CZU: 577.22 :635.64 :581.2 https://doi.org/10.53040/ppap2023.52

PARTICULARITĂȚILE RĂSPUNSULUI GENOTIPURILOR DE TOMATE SUB ACȚIUNEA INFECȚIILOR VIRALE ȘI A DESCENDENȚILOR ACESTORA LA STRESUL ABIOTIC

MĂRÎI Liliana[1]*, ANDRONIC Larisa**[1], SMEREA Svetlana[1***],
RUDACOVA Angela[2], CHERDIVARĂ Ala[2], RUDACOV S. [2],
SAHANOVSCHIH[1] Marionela

[1] *Institutul de Genetică, Fiziologie și Protecție a Plantelor al USM, Chișinău, Republica Moldova*

[2] *Universitate de Stat din Moldova, Chișinău, Republica Moldova*

**https://orcid.org/0000-0003-3702-3583,*

*** https://orcid.org/0000-0002-2761-9917,*

****https://orcid.org/0000-0002-1978-0452,*

e-mail: lilimaryi@gmail.com

Summary. The evaluation of some polyvalent biochemical indicators under optimal conditions and heat or drought highlighted specific aspects if these plants came from parents infected with Tobacco Mosaic Virus (TMV) or Tomato Aspermy Virus (TAV). Thus, depending on the genotype, in both infected plants and their descendants, the POX values were usually higher or lower than the control group. The origin of the plants (control, TMV, TAV) had the largest contribution in the variability of H_2O_2 and stress for POX, respectively 74,1 and 23,6 %, and the combinations of the factors genotype, stress and origin had a considerable impact on the H_2O_2 content.

Keywords: *TMV, TAV, POX, H_2O_2, heat, drought, descendants, variability*

Introducere. În condiții nefavorabile plantele activează diferențiat derularea diferitor procese funcționale intracelulare, unele sisteme fiind suprasolicitate, iar altele dimpotrivă inhibate. Speciile reactive de oxigen (SRO) sunt produse ca unul dintre cele mai timpurii răspunsuri ale celulelor plantelor la stresul mediului, iar efectele acestora pot provoca modificări ale unei varietăți de procese biologice [5]. Pentru a combate stresul oxidativ, plantele au adoptat un sistem de control al conținutului celular de SRO. În mod surprinzător, plantele au dezvoltat, de asemenea, modalități de a valorifica un titru mai scăzut de SRO ca și componentă de semnalizare pentru a regla o mare varietate de procese vitale, inclusiv elongarea celulelor, diferențierea,

morfogeneza ca răspunsuri la factorii de stres [3]. Observațiile asociative au stabilit că infecțiile virale ar putea în anumite circumstanțe îmbunătăți toleranța plantelor la stresul abiotic, implicând diverse mecanisme de reglare - osmoprotector și antioxidant [10], de eficientizare a utilizării apei din plante [8], implicând reacții diferențiate la genotipurile sensibile și rezistente [1]. În diverse studii atestăm efecte transgenerațională la descendenții plantelor infectate cu virusuri, exprimând modificări semnificative ale profilului metabolic, precum și ale rezistenței la diverși factori [2, 6].

Scopul cercetărilor reprezintă evaluarea unor aspecte ce țin de modul în care planta percepe schimbările de mediu prin declanșarea ulterior a semnalelor de activare a răspunsului fiziologic la genotipuri cu reacții diferențiate la acțiunea infecțiilor virale și la descendenții acestora în condiții optime și de stres hipertermic sau deficit hidric.

