UDC: 575.22:635.64 https://doi.org/10.53040/gppb8.2024.24

IDENTIFICAREA RELAȚIILOR DINTRE PARAMETRII CE CONTRIBUIE LA DIFERENȚIEREA RĂSPUNSULUI TOMATELOR LA DEFICIT HIDRIC

Mărîi Liliana*, *orcid.org/0000-0003-3702-3583,*
Andronic Larisa, *orcid.org/0000-0002-2761-9917,*
Sahanovschih Marionela, *orcid.org/0009-0007-1317-7701,*
Ionașcu-Urechii Angela, *orcid.org/0009-0002-4376-7466,*
Institutul de Genetică, Fiziologie și Protecție a Plantelor, USM, Chișinău, Republica Moldova
** e-mail: liliana.marii@sti.usm.md*

Summary. The study aims to analyze the conventionally associated reactions between different quantitative indices in the formation of the plant's response to drought (PEG 6000) in tomato sprouts. The results indicate a moderate positive correlation between PEG6000 concentration (0, 10, 12%) and seed germination rate in 10 genotypes. A significant decrease in seedling and radicle length (18-67%) was observed under stress conditions, with a stimulation of lateral and adventitious radicle formation. Principal Component Analysis (PCA) for 9 quantitative indicators in 5 tomato genotypes identified that the first three principal components explain 82.3% of the variability, presenting combinations of traits with diametrically opposite effects, some increasing the variance of the data field and others, on the contrary, decreasing it, thus differentiating the genotypes in the coordinate plane based on their response to optimal conditions or stress as determined by the principal components. This fact allows us to highlight the indicators that are relevant in estimating the genotype's reaction to stress.

Keywords: drought, tomato, traits, multivariate statistic methods.

Introducere

Germinația semințelor este un proces crucial pentru continuitatea perpetuării speciilor cu reproducere sexuată. Studiile științifice au investigat diferite aspecte ale impactului deficitului hidric asupra germinării semințelor de tomate, evidențiind atât modificări structurale și morfologice, cât și schimbări fiziologice și biochimice ale germenilor [6]. În condiții de deficit hidric, semințele absorb mai puțină apă, ceea ce întârzie procesul de inițiere a germinării, afectând procesele de sinteză și activitate a enzimelor implicate în degradarea rezervelor nutritive din endosperm, esențiale pentru creșterea embrionului [4]. Studiile histologice arată că germenii supuși stresului hidric prezintă celule mai mici și spații intercelulare reduse, sugerând o diminuare a extensibilității celulare [5]. Aceste modificări conduc la o creștere redusă a embrionului, afectând dezvoltarea ulterioară a plantulei [1]. Susceptibilitatea tomatelor la deficitul hidric este adesea un fenomen specific asociat unei etape ontogenetice și poate varia de la stadiile vegetative la cele de reproducere ale aceleiași plante [3]. Stresul hidric induce acumularea de specii reactive de oxigen (ROS), care pot cauza daune oxidative la nivelul membranelor celulare, proteinelor și acizilor nucleici, dar și activarea specifică a mecanismelor antioxidante [2]. Astfel, înțelegerea deficitului și gestionarea corectă a regimului hidric în faza de germinare este crucială pentru optimizarea producției de tomate.

Derularea schimbărilor la acțiunea factorilor de stres se declanșează practic instantaneu în interiorul celulei și treptat se exteriorizează la nivelul întregii plante. Aceștia pot fi și indicatori relevanți ai adaptării la stres, prin intermediul transformărilor ce au loc la nivel molecular, celular, biochimic și morfologic [7]. În contextul evaluării unui spectru variat de parametri la germenii expuși stresului abiotic la diferite genotipuri de tomate, aplicarea Analizei Componentelor Principale (ACP) permite reducerea dimensionalității datelor complexe, facilitând identificarea

celor mai importante variabile care contribuie la variația răspunsului observat, oferind o vizualizare clară a diferențelor și similarităților între genotipuri.

