UDC: 632.3:635.64 https://doi.org/10.53040/gppb8.2024.31

FUNCȚIONALITATEA GAMETOFITULUI MASCUL LA DESCENDENȚII PLANTELOR DE TOMATE REINFECTATE CU VIRUSURI

Saltanovici Tatiana, *https://orcid.org/0000-0002-1122-7433*
Andronic Larisa, *https://orcid.org/0000-0002-2761-9917*
Antoci Ludmila, *https://orcid.org/0009-00006-4855-6544*
Institutul de Genetică, Fiziologie și Protecție a Plantelor, USM, Chișinău, Republica Moldova
**e-mail: tatiana.saltanovici@sti.usm.md*

THE FUNCTIONALITY OF THE MALE GAMETOPHYTE IN THE OFFSPRING OF VIRUS-REINFECTED TOMATO PLANTS

Summary. The article discusses the functionality of the male gametophyte in tomato offspring obtained from plants reinfected with Tobacco Mosaic Virus and Tomato Aspermy Virus. It was established that the plants from experimental variants showed specific responses associated with the change of the male gametophyte activity, that allows to the identification of resistant genotypes based on the established variability. According to the results of the ANOVA test, the variability of the pollen viability was primarily influenced by the genotype, which is important for the elucidation of the genetic basis of the reinfected genotypes and their descendants, as well as for breeding works. Genotypes that showed a high level of functionality of the male gametophyte under optimal and stressful conditions were highlighted, which allows their use in further research.

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

Introducere

Este cunoscut faptul, că acțiunea organismelor fitopatogene, ce provoacă îmbolnăvirea plantelor, contribuie la pierderi economice semnificative. Sunt cunoscute numeroase cazuri, când în rezultatul infecțiilor puternice la plante în unele ecosisteme s-a înregistrat un procent destul de mare de pierderi la culturi valoroase [1]. Bolile virale se numără printre cele mai dăunătoare grupe de infecții, ce provoacă pierderi anuale de recolte care depășesc 25%, fapt ce poate fi explicat prin lipsa unor măsuri eficiente de combatere a acestora în condiții de câmp, precum și a nivelului insuficient de rezistență a culturilor [2]. Pătrunderea și reproducerea virusurilor în celulele gazdelor susceptibile provoacă modificări ale metabolismului plantelor, perturbarea dezvoltării și funcționalității diferitelor țesuturi și organe. La plantele infectate acțiunea fitovirușurilor schimbă funcționalitatea celulelor, ceea ce contribuie la inducerea diverselor modificări genetice, care apar ca urmare a efectelor negative asupra sferei generative ale plantei-gazda. În pofida faptului că dezvoltarea bolii și reacțiile defensive au loc simultan, contribuția fiecăruia dintre aceste procese în modificările stabilite depinde în mod semnificativ de susceptibilitatea plantei la virus [3]. Astfel, acțiunea agenților patogeni prezintă unul dintre multiplele stresuri, ce influențiază semnificativ asupra plantelor. Se cunoaște, că în condiții naturale evoluția rezistenței plantelor la un fitopatogen (virus, bacterie sau ciupercă) este rezultatul interacțiunii constante între planta și respectivul agent patogen [4].

Influența constantă a stresului provoacă manifestarea caracterelor adaptative, ce sunt valoroase pentru un anumit mediu. S-a demonstrat, că în majoritatea cazurilor selecția genotipurilor adaptive necesită mult timp. Totodată, având în vedere că plantele au capacitatea de a se aclimatiza într-un timp mult mai scurt, modificarea homeostaziei poate fi folosită pentru adaptarea metabolismului la un mediu nou [5]. Conform datelor din literatură, homeostaza metabolică are un impact decisiv asupra menținerii viabilității și fertilității polenului în condiții stresogene [6]. S-a

demonstrat, că acțiunea factorilor biotici, precum și abiotici, asupra etapele generative contribuie la diminuarea productivității polenului, apariția unui șir de modificări morfologice ale grăuncioarelor de polen, generarea diferențelor majore în performanța gametofitului mascul [7-9]. Prin urmare, condițiile mediului de creștere ale genitorilor afectează numărul și calitatea descendenților. Cu toate acestea, doar în câteva studii au fost prezentate date privind modificarea viabilității polenului la generațiile segregante în baza selectării grăuncioarelor de polen cu fertilitate ridicată [10]. Pentru a depăși consecințele negative ale unor astfel de infecții, devin relevante cercetările privind răspunsul genotipurilor la acțiunea agenților patogeni virali, bazate pe utilizarea atât a metodelor clasice, cât și a celor netradiționale (expres), inclusiv a metodelor de selecție la nivel de gametofit mascul. În vederea îmbunătățirii calității gametofitului mascul și sporirii adaptivității sistemului de reproducere la acțiunea factorilor abiotici și biotici, un rol important îi revine gamei și tipului variației genetice, asociate cu viabilitatea polenului [11]. În acest context, prezintă interes studiul activității gametofitului mascul la descendenții plantelor reinfectate cu virusuri.