Materiale și metode. În calitate de material de studiu au servit 8 genotipuri de tomate: Venеț, Jacotă, Mary Gratefully, Flacăra, Tomiș, Rufina (Tm-1/ Tm-2^2), *Solanum pimpinellifoliun, S. cheesmaniae*. Plantele au fost inoculate cu Virusul Mozaicului Tutunului (VMT) sau Virusul Aspermiei Tomatelor (VAT) la etapa de 4-6 frunzulițe. Prezenței infecției în plantă a fost confirmată prin intermediul metodei de contrastare negativă [4]. De la plante infectate au fost obținute semințe care au constituit descendența primei generații de plante (libere de virus), și care la vârstă de cca 4 săptămâni au fost expuse stresului cu temperaturi ridicate, cu creștere graduală (max 43^0C timp de 72 ore). Experiențele au fost realizate în condiții modelate de laborator. Varianta cu deficit hidric a fost limitată de apă până la ofilirea plantelor, cu suplinirea minimă până la restabilirea turgor-ului repetat în 3 reprize. Variantele optim și deficit hidric au fost menținute la temperatura de $26/21^0$C zi/noapte. Determinarea activității peroxidazelor (POX) a fost efectuată prin reacția cu benzidină, după metoda Boyarkov [11]. Analiza cantitativă a peroxidului de hidrogen (H_2O_2) în frunze s-a realizat prin metoda spectrofotometrică cu KI conform descrierii după Sergiev [9]. Prelucrarea statistică a datelor a fost realizată cu ajutorul pachetului de programe Statgraphycs Plus 5 și aplicației Excel.

Rezultate și discuții. Analiza a 6 soiuri de tomate și a 2 forme spontane infectate cu VMT sau VAT la cca 14 zile de la inoculare a stabilit un spectru larg de reacții exprimate fie prin creșterea activității POX față de valorile

martorului, diminuarea sau lipsa diferențelor (Fig.1). Formele spontane *S. pimpinellifolium* (S.P.) și *S. cheesmaniae (S.Ch.),* și soiul Mary Gratefully (MG) au indicat valori semnificative mai mari față de martor indiferent de infecția aplicată (creștere cu 12-181 %), în timp ce restul genotipurilor au exprimat valori mai mici (9-65 %), cu unele excepții: genotipurile Jacotă și Flacăra care au avut un răspuns diferențiat în funcție de tipul infecției virale, iar ultimul și o deviere foarte mică față de martor. Conform datelor din literatură, sub acțiunea infecțiilor virale genotipurile rezistente sau tolerante de tomate exprimă o creștere considerabilă a activității POX, totodată, în dinamica procesului de infectare acest indice poate varia semnificativ atât în sensul creșterii, cât și diminuării față de martor [7].

În vederea stabilirii unor eventuale efecte intergenerative la descendenții de la părinți afectați de infecții virale, din fiecare grup reprezentativ ca și tendință față de martor după POX (valori medii mai mari, mai mici, diferențiat) a fost selectat câte un genotip, iar succesorii acestora (variantele martor, VMT sau VAT), au fost expuși stresului hipertermic sau deficitului hidric.

