MODIFICAREA ACTIVITĂȚII MICROGAMEȚILOR LA DESCENDENȚII TOMATELOR REINFECTATE CU VIRUSURI

MODIFICATION OF MICROGAMETE ACTIVITI IN THE OFFSPRING OF TOMATOES REINFECTED WITH VIRUSES

CZU: 635.64:632.38:575.16 **https://doi.org/10.59295/spd2025e.17**

Tatiana SALTANOVCI
ORCID: 0000-0002-1122-433
E-mail: tatiana.saltanovici@sti.usm.md
Institutul de Genetică, Fiziologie și Protecție a Plantelor,
Universitatea de Stat din Moldova, Chișinău, Republica Moldova

Larisa ANDRONIC
ORCID: 0000-0002-2761-9917
E -mail: larisa.andronic@sti.usm.md
Institutul de Genetică, Fiziologie și Protecție a Plantelor,
Universitatea de Stat din Moldova, Chișinău, Republica Moldova

Liudmila ANTOCI
ORCID: 0009-0006-4855-6544
E-mail: ludmila.antoci@sti.usm.md
Institutul de Genetică, Fiziologie și Protecție a Plantelor,
Universitatea de Stat din Moldova, Chișinău, Republica Moldova

Summary.*The paper presents the results of studies of the effect of high temperature and water stress on the variability of the male gametophyte of tomato offspring obtained from plants infected with viruses. Specific variability of such parameters as pollen-forming ability, pollen viability and pollen tube sizes was established. The obtained results by processing of multivariate dispersion analysis showed that the variability of these traits is largely controlled by the genotype and stress factors. At the haploid level, differences in genotype resistance to temperature and water deficiency were revealed. Genotypes characterized by a high level of microgamete resistance were identified for further practical use.*

Keywords: *tomato, pollen grain, pollen viability, virus, source of variation, variability, resistance.*

INTRODUCERE

În ultimii ani consecințele schimbărilor climatice se înregistrează tot mai frecvent, având un impact negativ asupra productivității plantelor și provoacă anual perturbări

semnificative ale randamentului. În acest sens sunt relevante cercetări privind identificarea caracterelor, ce asigură stabilitatea productivității genotipurilor în condiții stresogene. Activitatea microgameților în condiții nefavorabile ale mediului este un indiciu important, asociat cu mărimea și calitatea recoltei. A fost stabilit, că funcționalitatea polenului este influențată de variației genetice, iar absența heterozigoției în faza haploidă elimină efectele de dominanță și majorează eficiența selecției [1]. Conform datelor prezentate de Pacini, Dolferus [2] controlul genetic al rezistenței gametofitului mascul la stresuri abiotice a fost studiat insuficient. Rezultatele recente indică faptul că au fost determinate secvențe nucleotidice, ce au un rol important în determinarea termorezistenței și activității polenului. Totodată, a fost confirmat că toate etapele de dezvoltare și funcționare al gametofitului mascul pot fi afectate de influența factorilor stresogeni biotici și abiotici. Cercetătorii subliniază că în condiții de stres termic performanța polenului este una dintre cele mai importante caracteristici, asociate cu legarea fructelor [3, 4]. Pe fondal de deficit hidric a fost determinată insuficiența conținutului de apă în anterele și grăuncioarele de polen, fapt ce contribuie la diminuarea activității polenului și micșorarea productivității plantelor [2].

S-a demonstrat, că în condiții de influență asociată a factorilor abiotici și a agenților patogeni, răspunsurile defensive ale plantelor la diferite etape de dezvoltare, inclusiv și la etapele reproductive, pot fi majorate sau diminuate [5]. Astfel, infecțiile virale pot proteja plantele de impactul negativ al anumitor stresuri abiotice [6]. De exemplu, la plantele infectate cu virusul mozaicului napilor (Turnip Mosaic Virus, TuMV) a fost stabilită majorarea expresiei genelor defensive, deși la genotipurile expuse stresului abiotic acest fenomen nu s-a manifestat. În rezultat s-a constatat că infecția virală îmbunătățește rezistența plantelor la stresul abiotic prin creșterea nivelului de osmoprotectori și antioxidanți. În experiențele cu *Nicotiana benthamiana* și *Arabidopsis thaliana* infectate cu virusul cartofului X (Potato Viruc X, PVX) și virusul șarca prunelor (Plum Pox Virus, PPV) a fost stabilită majorarea toleranței plantelor la secetă prin creșterea acidului salicilic într-un mod independent de acidul abscisic (ABA) [7].