Luând în considerare faptul, că în literatura de specialitate informația privind particularitățile manifestării indicelor gametofitului mascul la descendenții, obținuți de la plantele supuse reinfectării cu virusuri este limitată, scopul cercetărilor realizate a constatat în studiul variabilității gametofitului mascul la descendenții plantelor de tomate reinfectate cu virusuri.

Materiale și metode

În calitate de material experimental au fost utilizați descendenții plantelor de tomate Mary Gratefully, Venеț, Flacăra, Rufina (variante martor, reinfectare VMT2, reinfectare VAT2); forma spontană: *Solanum pimpinellifolium* (variante martor, reinfectare VMT2, reinfectare VAT2), obținuți în condiții de reinfectare cu VMT- virusul mozaicul tutunului; VAT - virusul aspermiei tomatelor. Experiențele au fost realizate în condiții de laborator și solariu. Materialul biologic a fost cultivat în condiţii de solariu conform metodei standart. În scopul aprecierii calității polenului au fost colectate flori de la descendenții genotipurilor reinfectate și varianta martor. Determinarea viabilității gametofitului mascul s-a efectuat prin cultivarea grăuncioarelor de polen în termostat cu regim termic optim - 26 - 28ºC pe mediu nutritiv artificial, ce conţine soluție apoasă de zaharoză – 15%, acid boric – 0,006%. În baza studiului microscopic au fost determinați următorii indici: viabilitatea polenului; lungimea tuburilor polenice (TP), cât și coraportul acestor indici la plantele martor și descendenții VMT2/VAT2. Analizele statistice și prezentarea datelor obținute au fost realizate cu ajutorul programelor Statgraphics v.5.0; Excel 2013. Pentru aprecierea ponderii genotipului, factorilor stresogeni şi interacţiunii acestora în sursa de variație a caracterelor analizate a fost aplicată analiza dispersională polifactorială (ANOVA).

Rezultate și discuții

Urmare a estimării genotipurilor analizate după variabiltatea gametofitului mascul a fost stabilit, că descendenții plantelor reinfectate VAT2 au atestat în medie reducerea viabilității polenului cu 12,2% față de martor, deși la descendenții VMT2 valorile acestui caracter nu au prezentat diferențe semnificative comparativ cu martorul. Rezultatele aprecierii dimensiunilor tuburilor polenice au permis să constatăm la descendenții VMT2/VAT2 depășirea cu 25,2 și 31,6% (respectiv) a valorilor acestui caracter comparativ cu plantele sănătoase (Fig.1).

Totodată a fost constatat, că descendenții VMT2/VAT2 la nivel haploid au manifestat reacții specifice, exprimate prin modificarea caracterelor studiate. Astfel, la soiurile Venеț și Mary Gratefully VMT2/VAT2 viabilitatea polenului s-a redus comparativ cu martorul, adică s-a observat inhibarea caracterului. La soiul Rufina și *S.pimpinellifolium* VMT2 s-a stabilit efectul opus, valorile viabilității polenului au depășit indicatorii martorului, deci a fost înregistrată influența stimulatoare. De menționat, că conform datelor anterioare, la plantele reinfectate cu virusuri gametofitul mascul de asemenea a reacționat diferențiat: în 50% din variantele analizate a fost stabilită diminuarea viabilității polenului cu 4,5...28,9% și reducerea dimensiunilor tuburilor polenice cu 12,3...34,4%;

în 30% din cazuri viabilitatea polenului și lungimea tuburilor s-au majorat cu 9,4...27,4% și 9,6...18,0% respectiv.