Materiale și metode

În studiu au fost incluse diverse genotipuri de tomate (varietățile *Solanum pimpinellifolium*, *S. chilense*, soiurile Mary Gratefully, Jacota, Elvira, Mihaela, Flacăra, Tomiș, Venеț, Rufina, Anatolie, Trapeza, Prestij, Cisgen și linia interspecifică 23C), expuse stresului cu deficit hidric, simulat cu aplicarea diferitor concentrații de PEG 6000 (4-12%). Cercetările au fost efectuate în condiții controlate de laborator. Semințele au fost plasate pentru germinare în cutii Petri. Au fost evaluați indicii de germinare în condiții optime și de deficit hidric, în dinamică: rata de germinare (RG), lungimea radicului (LR) și a plantulei (LP), cota lungimii radicului din lungimea plantei (CRP), numărul de rădăcinuțe adventive/laterale pe hipocotil (RH), joncțiune (RJ) și radiculă (RR), TR-total rădăcinuțe, conținutul de peroxid de hidrogen (H_2O_2) și conductibilitatea electrolitului scurs din germeni (C). Viabilitatea celulelor a fost analizată pe preparate microscopice histochimice. Cercetările au vizat stadiile de dezvoltare fenologică 05-11 după scara BBCH. Datele primare au fost prelucrate prin intermediul aplicaților statistice Excel, Statgraphics plus și Statistica.

Rezultate și discuții

În condiții de laborator au fost realizate sincronizat experiențe ce au inclus 4-12 genotipuri evaluate în condiții de deficit hidric la stadiul de germene cu evaluarea unor parametri morfologici, biochimici și fiziologici în vederea studierii particularităților de răspuns între genotipuri. Au fost analizate 5 concentrații de PEG 6000 (0, 4, 6, 8, 10, 12 %), care conform diferitor surse bibliografice pot fi utilizate ca factor de selecție la deficit hidric. Ca rezultat al cercetărilor curente a fost stabilit că, concentrația optimă a PEG 6000 pentru diferențierea reacției de răspuns a genotipurilor de tomate la germinare în condiții de deficit hidric constituie 12%. Astfel, la concentrația de 10% PEG 6000 (-0,65kPa) la 14 zile de la imersare în soluție, lipsa germinării (rata germinării 0%) a fost stabilită pentru 2/10 din genotipuri, rata de germinare de 1-50 % la 2/10 genotipuri și mai mult de 50% la 6/10 genotipuri, iar în soluție de 12% PEG 6000 respectiv 2/10, 4/10 și 4/10 (Tabelul 1).

Tabelul 1

Cota genotipurilor cu diferită rată de germinare a semințelor în funcție de concentrația PEG 6000 (10 genotipuri analizate)

Rata de germinare a semințelor, 14 zile							
%, PEG6000	0 %	1-50 %	>50 %	%, PEG6000	0%	1-50 %	>50 %
10%	1/10	3/10	6/10	12 %	2/10	4/10	4/10

Rezultatele obținute denotă că modelul liniar al regresiei în relația dintre Rata de germinare și concentrația PEG este conform ecuației: Rata = 103,806 - 5,39785 x concentrația PEG. Analiza regresiei (R^2) indică faptul că modelul descris explică 58,31% din variabilitatea în rata de germinare. Coeficientul de corelație dintre concentrația PEG6000 și rata de germinare este egal cu -0,763672, indicând o relație moderat puternică între variabilele. Modelul de regresie demonstrează faptul că pentru fiecare creștere a concentrației PEG 6000 cu 1%, rata de germinare scade în medie cu 5,4 %.