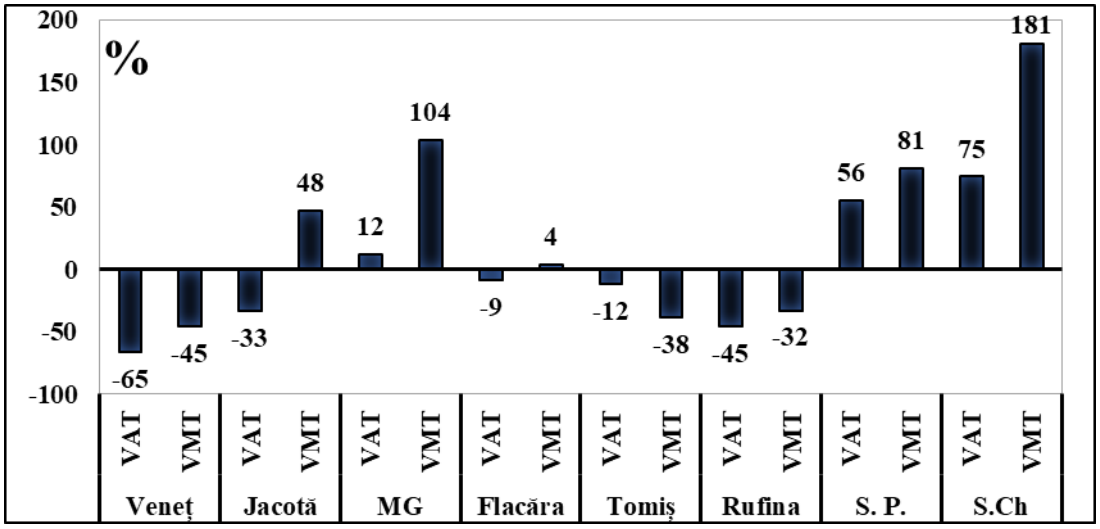


Figura 1. Variația indicilor POX la plantele infectate cu VMT sau VAT în raport cu valorile medii ale martorului (%).

Conform datelor prezentate în Tabelul 1 și Figura1 constatăm că, în condiții optime doar genotipurile Rufina și *S. pimpinellifolium* au menținut aceeași tendință față de martor după POX ca și la formele parentale, valori mai mici sau mai mari, respectiv. De asemenea, evaluarea activității POX la plantele

menținute în condiții optime a stabilit că, pentru genotipurile Jacota și *S. pimpinellifolium* aceasta a indicat valori semnificativ mai mari la descendenții plantelor infectate cu VAT / VMT comparativ cu martorul, și dimpotrivă valori mai mici pentru genotipurile Mary Gratefully și Rufina. Cea mai mare deviere în creștere față de martor în condiții optime a fost stabilită pentru descendenții VMT *S. pimpinellifolium* (64.1%), iar în scădere pentru Rufina VMT (-43.3%) (Tabelul 1).

În cazul variantelor (martor, VAT sau VMT) expuse stresului termic valorile POX au fost de 2-5 ori mai mari comparativ cu variantele similare menținute în condiții optime. În mod similar, variantele expuse stresului hidric, deși de regulă acestea au indicat valori statistic mai mari față de variantele din condiții optime, totuși, diferențele raportului numeric dintre variantele stres-optim au fost mult mai mici comparativ cu stresul termic, iar valoarea maximă a POX a fost de 1,86 ori mai mare în varianta VMT/stres hidric decât în condiții optime (Rufina).

Rezultatele obținute de asemenea denotă că, variantele VAT ale celor 4 genotipuri expuse stresului termic au indicat valori mai mari după POX atât față de varianta VMT, cât și martor, totodată, pentru varianta VMT indicii au fost de regulă mai mari față de martor (excepție Rufina). Astfel, pentru varianta VMT - valorile indicilor POX au constituit 0,93-1,33 din valoarea martorului în condiții similare de stres termic și pentru VAT 2,18-2,43 (Tabelul 1). Pentru 2 genotipuri, Rufina și *S. pimipnellifolium,* s-a atestat o reacție diferențiată a descendenților VMT și VAT expuși la același stres. Spre exemplu, descendenții VMT *S. pimpinellifolium* au indicat valori cu 44,3 % mai mari decât martorul în condiții de stres hidric, iar varianta VAT, dimpotrivă, o diminuare cu 14,6 %.

Tabelul 1. Indicii POX la descendenții plantelor infectate cu VMT sau VAT (unități/sec/g) și valorile de raport față de martor (%) în condiții optime și de stres termic sau hidric

	Varianta		X	S_x	% martor		Varianta		X	S_x	% mar-tor
Jacota		VMT	0,760	0,030	42,1	**Rufina**		VMT	0,453	0,006	-43,3
		VAT	0,674	0,013	26,0			VAT	0,633	0,015	-20,7
	Optim	M	0,535	0,014			*Optim*	M	0,798	0,022	
		VMT	2,416	0,038	33,6			VMT	***1,191***	0,016	-6,6
	Stres	VAT	2,630	0,080	45,4		*Stres*	VAT	2,135	0,081	67,5
	termic	M	1,808	0,037			*termic*	M	1,275	0,018	