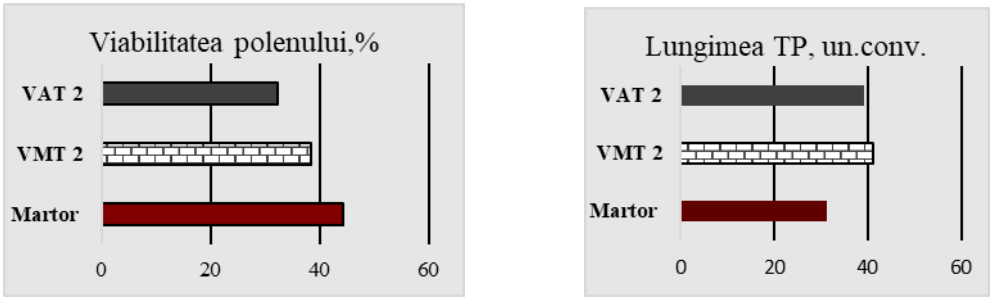


Figura 1. Variabilitatea indicelor gametofitului mascul la descendenții plantelor reinfectate VMT/VAT

În comparație cu descendenții plantelor primar infectate descendenții VMT2/VAT2 au atestat reducerea viabilității polenului mai mare cu 6,0…48,0%, cu excepția s.Flacăra VMT2 și *S.pimpinellifolium* VMT2/VAT2. Astfel, ca urmare a comparației răspunsurilor la infectarea sau reinfectarea plantelor în generația anterioară s-a constatat la descendenții VMT2/VAT2 o modificare mai pronunțată a indicilor analizați față de descendenții plantelor primar infectate (Fig.2).

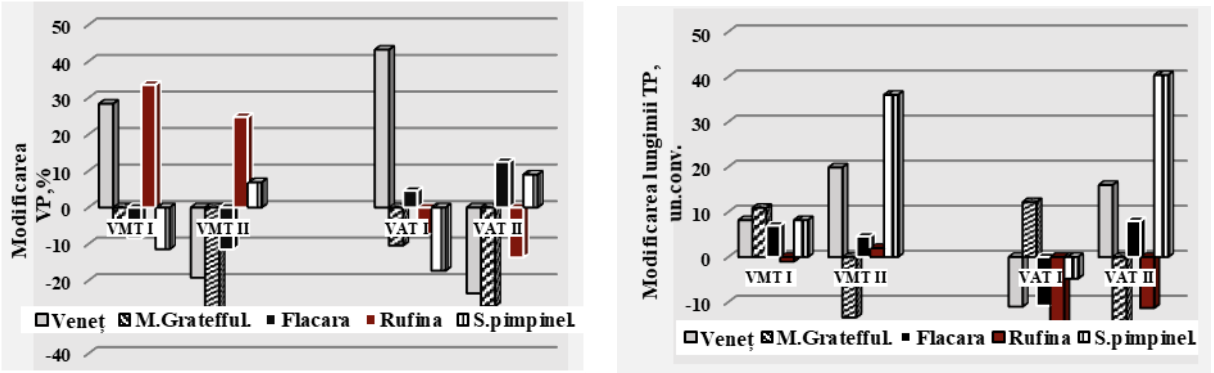


Figura 2. Studiul activității gametofitului mascul la descendenții plantelor primar infectate/reinfectate VMT/VAT

Se cunoaște, că lungimea tuburilor polenice este un caracter important, ce caracterizează viteza lor de creștere și este asociat cu succesul fecundării și calității semințelor, deci este un indicator ce poate specifica funcționalitatea polenului. Având în vedere faptul, că nu toate grăuncioarele de polen au reacționat în mod egal la reinfectarea cu virusuri, a fost studiat caracterul de distribuție a tuburilor polenice după dimensiunile acestora. Rezultatele obținute au constatat la descendenții VMT2/VAT2 modificări în repartizarea acestora după indicele analizat. Astfel, la descendenții VAT2 în raport cu plantele primar infectate a fost stabilită diminuarea amplitudinei de variație după caracterul dat, cât și majorarea frecvenței de apariție a tuburilor polenice cu dimensiuni medii (Fig. 3A).

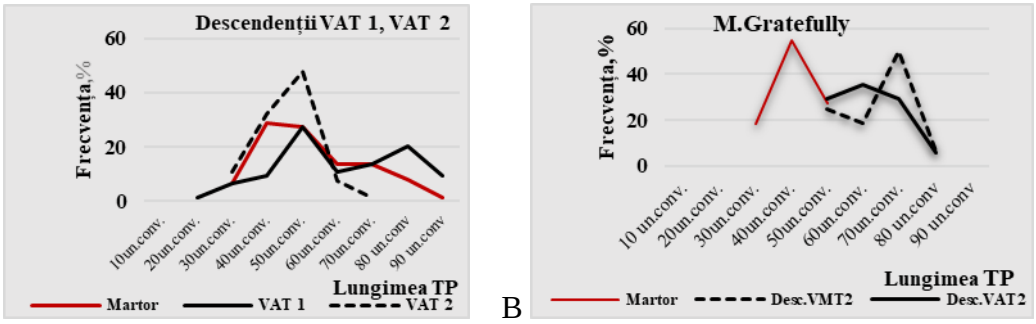
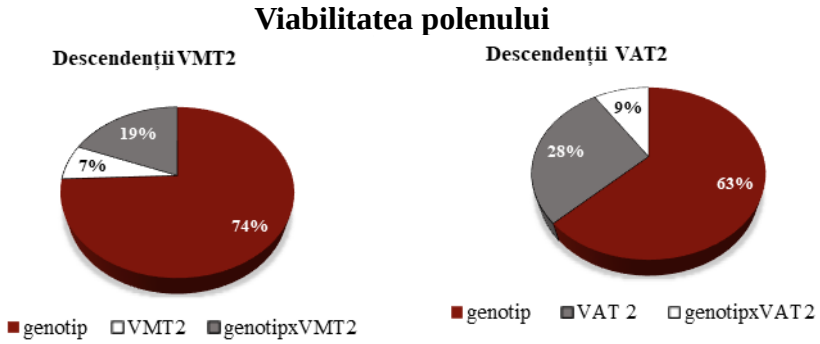