Deficitul hidric afectează vădit indicele de creștere al radicului și plantulei, implicit prin diferite mecanisme ce ar putea rezulta în stoparea dividerii celulelor, a expansiunii lor sau a apoptozei celulare. În acest context s-a evaluat gradul de afectare a zonei meristematice a radicului la germenii expuși deficitului hidric, prin aprecierea histochimică cu Evans blue (testul viabilității celulelor), în care s-a constat că soluția de 8% PEG 6000 afectează 100% din radicule la genotipurile sensibile, 25-45% de radicule la soiurile tolerante și lipsa afectării la formele *S.*

pimpinellifolium și *S. chilense*. In aceeași ordine de idei, luând în calcul că zona meristematică afectată de stres nu permite creșterea în lungime a radicului ca urmare apoptozei celulelor, s-a constatat stimularea formării radicelelor laterale și adventive. Analiza germenilor la etapa de dezvoltare BBCH 07 a 5 genotipuri expuse stresului hidric (10% PEG 6000) a confirmat creșterea numărului de radicule adventive/laterale apărute pe zona hipocotilului, joncțiunii și radicului la 10 zile de germinare în condiții de stres, comparativ cu varianta martor. Astfel creșterea numărului total de radicelele adventive a fost de 1,04-4,7 ori mai mare față de martor, cea mai mare contribuție fiind pe seama rădăcinuțelor laterale de pe radicelă, creșterea față de martor fiind de 1,6-12,1 ori (Figura 1).

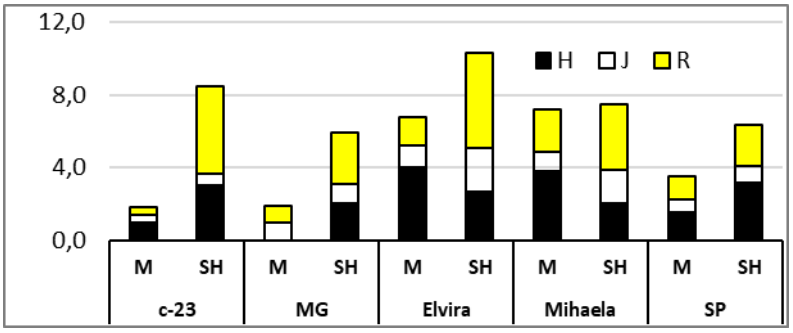


Figura 1. Numărul rădăcinuțelor în varianta martor și condiții de deficit hidric (SH) pe durata de 10 zile de germinare: H - hipocotil, J - joncțiune, R - rădăcina principală. SP - *S. pimpinellifolium*, MG - Mary Gratefully, C-23-linie recombinantă

Inevitabil, afectarea integrității celulelor din zona meristematică a radicului în condiții de deficit hidric s-a răsfrânt și asupra lungimii totale a radicului. Diminuarea lungimii radicului a fost de 0-38% din valoarea martorului, iar a tulpinței de 9-58 %, astfel fiind stabilit un efect depresiv mai puternic asupra creșterii tulpinței față de radicelă. Acest fapt s-a reflectat și în arhitectura germenului, și anume în coraportul diferit dintre lungimea radicului și a tulpinței din lungimea plantulei. Astfel în cazul variantelor martor a 13 genotipuri radicula a constituit 33-82%, iar în variantele cu stres hidric 59-82%, restul revenind pe seama tulpinței (Figura 2).