	Stres hidric	VMT	0,929	0,015	49,0		*Stres hidric*	VMT	***0,844***	0,020	-14,7
		VAT	1,041	0,024	66,8			VAT	0,683	0,011	-30,9
		M	0,624	0,009				M	0,989	0,035	
Mary Gratefully	*Optim*	VMT	0,531	0,005	-20,5	**S. pimpinellifolium**	*Optim*	VMT	0,624	0,012	64,1
		VAT	***0,606***	0,012	-9,2			VAT	0,490	0,012	28,8
		M	0,667	0,017				M	0,380	0,009	
	Stres termic	VMT	***1,543***	0,029	12,8		*Stres termic*	VMT	1,875	0,056	30,4
		VAT	2,987	0,059	118,4			VAT	2,353	0,034	63,5
		M	1,368	0,031				M	1,439	0,032	
	Stres hidric	VMT	0,678	0,017	38,5		*Stres hidric*	VMT	0,801	0,017	44,3
		VAT	0,648	0,012	32,4			VAT	0,474	0,007	-14,6
		M	0,490	0,008				M	0,555	0,005	

Notă: Pentru toate valorile medii X - diferența între variantele VMT sau VAT și M - martor au fost semnificative pentru P≤0,001, cu excepția valorilor evidențiate cu bold care au indicat diferențe semnificative pentru P≤0,01, (unități/sec/g).

Cele mai mari valori medii ale POX per experiență au fost stabilite pentru genotipurile Mary Gratefully și Jacotă, descendența de la plantele infectate cu VAT, expuse stresului termic, iar creșterea a constituit 4,96 și 3,92 ori, respectiv, față de aceeași variantă în condiții optime și de 2,2 și 1,45 ori, respectiv, mai mult față de varianta de la plantele martor în condiții de stres termic. Diferențe semnificative între variante (martor-virus și optim-stres), după POX au fost stabilite și în condiții de deficit hidric, dar cu tendințe specifice în funcție de genotip. Astfel, în funcție de originea materialului semincer (VAT, VMT) atestăm atât creșterea, cât și diminuarea valorilor POX comparativ cu martorul. Luând în calcul tendințele diferite de raport stres-optim și virus-martor în diferite combinații s-a impus necesitatea utilizării analizei variației, care a scos în evidență că cea mai mare variabilitate a POX revine pe seama factorului *stres* (74,1%), urmată la mare distanță de combinații dintre ceilalți factori incluși în studiu (Figura 3A).

Luând în calcul semnificația H_2O_2 în diverse procese din plante - creșterea, diferențierea țesuturilor, mesager în manifestarea rezistenței dobândite, putem remarca că conținutul lui este diferit la genotipurile analizate, în plus se atestă particularități relevante în funcție de originea materialului pe fondal de stres termic sau hidric.

Constatăm că, în condiții optime variantele provenite de la plantele infectate cu VMT sau VAT au indicat o creștere substanțială a conținutului de H_2O_2 raportat la martor cu minim 29% și maxim 199%, Rufina și Mary

Gratefully, respectiv (Figura 2). După valorile medii absolute cel mai mare conținut de H_2O_2 se atestă la genotipul *S. pimpinellifolium* și cel mai mic la Rufina. Deși la toate genotipurile se remarcă o variație specifică de tipul infecției virale aplicate anterior - VMT sau VAT- atestându-se valori statistic diferite între aceste variante, totuși la 3 din 4 genotipuri indicii H_2O_2 la descendenții VMT au fost mai mari față de VAT, iar creșterea fost de 2,1 ori la Mary Gratefully și cca 1,2 ori la Rufina și *S. pimpinellifolium*.