Luând în considerare faptul, că informația privind reacția la nivel haploid a descendenților de tomate, obținute de la plantele reinfectate cu virusuri este limitată, **scopul** cercetărilor realizate a constat în evaluarea activității gametofitului mascul la descendenții tomatelor reinfectate cu fitopatogeni virali.

MATERIAL ȘI METODĂ

Pentru realizarea experiențelor în calitate de material experimental au fost utilizați descendenții, obținuți de la plantele de tomate reinfectate cu VMT/VAT (virusul mozaicul tutunului - VMT, virusul aspermiei tomatelor - VAT): soiuri: Mary Gratefully, Venеț, Flacăra, Rufina (variante martor, reinfectare VMT, reinfectare VAT); forma spontană: *Solanum pimpinellifolium* (variante martor, reinfectare VMT, reinfectare

VAT). Materialul biologic a fost cultivat în condiţii de solar conform metodei standart. În scopul aprecierii calității polenului au fost colectate flori de la descendenții genotipurilor reinfectate şi varianta martor. Determinarea viabilității gametofitului mascul s-a efectuat prin cultivarea grăuncioarelor de polen în termostat cu regim termic optim 26 – 28 °C pe mediu nutritiv artificial, ce conţine soluție apoasă de zaharoză - 15%, acid boric - 0,006% (mediu-martor). Aprecierea reacției gametofitului mascul la acțiunea temperaturii înalte a fost realizată prin tratarea grăuncioarelor de polen în termostat cu temperatura de 40 °C timp de 3 ore. Pentru modelarea condițiilor de deficit hidric am utilizat mediu nutritiv suplimentat cu zaharoză (32-35%). În baza studiului microscopic au fost determinați următorii indici: viabilitatea (VP) şi rezistenţa polenului; lungimea şi rezistenţa tuburilor polenice (TP). Capacitatea de formare a grăuncioarelor de polen în florile de tomate a fost stabilită după metoda Иванова и др. (1996). Analizele statistice ale datelor experimentale au fost efectuate cu ajutorul programelor Statgraphics 5.0 și Excel 2013. Pentru aprecierea ponderii genotipului, factorilor stresogeni şi interacţiunii acestora în sursa de variație a caracterelor studiate am aplicat analiza dispersională polifactorială (ANOVA).

REZULTATE ȘI DISCUȚII

Formarea în condiții de stres a unui număr mare de grăuncioare de polen cu activitatea funcțională înaltă este unul dintre factorii determinanți ai biologiei reproductive, deoarece este asociat cu productivitatea plantelor. În cercetările noastre, în rezultatul determinării capacității de formare a polenului a fost stabilit, că la descendenții VMT2/VAT2 numărul grăuncioarelor de polen per floare a variat în limitele 516-528 mii și a fost redus de 4,8…4,9 ori în raport cu varianta martor. Acest fapt ce poate fi explicat prin eliminarea selectivă a unei părți din populația grăuncioarelor de polen cu viabilitate redusă în rezultatul infectării plantelor. De menționat, că aceste rezultate coincid cu datele obținute în experienţe cu combinații hibride de tomate, care în rezultatul infectării cu VMT de asemenea au manifestat diminuarea producției de polen [8].

Se consideră, că viabilitatea gametofitului mascul este un indiciu important, ce caracterizează funcționalitatea polenului, determină succesul fecundării și calitatea semințelor [9]. Menținerea nivelului înalt al viabilității microgameților la plante cu diferit statut fitosanitar în condiții climatice nefavorabile este o condiție importantă pentru utilizarea acestor date în practica ameliorativă. Analiza variabilității funcționalității microgameților a stabilit la descendenții plantelor reinfectate VAT2 reducerea VP cu 12,2% față de varianta martor (Figura1). De menționat, că în cercetările precedente la descendenții plantelor primar infectate n-au fost stabilite deosebiri semnificative după acest indiciu. Totodată, în rezultatul aprecierii lungimii TP la descendenții VMT2/VAT2 am constatat depășirea valorilor martorului cu 25,2 și 31,6% (respectiv), fapt ce poate fi asociat cu majorarea vitezei de creștere a TP. Conform datelor obținute anteri-

or, descendenții plantelor primar infectate cu VMT au atestat majorarea dimensiunilor TP cu 8,1% față de martor. Diferențele după viteza de creștere a TP sunt asociate cu competitivitatea lor diferită, care este determinată de diversitatea genetică a polenului; ca urmare, astfel de modificări pot cauza heterogenitatea zigoților și a semințelor.