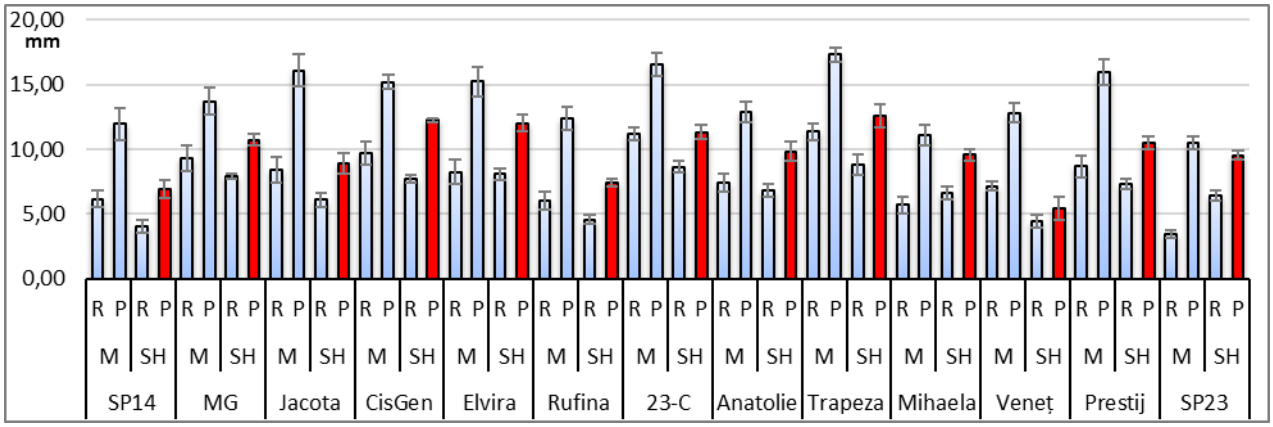


Figura 2. Distribuția valorilor medii ale lungimii radicului (R) și a plantulei (P) în varianta martor (M) și cea expusă la stres hidric (SH) (valoarea medie și devierea standard)

Stresul hidric determină schimbări semnificative în sisitemul redox al plantei exprimat prin acumulări consitente de specii recative de oxigen, iar în consecință și a creșterii activității antioxidative [2]. Rezulatele obținute denotă creșterea conținutului H_2O_2 în germenii menținuți în condiții de dificit hidric comparativ cu martorul. Totodată, analiza variației a stabilit că variația H_2O_2 în condiții de deficit hidric se datorează în proporție de 28 % stresului și 57% combinației

factorilor stres și genotip, ceea ce denotă reacții specifice a acestui indice în funcție de combinația factorilor (Tabelul 2).

Din cele relatate rezultă, că deși tendința generală a manifestării caracterelor în condiții de deficit hidric este similară pentru genotipuri, totuși reacțiile specifice ar furniza informații despre sensibilitatea anumitor caractere, sau contribuția sumară a lor în variabilitatea răspunsului. În acest sens este util a aplica metoda Analiza Componentelor Principale (ACP), care este o metodă descriptivă de analiză multidimensională a datelor ce se aplică pentru studiul legăturilor dintre variabilele numerice. Ea are drept sarcini scoaterea în evidență a legăturilor de corelare între variabile (indicatori, caractere), evidențierea asemănărilor / deosebirilor după ansamblul de date.

Tabelul 2

Analiza varianței conținutului de peroxid de hidrogen în germenii plantelor de tomate menținuți în condiții de deficit hidric

Sursa de variație	Suma pătratelor	Grad de libertate	Media pătratică	Testul Fisher	Puterea de influență, %
A: Genotip	229272	6	38212,0	9,36***	10,32227
B: Stres	611537	1	611537,0	149,86***	27,53257
A x B	1266070	6	211012,0	51,71***	57,0009
Rezidual	114261	28	4080,7		
Total	2221140	41			

Această metodă ne ajută să selectăm dintr-un set de indicatori doar pe cei mai relevanți, care acoperă variațiile întregului set de date. Reieșind din faptul că caracterele incluse în studiu au diferite unități de exprimare, datele inițiale sunt standardizate, și în baza lor se efectuează analizele ulterioare. Pentru derularea APC au fost analizate 5 genotipuri în 2 variante (martor și stres) pentru un spectru de 9 indicatori. Pentru a decide dacă prin ACP vom obține rezultate relevante a fost generat tabelul corelațiilor Pearson (Tabelul 3), din care rezultă combinații de caractere preponderent cu o corelare moderată până la puternic (r= 0,5….0,9):LR-LP, LR-CRD, H202-RR, RH-TR, RJ-TR, RJ-C, RR-TR. Analiza componentelor principale scoate în evidență axe ortogonale (componente principale) care reprezintă un nou sistem de referință construit în baza combinațiilor liniare de variabile și care captează variația maximă a datelor existente la nivelul întregului lot de date.