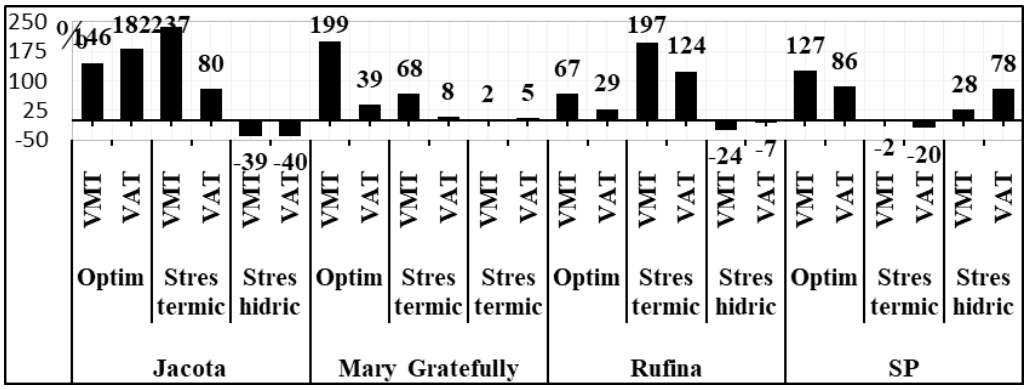


Figura. 2. Variația conținutului de H_2O_2 la descendenții de la plantele infectate cu VMT sau VAT raportat la valorile martorului (%) în condiții optime și de stres hipertermic sau deficit hidric, %

De asemenea se atestă că aceleași variante expuse diferitor stresuri au exprimat tendințe diferite față de varianta martor: stresul termic a determinat de regulă valori mai mari la descendenții VMT sau VAT comparativ cu martorul în aceleași condiții pentru Jacotă, Rufina și parțial Mary Gratefully (VMT), iar stresul hidric dimpotrivă, a determinat valori sub media martorului sau diferențe nesemnificative (Figura 2). Genotipul *S. pimpinellifolium* a avut o reacție diametral opusă celorlalte genotipuri, stresul hidric provocând creșterea conținutului de H_2O_2 față de martor la descendenții VMT sau VAT, iar cel termic scăderea sau lipsa diferențelor.

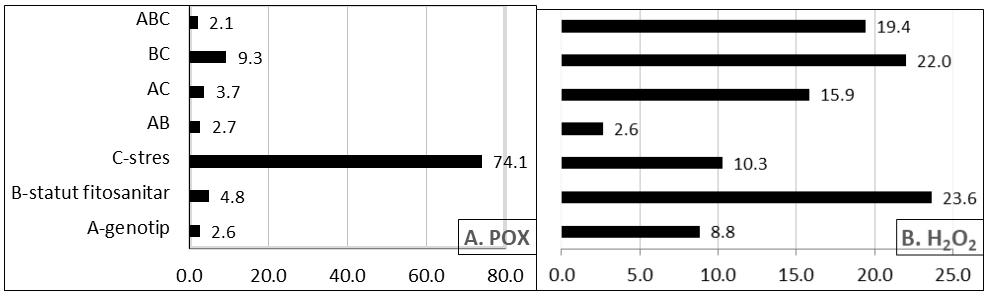


Figura. 3. Contribuția factorilor în variabilitatea a indicelui POX (A) și conținutului de H_2O_2 (B), %.

Astfel, constatăm că, de regulă, un anumit tip de stres induce efecte similare față de martor (creștere sau diminuare) indiferent de statutul fitosanitar al părinților. Totodată se atestă și efectul particular al tipului de stres, spre exemplu la soiul Jacotă, stresul termic induce valori mai mari față de martor, iar cel hidric mai mici.