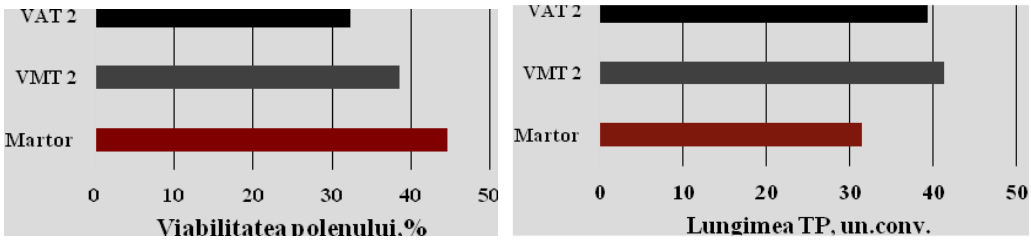


Figura 1. Variabilitatea indicelor microgameților la descendenții plantelor.reinfectate VMT/VAT

În rezultatul estimării activității microgameților pe fondal termic supraoptimal a fost stabilit, că influența acestui factor a redus VP în medie cu 9,3% comparativ cu martor. Conform datelor obținute nu toate grăuncioarele de polen au reacționat în mod egal la acțiunea termică, majoritatea acestora au manifestat reacții diferite. Astfel, la descendenții VMT2/VAT2 Veneț, Mary Gratefully, Flacăra, cât și Rufina VMT2 viabilitatea polenului s-a redus cu 3,4…30,0,1%, deci a fost atestat un efect inhibitor. La s. Rufna VAT2 și *S. pimpinellifolium* VMT2/VAT2 valorile acestui caracter au depășit valorile martorului cu 6,1…13,8%, ceea ce demonstrează manifestarea reacțiilor stimulative. Acțiunea termică în majoritatea cazurilor a reprimat creșterea TP, reducând dimensiunile acestora în medie de 1,6 ori față de martor. Printre genotipurile studiate cel mai mare efect inhibitor (de 2,4 și 1,9 ori) a fost constatat la descendenții s. Veneț VMT2/VAT2 și Flacăra VAT2; iar prin stabilitatea valorilor acestui caracter s-au evidențiat descendenții Mary Gratefully VAT2. De menționat, că aprecierea activității gametofitului mascul a acestor genotipuri în condiții de deficit hidric a demonstrat un efect inhibitor, acțiunea căruia a cauzat diminuarea VP cu 5,0…35,0% si reducerea lungimii TP cu 55,0…70,0%. În aceste condiții, la descendenții VMT2/VAT2 a fost stabilită diminuarea amplitudinei de variație după caracterul dat, cât și majorarea frecvenței de apariție a tuburilor polenice cu dimensiuni mici. Astfel, efectul deficitului hidric asupra gametofitului mascul la descendenții VMT2/VAT2 provoaca modificarea activității acestuia, reducând valorile medii ale viabilității polenului și lungimii tuburilor polenice, fapt ce poate cauza diminuarea productivității plantelor în condiții de secetă. De menționat, în aceste condiții nu toate grăuncioarele de polen reacționează în mod egal la acțiunea factorilor de stres; majoritatea acestora manifestă reacții specifice, fapt ce permite selectarea genotipurilor rezistente în baza variabilității existente.

Tabel. Sursele de variație ale indicelor gametofitului mascul de tomate în condiții de temperatură ridicată

Sursa de variație	Viabilitatea polenului			Lungimea TP		
	Grad de libertate	Suma pătratelor efectelor	CSV,%	Grad de libertate	Suma pătratelor efectelor	CSV,%
descendenții VMT2						
Genotip	4	8866*	36,5	4	3022*	12,8
VMT2	1	672*	11,1	1	237*	4,02
Temperatura	1	1326*	21,8	1	4365*	74,0
Interacțiunea factorilor	13	7156*	29,5	13	1893*	9,1
Efecte aleatorii	40	2541*	1,0	40	104,3*	0,04
descendenții VAT2						
Genotip	4	8306*	27,7	4	1625*	8,0
VMT2	1	1915*	25,5	1	84*	1,7
Temperatura	1	1038*	13,8	1	3894*	76,1
Interacțiunea factorilor	13	9514*	32,2	13	2791*	13,7
Efecte aleatorii	40	2530*	0,8	40	100*	0,5