Tabelul 3

Corelarea dintre unele caractere morfologice și fiziologice asociate cu răspunsul plantulelor de tomate la stresul hidric

	LR	LP	CRP	H_2O_2	RH	RJ	RR	TR
LR	1,00							
LP	0,73	1,00						
CRP	0,70	0,03	1,00					
H_2O_2	-0,15	-0,34	0,14	1,00				
RH	-0,29	-0,22	-0,11	-0,08	1,00			
RJ	-0,12	-0,28	0,16	0,56	0,19	1,00		
RR	-0,08	-0,50	0,43	0,69	0,42	0,63	1,00	
TR	-0,20	-0,45	0,24	0,48	0,74	0,66	0,90	1,00
C	-0,11	-0,41	0,31	0,33	0,13	0,81	0,60	0,58

Notă: Lungimea radicului (LR) și a plantulei (LP), cota lungimii radicului din lungimea plantei (CRP), numărul de rădăcinuțe adventive/laterale pe hipocotil (RH), joncțiune (RJ) și radiculă (RR), total rădăcinuțe (TR), conținutul de peroxid de hidrogen (H_2O_2) și conductibilitatea electrolitului (C).

Valorile proprii ale matricei de corelație arată varianța explicată de fiecare component, iar vectorii proprii indică direcțiile componentelor principale. Selectând componentele cu cele mai mari

valori proprii, se reduce dimensiunea datelor, păstrând informațiile esențiale. Pentru a decide câte componente principale este indicat a fi păstrate vom identifica valorile proprii (eigenvalues) mai mari ca 1. Astfel, din tabelul 4 reiese că ar trebui să luăm în calcul primele 3 componente, care au valori mai mari ca 1, și care în cazul nostru însumează 81,99 % din variabilitate, cu o distribuție a variației maxima de 45,76 , 22,78 și 13,54%, pentru CP1, CP2 și CP3, respectiv, ceea ce indică faptul că cele trei componente oferă o descriere bună a datelor originale. Astfel, prima componentă principală preia maximul din varianța variabilelor originale, a doua componentă preia maximul de varianță rămasă, neexplicată de prima componentă principală, a treia componentă preia maximul din varianța rămasă, neexplicată de primele două componente.

Tabelul 4

Indicii statistici ai analizei componentelor principale pentru 9 caractere biomorfologice a genotipurilor de tomate în condiții optime și de deficit hidric

Parametru	CP1	CP2	CP3	CP4	CP5	CP6	CP7	CP8	CP9
Valori proprii	4,13	2,05	1,22	0,75	0,70	0,11	0,05	0,00	0,00
Varianta, %	45,93	22,73	13,55	8,32	7,79	1,17	0,51	0,00	0,00
Cumulativ, %	45,93	68,66	82,21	90,52	98,32	99,49	100,00	100,00	100,00

Pentru a evidenția factorul care influențează determinant CP1 recurgem la stabilirea vectorilor proprii (eigenvectors) ai matricei de corelare (Tabelul 5), de unde constatăm că CP1 (45,93%) crește odată cu nivelul variabilelor - LP și descrește proporțional cu variabilele RR, TR, RJ, C și H_2O_2, iar variabila CRP are o valoare neglijabilă în explicarea variației CP1. În același timp, restul variației este explicată de CP2 (22,73%) fiind determinată de LP, CRP si LR, iar CP3 (13,55%) de RH.

Tabelul 5

Vectorii proprii ai matricei de corelare

	LR	**LP**	**CRP**	**H_20_2**	**RH**	**RJ**	**RR**	**TR**	**C**
CP 1	0,1487	0,3092	-0,1232	-0,3203	-0,2307	-0,3961	-0,4552	-0,4531	-0,3763
CP 2	0,6506	0,3466	0,5909	0,0818	-0,2268	0,1132	0,1367	0,0002	0,1328
CP 3	0,1703	0,2131	0,0870	-0,4357	0,7368	-0,1876	0,0761	0,3392	-0,1700

Notă: Descrierea abrevierilor caracterelor este redată în nota tabelului 3.

