilitate etc. [37,38], ceea ce asigură facilitarea analizei prin

aplicarea realizărilor tehnologiilor informaționale. Rezultatele obținute vor sta la baza diferitelor baze de date, de exemplu, a celor de markeri moleculari care au fost validați. Aceștia pot fi utilizați cu succes pentru eficientizarea procesului de selecție și ameliorare a plantelor de cultură [39].

Deși selecția și ameliorarea plantelor de cultură are tradiții și o istorie foarte îndelungată, aceasta cu succes îmbină realizările științei moderne și devine un domeniu aplicativ al biologiei moleculare, al ingineriei genetice și al tehnologiilor informaționale.

#### **Referințe:**

1. Siminel V.D. Ameliorarea generală a plantelor de câmp.- Chișinău: Tipografia Centrală, 1998.
2. Vitalis R. & Couvet D.. Estimation of effective population size and migration rate from one-and two-locus identity measures // *Genetics*. - 2001. - Vol.157. - P.911-925.
3. William F. Tracy. What Is Plant Breeding? - In: *Proceedings of Summit on Seeds and Breeds for 21st Century Agriculture*. - Washington, DC, September 6-8, 2003, p.51-60
4. Vrânceanu A.V. Floarea-soarelui hibridă. - București: Ceres, 2000. - 1147 p.
5. Конарев А.В., Конарев В.Г., Губарева Н.К., Пенева Т.И. Белки семян как маркеры в решении проблем генетических ресурсов растений, селекции и семеноводства // *Цитология и генетика*. - 2000. - Т.34. - №2. - С.91-104.
6. Конарев В.Г. Белки растений как генетические маркеры. - Москва: Колос, 1983. - 320 с.
7. Созинов А.А. Полиморфизм белков и его значение в генетике и селекции. - Москва: Наука, 1985.
8. Chenuil A. Choosing the right molecular genetic markers for studying biodiversity: from molecular evolution to practical aspects. - *Genetica*. - 2006. - Vol.127. - P.101-120.
9. Henry R.J. Plant Genotyping: the DNA fingerprinting of plants // *CAB International*. - 2001. - P.265-273.
10. Gerber S., Mariette S., Streiff R., Bodenes C., Kremer A. Comparison of microsatellites and amplified fragment length polymorphism markers for parentage analysis // *Molecular Ecology*. - 2000. - Vol.9. - P.1037-1048
11. Davies, N., Villablanca F.X., Roderick G.K. Determining the source of individuals: multilocus genotyping in nonequilibrium population genetics // *Trends in Ecological Evolution*. - 1999. - Vol.14. - P.17-21.
12. Waser P.M. & Strobeck C. Genetic signatures of interpopulation dispersal // *Trends in Ecological Evolution*. - 1998. - Vol.13. - P.43-44.
13. Jones C.J., Edwards K.J., Castiglione S., Winfiels M.O., Sala F., Van der Wiel C., Vosman B.L., Matthes M., Daly A., Brettschneider R., Bettini P., Buiatti M., Maestri E., Marmiroli N., Aert R.L., Volckaert G., Rueda J., Vazques A. & Karp A. Reproducibility testing of RAPD, AFLP and SSR markers in plants by a network of European laboratories // *Molecular Breeding*. - 1997. - Vol.3. - P.381-390.
14. Duca M., Capatana A., Barbacar N. The inheredity of DNA amplicons in different sunflower genotypes // *Bulletin of Moldovan Academy of Science*. - 2006. - Vol.9. - P.15-23.
15. Duca M., Capatana A., Port A., Barbacar N. The estimation of heterosis effect based on molecular analysis (RAPD) in sunflower/Genetic polymorphism in homo- and heterozygote genotypes of sunflower // *Romanian Journal of Genetics*. - 2005. - Vol.1. - No.2. - P.22-31.
16. Ellsworth D.L., Rittenhouse K.D., Honeycutt R.L. Artifactual variation in randomly amplified polymorphic DNA banding patterns // *BioTechniques*. - 1993. - Vol.14. - P.214-217.
17. Teulat B., Zhang Y.X., Nicolas P. Characteristics of random amplified polymorphic DNA markers discriminating *Helianthus annuus* inbred lines // *Agronomie*. - 1994. - Vol.14. - No8. - P.497-502.
18. Deragon J.M., Landry B.S. RAPD and other PCR-based analyses of plant genomes using DNA extracted from small leaf disks // *PCR Methods Applications*. - 1992. - Vol.1. - P.175-180.
19. Hu J., Quiros C.E. Identification of broccoli and cauhflower cultivars with RAPD markers // *Plant Cell Reports*. - 1991. - Vol.10. - P.505-511.
20. Michelmore R.W., Paran I., Kesseli R.V. Identification of markers linked to disease resistance genes by bulked-segregant analysis: a rapid method to detect markers in specific genomic regions by using segregating populations // *Proceedings of National Academy of Science*. - 1991. - Vol.88. - P.9828-9832.
21. Connolly A.G., Godwin I.D., Cooper M., DeLacey I.H. Interpretation of RAPD marker data for finger printing sweet potato (*Ipomoea batatas* L.) genotypes // *Theoretical Applied Genetics*. - 1994. - Vol.88. - P.332-336.
22. Tao Y., Manners J.M., Ludlow M.M., Henzell R.G. DNA polymorphisms in grain sorghum (*Sorghum bicolor* (L.) Moench) // *Theoretical Applied Genetics*. - 1993. - Vol.86. - P.679-688.
23. Yang X, Quiros C. Identification and classification of celery cultivars with RAPD markers // *Theoretical Applied Genetics*. - 1993. - Vol.86. - P.205212.
24. Lawson W.R., Henry R.J., Kochman J.K., Kong G.A. Genetic diversity in sunflower (*Helianthus annuus* L) as revealed by RAPD analysis // *Australian Journal of Agricultural Research*. - 1994. - Vol.45. - P.1319-1327.
25. Молекулярно-биологические аспекты прикладной ботаники, генетики и селекции / Под ред. В.Г. Конарева. - Москва: Колос, 1993. - 447 с.