* - $p<0,001$

Aplicarea testului ANOVA pentru analiza surselor de variație a indicelor gametofitului mascul în condiții de temperaturi ridicate a demonstrat acțiunea veridică ($P<0,001$) a genotipului, factorului termic, infecțiilor virale și interacțiunii acestora în variabilitatea indicelor polenului (Tabel). Astfel, modificarea VP a fost determinată de acțiunea genotipului cu 27,7...36,5%; influența temperaturii și a virusurilor a modificat variabilității caracterului dat cu 13,8...21,8 și 13,8...25,1% (respectiv). Conform rezultatelor analizei dispersionale, diferențele stabilite după dimensiunile TP în mare parte sunt cauzate de factorul termic cu 74,0...76,1%. La descendenții VMT2/VAT2 comparativ cu plantele reinfectate ponderea genotipului în variabilitatea lungimii TP s-a redus de 1,4…3,1 ori.

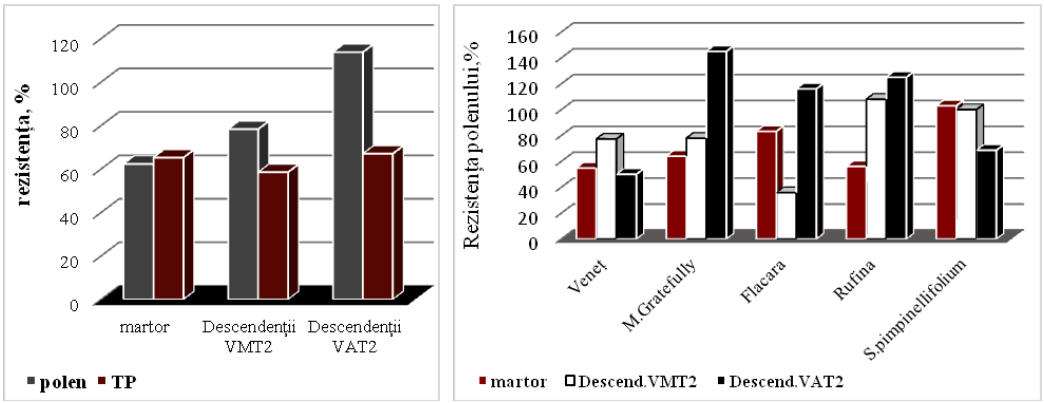
Prin urmare, pentru elaborarea strategiilor de ameliorare ale genotipurilor rezistente la temperaturi ridicate, este necesar de a lua în considerare informațiile privind particularitățile reactivității microgameților la stresul termic, deoarece genotipurile care demonstrează o stabilitate sporită la etapele reproductive, în majoritatea cazurilor, sunt mai adaptative.

Conform rezultatelor analizei dispersionale variația caracterelor gametofitului mascul în condiții de deficit hidric a fost controlată de genotip ($P<0,001$), deficitul

hidric și interacțiunea acestora. Contribuția genotipului în variabilitatea viabilității polenului a constituit 28,8…37,7%, ceea ce a depășit de 1,9…2,4 ori cota de influență a genotipului în variația acestui indiciu la plantele reinfectate; acțiunea deficitului hidric a cauzat 16,1…34,7% a modificării viabilității polenului. Totodată, la descendenții VMT2/VAT2, cât și la plantele reinfectate, deficitul hidric a provocat partea majoră a variabiltății tuburilor polenice - 79,1…82,9%.

Rezultatele analizei viabilității polenului după coraportul experiență/martor, care indică nivelul de termorezistență a genotipurilor, au demonstrat că valorile acestui caracter, la descendenții VMT2/VAT2 au fost similare și au constituit 61,0%, termorezistența TP a variat în limitele 52,7…54,3%. Descendenții VMT2/VAT2 au atestat un nivel de termorezistență mai înalt comparativ cu varianta martor (Figura 2A). De menționat, că la plantele primar infectate și reinfectate cu virusuri, acest indiciu a fost mai redus față de martor de 1,4…1,7 ori. Printre genotipurile investigate s-au evidențiat descendenții VMT2 Mary Gratefully, *S. pimpinellifolium* și Rufina VMT2/VAT2, care au îmbinat nivelul înalt de termorezistență al polenului (61,3…90,9%) și al tuburilor polenice (48,5…60,5%).