Reprezentarea grafică tridimensională a celor 9 variabile și legătura dintre acestea (identificarea de grupuri variabile) permite a estima rolul jucat de fiecare variabilă în ponderea CP. Astfel, variabilele corelate cu axa CP1, care însumează cantitatea maximă de variabilitate, și care este influențată de gradul de corelare dintre variabilele inițiale, demonstrează cât de mult variabila este asociată cu performanța: în partea dreaptă este avantajul pozitiv (LR, PL), iar în partea stângă - negativ (restul caracterelor incluse în studiu) (Figura 3A). În mod similar interpretăm relația variabilelor cu CP2, și din care, rezultă că caracterele arhitecturale LR, CRP și LP sunt asociate pozitiv cu o variabilitate mai mare. Indicatorii LR și LP marchează valori pozitive pentru CP1, CP2 cât și CP3, indicând un rol important în estimarea variabilității, în timp ce restul indicilor au vectori proprii cu valori negative, presupunând impact negativ.

În cazul variației răspunsurilor atestate pentru variantele tratate și cele din condiții optime s-a stabilit că CP1 îi revine 45,9 % din variabilitate, iar CP2 - 22,7 %. Astfel, cele două componente CP1 și CP2 furnizează în sumă cca 68,7 % de informație (Figura 3B).

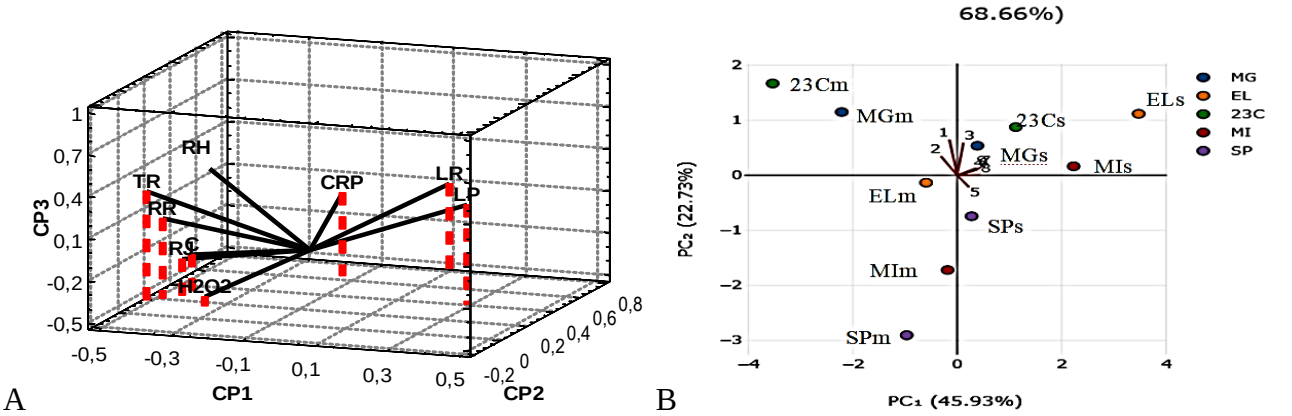


Figura 3. Reprezentarea grafică a CP pentru variabile (A) și genotipuri (B)

Descifrarea abrevierilor pentru variabile este redată în nota la tab. 3, iar pentru genotipuri – tab. 6.

Reprezentarea grafică, de asemenea indică asupra gradului de corelare între caractere în baza unghiului format de proiecția vectorilor respectivi. Astfel, corelarea între LP și LR este stabilită drept una puternică, pozitivă. În același timp, a fost atestată o dependență puternică pozitivă dintre indicii conținutului H_2O_2 și numărul rădăcinuțelor adventive și laterale, fapt ce este în concordanță cu datele despre rolul decisiv al SRO în modularea inițierii formării acestor organe.