Figura 3. Distribuția grăuncioarelor de polen în baza lungimii tuburilor polenice, sub influența infectării și reinfectării plantelor cu VMT/VAT

Totodată unii descendenți, de exemplu Mary Gratefully VMT2/VAT2, au atestat, față de martor, formarea sporită a tuburilor cu dimensiuni medii și mari, și au avut amplituda de variație mai largă (Fig. 3B).

Modificările identificate pot fi asociate cu majorarea vitezei de creștere a tuburilor polenice la aceste genotipuri, ca urmare a procesului de eliminare a grăuncioarelor de polen cu viabilitatea redusă în condiții de reinfectare cu virusuri. Prelucrarea statistică a datelor obținute prin analiza dispersională a permis evidențierea surselor de bază ale variabilității și determinarea cotelor de influențe a fiecărui factor în variația caracterelor analizate.

Astfel, a fost stabilit, că la descendenții VMT2/VAT2 ponderea genotipului în variația viabilității polenului a constituit 63-74% și a fost de 1,3...2,2 ori mai mare în raport cu plantele reinfectate (Fig.4). Acest fapt poate fi important pentru elucidarea bazei genetice a genotipurilor de tomate reinfectate cu virusuri și descendenții acestora, cât și pentru lucrările de ameliorare. Acțiunea virusurilor în modificarea valorilor acestui caracter a fost destul de mică și a variat în limitele 7,0...9,0%, comparativ cu plantele reinfectate cota de influență acestora s-a redus de 6,4 și 4,2 ori respectiv. De menționat, că în condiții de infectare primară și reinfectare a plantelor genotipul de asemenea a fost factorul decisiv al variației viabilității polenului, acțiunea patogenilor virali fiind mai slabă. Deci, în experiențele realizate genotipul a fost sursa principală a variabilității viabilității polenului, fapt ce indică posibilitatea selectării genotipurilor după acest indiciu.



Lungimea tuburilor polenice

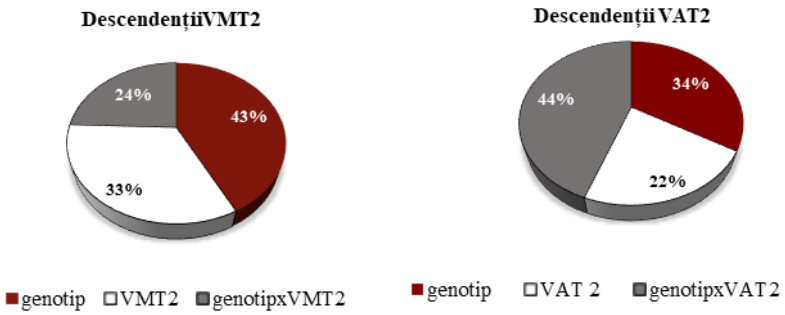


Figura 4. Sursele de bază a variabilității gametofitului mascul la descendenții plantelor reinfectate VMT2/VAT2.

Conform datelor obținute la descendenții VMT2/VAT2 modificarea dimensiunilor tuburilor polenice a fost controlată de genotip cu 43,0 și 34,0%, contribuția agenților virali în variabilitatea acestui indiciu a constituit 33,0 și 22,0% (respectiv) și a fost de 1,4...2,6 ori mai slabă comparativ cu plantele reinfectate (Fig.4). Rezultatele cercetărilor noastre anterioare au demonstrat, că în condiții de infectare/reinfectare a plantelor, modificarea lungimii tuburilor polenice în mare parte a fost determinată de influența virusurilor. Acest fapt indică că în condiții de patogeneză virală viteza de creștere a tuburilor polenice într-o măsură mai mare este asociată cu acțiunea agenților virali.