Rezultatele analizei rezistenței microgametofitului la deficitul hidric au stabilit la descendenții VMT2/VAT2 un nivel de rezistență mai mare față de martor cu 7,6 și 28,0%. Printre genotipurile studiate s-au evidențiat soiurile Venеț VMT2, Mary Grateully VMT2/VAT2, Rufina VMT2/VAT2 și *S. pimpinellifolium,* cu nivelul de rezistență 77,3…108,0%. Soiurile (VAT2) Mary Grateully, Rufina și Flacăra au atestat o rezistență înaltă de 116,0…145,0%, ce semnificativ a depășit valorile martorului (Figura 2B).



A **B**

Figura 2. Rezistența polenului la temperaturi ridicate **(A)** și deficit hidric **(B)**

CONCLUZII

❖ Descendenții de tomate VMT2/VAT2 au manifestat răspunsuri specifice, asociate cu modificarea producției și activității gametofitului mascul; variabilitatea stabilită

a fost influențată prioritar de genotip - 34,0…74,0%, fapt important pentru elucidarea bazei genetice a genotipurilor reinfectate cu virusuri și a descendenților acestora, cât și pentru lucrările de ameliorare.

❖ Tratarea termică a polenului la descendenții VMT2/VAT2 a contribuit la manifestarea modificărilor funcționale ale polenului, care în funcție de genotip s-au exprimat prin efecte stimulative sau inhibitoare; factorul termic a avut pondere decisivă în variabilitatea lungimii tuburilor polenice și termorezistenței microgameților – 49,3…76,1%, ceea ce relevă norma de reacție extinsă a acestor caractere. Descendenții VMT2 Mary Gratefully, *S. pimpinellifolium* și Rufina VMT2/VAT2, s-au evidențiat prin gradul înalt de termorezistență al polenului și al tuburilor polenice.

❖ Cultivarea *in vitro* a grăuncioarelor de polen pe medii cu deficit hidric a cauzat variabilitatea activității acestora, care a fost determinată pentru VP de genotip cu 28,8…37,7% și de deficitul hidric cu 16,1…34,7%, iar variația dimensiunilor TP a fost dependentă primordial de stresul hidric – 79,1…82,9%. La toate genotipurile incluse în studiu, nivelul mediu al rezistenței polenului la acest factor a fost destul de înalt și a variat în limitele a 77,3…108,0%.

REFERINȚE:

1. IMMLER, S. Haploid selection in “diploid” organisms. In: *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics*. 2019. 50. p. 219-236.
2. PACINI, E., DOLFERUS, R. Pollen Developmental Arrest: Maintaining Pollen Fertility in a World With a Changing Climate. Front. In: *Plant Sci.,* 2019. https://doi.org/10.3389/fpls.2019.00679.
3. XU, J., WOLTERS-ART, M., MARIANI, C. et al. Heat stress affects vegetative and reproductive performance and trait correlations in tomato (*Solanum lycopersicum*). In: *Euphytica.* 2017. 213. p.1–12.
4. DRIEDONKS, N., WOLTERS-ART, M., HUBER, H. et al. Exploring the natural variation for reproductive thermotolerance in wild tomato species. In: *Euphytica*. 2018. 214. p. 67.
5. MISHRA, R., SHTEINBERG, M., SHKOLNIK, D. et al. Interplay between abiotic (drought) and biotic (virus) stresses in tomato plants. In: *Mol Plant Pathol.* 2022. 23(4). p. 475-488.
6. GONZÁLEZ, R., BUTKOVIĆ, A., ESCARAY et al. Plant virus evolution under strong drought conditions results in a transition from parasitism to mutualism. In: *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 2021. DOI: 10.1073/pnas.2020990118
7. AGUILAR, E., CUTRONA, C., DEL TORO, F. et al. Virulence determines beneficial trade-offs in the response of virus-infected plants to drought via induction of salicylic acid. In: *Plant, Cell & Environment*. 2017. 40. p**.** 2909–2930.

8. КОРОЛЬ В.Г. Опыление и плодообразование у культуры томата в защищенном грунте. In: *Овощи России*. 2019. 3. p. 32-36.
9. SATO, S., PEET, M., THOMAS, J. Physiological factors limit fruit set of tomato (Lycopersicon esculentum Mill.) under chronic, mild heat stress. In: *Plant Cell Environ.* 2000, 23, p.719–726. ISSN: 1365-3040.

N.B. *Cercetările au fost realizate în cadrul subprogramului 011101 „Abordări genetice și biotehnologice de management al agroecosistemelor în condițiile schimbărilor climatice”, finanțat de Ministerul Educației și Cercetării.*