Tabelul 6

Componentele principale pentru genotipuri-variante

	MG m	MG s	EL m	EL s	23C m	23C s	MI m	MI s	SP m	SP s
CP1	-2.21	0.386	-0.594	3.474	-3.532	1.122	-0.183	2.228	-0.967	0.276
CP2	1.149	0.536	-0.135	1.116	1.668	0.876	-1.722	0.162	-2.906	-0.744
CP3	-1.322	-0.168	1.584	-0.277	0.103	0.728	1.213	-1.28	-1.473	0.891

Notă. Abrevieri pentru genotipurile de tomate: MG - Mary Gratefully, EL - Elvira, 23C - linie interspecifică, MI-Mihaela, SP - *S. pimpinellifoliu;* m-martor, s-stres, deficit hidric.

Din punct de vedere al performantei genotipurilor, după modul de reacție a 9 indicatori evaluați, putem afirma că CP1 separă genotipurile în 2 categorii care conțin delimitat cazurile expuse stresului hidric sau varianta martor (variante contraste), repartizate în cadrane diferite ale sistemului de referință, sensul valorii fiind pozitiv sau negativ (23Cm, MGm, SPm, MIm, ELm sau SPs, MIs și MGs, MIs, ELs) (Figura 3B). Punctele marginale ce corespund variantelor Elvira stres (ELs) și Mihaela stres (MIs), indică valori maxime pozitive de contribuție în variabilitate, iar genotipul C23 o contribuție maximă negativă. În același timp CP2 separă aceleași genotipuri mai puțin specific, delimitând în aceeași grupă atât variante martor, cât și cele expuse stresului. Două din genotipurile studiate (MG și 23C) manifestă similitudine mare după contribuția în variabilitatea atestată ca urmare a acțiunii stresului.

Concluzii

În condiții de deficit hidric, simulat cu PEG 6000, răspunsul germenilor de tomate variază semnificativ în funcție de combinația genotip – caracter. Scăderea semnificativă a lungimii plantulelor și radiculelor, complementată de stimularea formării radiculelor laterale și adventive asociate cu creșterea conținutului de H_2O_2, sugerează un mecanism adaptiv al plantelor la stres.

În baza ACP realizată pe 5 genotipuri s-a stabilit că primelor trei componente le revine 82,31% din variabilitatea totală a datelor după 9 variabile, evidențiind parametri cantitativi relevanți pentru estimarea reacției genotipurilor la deficit hidric la etapa de germinare. Această abordare permite o diferențiere clară a genotipurilor în funcție de răspunsul lor la condiții optime sau de stres, oferind o bază solidă pentru selecția genotipurilor tolerante la secetă pe baza indicatorilor selectați.

Notă. 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 al RM.

Referințe bibliografice

1. Channaoui S., Harfi M. Stress responses of tomato seedlings to drought and salinity: morphological and biochemical characterization. In: *Agriculture*, 2019, 9(10), p. 213.
2. Czarnocka W, Karpiński S. Friend or foe? Reactive oxygen species production, scavenging and signaling in plant response to environmental stresses. In: *Free Radic Biol Med*. 2018, 122, pp. 4-20. doi: 10.1016/j.freeradbiomed.2018.01.011.
3. Nievola, C., Carvalho, C., Carvalho, V., Rodrigues, E. . Rapid responses of plants to temperature changes. In: *Temp.* (Austin Tex.), 2017, 4, 371–405. doi: 10.1080/23328940.2017.1377812
4. Nonami, H. Plant water relations and control of cell elongation at low water potentials. In: *Journal of Plant Research*,1998, 111(3), pp. 373-382.
5. Pan X., Wang C., Liu Z., et al., Identification of ABF/AREB gene family in tomato (Solanum lycopersicum L.) and functional analysis of ABF/AREB in response to ABA and abiotic stresses. PeerJ. 2023 May 4;11:e15310. doi: 10.7717/peerj.15310.
6. Tang, X., Mu, X., Shao, H. B., Wang, H. The impact of drought stress on germination and early seedling growth of different wheat genotypes. In: *Journal of Agronomy and Crop Science*, 2019, 195(5), 326-337.
7. Voesenek, L. A. C. J., Bailey-Serres, J. Flooding tolerance: O_2 sensing and survival strategies. In: *Current Opinion in Plant Biology*, 2015, 18, 1-8. DOI: 10.1016/j.pbi.2013.06.008.