Generalizând rezultatele în baza analizei variației, constatăm că toți factorii au contribuție semnificativă în variația conținutului de H_2O_2, iar cel mai mare aport îi revine factorului *statut fitosanitar* (23,6%) și interacțiunea factorilor s*tres x statut fitosanitar* (22,0%), urmată de interacțiunea tuturor factorilor *genotip-statut fitosanitar –stres* (19,4%) (Figura. 3 B). Adică, variantele ce provin de la părinți infectați au exprimat anumită variabilitate în funcție de genotip și condițiile de cultivare-optim, stres hipertermic sau deficit hidric.

Concluzii. Plantele reacționează diferit la schimbările de mediu (factori de stres biotic sau abiotic) în funcție de constituția lor genetică. O contribuție specifică în declanșarea răspunsului fiziologic la stres o are statutul fitosanitar al plantelor recurente, care amplifică sau diminuează reacțiile prin prisma multitudinii factorilor la care sunt supuse. Astfel, pentru indicele POX, factorul *stres* a avut contribuția ce mai mare în variabilitate, iar pentru H_2O_2 *statutul fitosanitar* precum și combinațiile factorilor evaluați care au partajat contribuții echivalente în manifestarea distinctivității de răspuns.

Cercetările au fost realizate în cadrul proiectului Programului de Stat 20.80009.7007.04 „Biotehnologii și procedee genetice de evaluare, conservare și valorificare a agrobiodiversității”, finanțat de Agenția Națională pentru Cercetare și Dezvoltare.

Bibliografie

1. Anfoka G., Moshe A., Fridman L. et al. *Tomato yellow leaf curl virus* infection mitigates the heat stress response of plants grown at high temperatures. In: *Sci Rep*, 2016, 6, 19715. https://doi.org/10.1038/srep19715
2. Bilichak A., Ilnystkyy Y., Hollunder J., Kovalchuk I. The progeny of *Arabidopsis thaliana* plants exposed to salt exhibit changes in DNA methylation, histone modifications and gene expression. In: *PLoS ONE*. 2012. Vol. 7(1). e30515. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0030515
3. Choudhury S., Panda P., Sahoo L., Panda S.K. Reactive oxygen species in plants under abiotic stress. In: *Plant Signal Behav*, 2013, 8: 323681.
4. Electron microscopy in diagnosis of plant viruses. PM 7/126 (1). In: *Bulletin OEPP/EPPO Bulletin*, 2015, 45 (3), p. 450–453.
5. Hernández J., Gullner G., Clemente-Moreno M., et al. Oxidative stress and antioxidative responses in plant-virus interactions. In: *Physiological and Molecular Plant Pathology*, 2015, S0885576515300278–. doi:10.1016/j.pmpp.2015.09.001.
6. Luna E., Bruce T. J., Roberts A., et al. Next-Generation Systemic Acquired Resistance. In: *Plant physiology*. 2011, 158(2), p. 844–853.
7. *Matkovics B., Szabo L., Varga* S. I. Study of host-parasite interaction in tomato plants. In: *Acta Biologica Szeged.* 1981, 27(1-4), p. 17-23.
8. Pagliarani C., Moine A., Chitarra W. et al. The C_4 protein of tomato yellow leaf curl Sardinia virus primes drought tolerance in tomato through morphological adjustments. In: *Horticulture Research*, 2022, 9, https://doi.org/10.1093/hr/uhac164.
9. Sergiev I., Alexieva V., Karanov E. Effect of spermine, atrazine and combination between them on some endogenous protective systems and stress markers in plants. In: *Compt. Rend. Acad. Bulg. Sci.*, 1997, 51, p. 121–124.
10. Xu, P., Chen, F., Mannas, J. P., Feldman, T., Sumner, L. W., & Roossinck, M. J. Virus infection improves drought tolerance. In: *New Phytologist*. 2008, 180(4), p. 911–921.
11. Рогозин, В.В. *Пероксидаза: строение и механизм действия*. Иркутск: Изд-во ИГТУ, 2004. 200 с.