În baza generalizării rezultatelor obținute au fost evidențiați descendenții soiurilor Veneț și Rufina, cât și forma spontană *S. pimpinellifolium*, care în rezultatul reinfectării cu VMT și VAT au atestat valori înalte ale caracterelor gametofitului mascul.

Mai mulți cercetători [6] au remarcat faptul, că calitatea gametofitului mascul în condiții de temperatură ridicată este un indicator important pentru caracterizarea termorezistenței plantelor, fapt ce a condiționat examinarea valorilor de termorezistență ale polenului la descendenții plantelor reinfectate. A fost constatat că la genotipurile din varianta martor valoarea medie a acestui caracter a constituit 67,3%, deși la descendenții VMT2/VAT2 nivelul de termorezistență a fost mai mare cu 22,4 și 46,4% corespunzător. Totodată, rezistența tuburilor polenice la descendenții VMT2 a fost mai redusă fața de martor cu 6,8%, deși la descendenții VAT2 nu au fost stabilite diferențe semnificative în comparație cu martorul. Printre genotipurile investigate s-au evidențiat urmașii VMT2 Mary Gratefully, *S.pimpinellifolium* și Rufina VMT2/VAT2, care au îmbinat nivelul înalt de termorezistență al polenului și a tuburilor polenice.

Concluzii

Descendenții genotipurilor de tomate, obținute de la plantele supuse reinfectării VMT/VAT, au manifestat răspunsuri specifice asociate cu modificarea activității gametofitului mascul, fapt ce permite identificarea genotipurilor cu diferit nivel de rezistență.

La descendenții VMT2/VAT2 partea majoră a variației viabilității polenului îi aparține genotipului - 63-74%, ceea ce este de 1,3...2,2 ori mai mare în raport cu plantele reinfectate, fapt ce este important pentru elucidarea bazei genetice a genotipurilor de tomate reinfectate cu virusuri și descendenții acestora, cât și pentru lucrările de ameliorare.

În rezultatul aplicării metodelor de selecție gametică din componența descendenților VMT2/VAT2 incluși în studiu au fost selectate soiurile Veneț și Rufina, cât și forma spontană *S. pimpinellifolium*, care au prezentat valori înalte ale caracterelor gametofitului mascul.

În condiții de temperaturi ridicate un potențial de reproducere înalt au manifestat descendenții VMT2 Mary Gratefully, *S. pimpinellifolium* și Rufina VMT2/VAT2, care pot fi incluși în cercetările ulterioare.

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. Котельникова И., Крылов А. Липиды при вирусном заражении растений. In: *Вестник ДВО*. 2001, т. 4, 38-55.
2. Чанг Н. Распространение и патогенез вирусных заболеваний томата в условиях Вьетнама и России. Москва, Автореф. диссертации на соискание уч.ст.к.биол.наук. 2013.20 с.
3. Реунов А. Вирусный патогенез и защитные механизмы растений. Дальнаука. 1999.
4. Friedman A, Baker B. The evolution of resistance genes in multi-protein plant resistance systems. In: *Curr Opin Genet Dev*, 2007. 17: 493–499.
5. Mullineaux C.W., Emlyn-Jones D. State transitions: an example of acclimation to low-light stress. In: *J Exp. Bot*, 2005. 56: 389–393).
6. Paupiere M., Heusden A., Bovy A. The metabolic basis of pollen thermo-tolerance: perspectives for breeding. In: Metabolites, 2014, 4, 889–920. doi: 10.3390/metabo4040889
7. Delph L.F., Johannsson M.H. and A.G. Stephenson. 1997. How environmental factors affect pollen performance ecological and evolutionary perspectives.In: *Ecol.* 1997, 78: 1632- 1639.
8. Fmeline Haight, Adrian Gibbs. Effect of viruses on pollen morphology. In: *Plant Pathology* 2007. 32(4): 369 – 372
9. Король В. Опыление и плодообразование у культуры томата в защищенном грунте. In: *Овощи России*. 2019, т. 4: 32-36. https://doi.org/10.18619/2072-9146-2019-4-32-36.
10. Razzaq M., Rauf S., Khurshid M. et al. Pollen viability an index of abiotic stresses tolerance and methods for the improved pollen viability. In: *Pakistan Journal of Agricultural Research*, 2019, 32 (4): 609-624.
11. Kalyar T., Rauf S., Teixeira Da Silva J. A., Shahzad M. Handling sunflower (*Helianthus annuus* L.) populations under heat stress. In: *Arch. Agron. Soil Sci*. 2014, 60: 655-672.