26. Lodish H., Scott M.P., Matsudaira P., Darnell J., Zipursky L., Kaiser C.A., Berk A., Krieger M. *Molecular Cell Biology*. W.H. Freeman Publisher, 5th Edition, 2003. - 973 p.
27. Levițchi A., Palade E., Țurcan E., Culicov A., Popistaș E. Determinarea purității genetice a liniilor de floarea-soarelui // Rezumatele comunicărilor la Conferința științifică internațională „Învățământul superior și cercetarea – piloni ai societății bazate pe cunoaștere”, 28 septembrie 2006, Chișinău, p.265-266.
28. Duca M., Capatana A., Port A., Glijin A., Articov G. Albumines electrophoretic analysis at different sunflower genotypes // *Actual problems of Genetics, Biotechn. and Breeding*. (Chisinau). - 2005. - P.115-119.
29. Duca M., Capățana A., Port A., Glijin A., Articov G., Ermolaev E. Analiza comparativă a globulinelor în cadrul sistemului ASC-Rf la floarea-soarelui. - În: *Genetica și ameliorarea plantelor, animalelor și microorganismelor*. - Chișinău, 2005, p.114-118.
30. Eliot M. Herman, Brian A. Larkins. Protein storage bodies and vacuoles // *The Plant Cell*. - 1999. - Vol.11. - P.601-613.
31. Peter R. Shewry, Johnathan A. Napier, Arthur S. Tatham. Seed Storage Proteins: Structures and biosynthesis // *The Plant Cell*. - 1995. - Vol.7. - P.945-956.
32. Гегэн Ж., Азанза Ж.Л. Состав и физико-химические свойства белков бобовых и масличных культур. - В кн.: *Растительный белок*. - Москва: Агропромиздат, 1991, с.149-175.
33. Анисимова И.Н., Гаврилюк И.П. Гетерогенность и полиморфизм 11 S-глобулина семян подсолнечника // *Генетика*. - 1989. - Т. XXV. - №7. - С.1248-1255.
34. Анисимова И.Н. Идентификация сортов, линий и гибридов подсолнечника по составу полипептидов гелиантинина // *Труды по прикладной ботанике, генетике и селекции*. - 1987. -Т.114. - С.114-126.
35. Suurs L., Jongedijk E., Tan M. Polyacrylamide gradient-gel electrophoresis: a routine method for high resolution isozyme electrophoresis of *Solanum* and *Lycopersicon* species // *Euphytica*. - 1989. - Vol.40. - No3. - P.181-186.
36. Nurdan Doúrar, Mahinur S. Akkaya. Optimization of PCR Amplification of Wheat Simple Sequence Repeat DNA Markers // *Turk Journal of Biology*. - 2001. - Vol.25. - P.153-158.
37. Căpățână Gh., Duca M., Levițchi A., Podduchin Vl., Rogojin Iu. Sistem informațional în biologie // *Culegere de lucrări științifice în memoria prof. univ. V.A. Zolotarevski „Ecuții Integrare și Modelarea Problemelor Aplicative” (EIMPA-2005)*. Chișinău (Moldova). - 2006. - Vol.II. - P.260-263.
38. Duca M., Căpățână Gh., Levițchi Al., Podduchin Vl. Sistem inteligent de asistență a unei clase de experimente biologice // Rezumatele comunicărilor la Conferința științifică internațională „Învățământul superior și cercetarea – piloni ai societății bazate pe cunoaștere”, 28 septembrie 2006. - Chișinău, p.23-24.
39. Frisch M., Lamkey K., Melchinger A. Storage of molecular marker data in databases for efficient use in plant breeding programs // *Zeitschrift fur Agrarinformatik*. - 2002. - Vol.10. - P.23-27.

*Prezentat la 18.07.2007*