CZU: 635.64:632.38:575.16 https://doi.org/10.53040/ppap2023.57

IMPACTUL INFECȚIILOR VIRALE ASUPRA ACTIVITĂȚII GAMETOFITULUI MASCULIN DE TOMATE

SALTANOVICI Tatiana*, ANDRONIC Larisa**, ANTOCI Ludmila, BULDUMAC Ana***

Institutul de Genetică, Fiziologie și Protecție a Plantelor al USM, Chișinău, Republica Moldova

**https://orcid.org/0000-0002-1122-7433,*

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

***https://orcid.org/0000-0002-9674-0403,*

e-mail: tatiana.saltanovici@igfpp.md

Summary. Reinfection of tomato genotypes with tobacco mosaic virus or tomato aspermia virus results in a change of plant pollen productivity and male gametophyte activity. Under the influence of infection, the specificity of the genotype response for a number of functional traits of the male gametophyte was revealed. Under conditions of primary infection and reinfection, the genotype was a determining factor in the variability of pollen viability, while the change in the size of pollen tubes was mainly determined by the appearance of viruses. As a result of the experiments, two varieties Venets and Rufina were selected for further research, combining a high level of pollen viability and productivity. They testify to a high reproductive capacity of varieties; the combination of these indicators can be used as a tool for the selection of valuable genotypes.

Keywords: *tomato, virus, pollen, variability, pollen tubes, selection*.

Introducere. Influența extremală a factorilor biotici și abiotici creează impedimente serioase pentru gestionarea practică a adaptabilității culturilor agricole. Asigurarea productivității înalte a plantelor presupune desfășurarea *screening*–ului genotipurilor, care manifestă reacții stabile în condiții stresogene. Pentru sporirea eficacității procesului ameliorativ, în asociere cu metodele clasice, pot fi aplicate și metode de selecție gametică. Această abordare permite evidențierea genotipurilor rezistente la stresuri abiotice și biotice în timpul funcționării gametofitului masculin. Posibilitatea selectării genotipurilor rezistente la nivel haploid a fost confirmată la diferite culturi,

destul de vast fiind și numărul factorilor după care este posibilă evidențierea formelor valoroase [1-3].

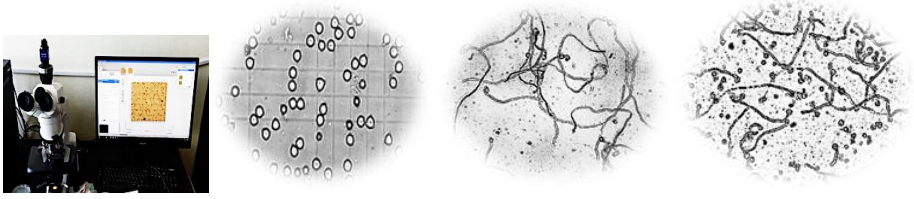
Un șir de autori au constatat, că acțiunea agenților virali contribuie la modificarea calității gametofitului masculin. Influența virusurilor la trandafir, tomate, zămos și dovlecei sălbatici a avut un impact negativ asupra producției de polen și a caracterelor de performanță a polenului [4, 5]. La plantele de tutun infectate cu diferiți agenți virali au fost depistate modificări semnificative în grăuncioarele de polen, după componentele proteinelor [6]. La plantele de tomate infectate cu VMT a fost depistată apariția diferitor anomalii structurale și funcționale ale grăuncioarelor de polen, cât și variația cantității de ADN în nuclee. S-a stabilit, că genotipurile de tomate, care posedă rezistență genetică la virusul mozaicului tutunului manifestă o capacitate redusă de formare a polenului [7]. A fost constatat, că infectarea cu virusuri contribuie la apariția unor modificări nu numai la plantele infectate, ci și la descendenții acestora. Astfel, la descendenții plantelor de tutun (*Nicotiana tabacum*), infectate cu virusul mozaicului tutunului (VMT), au fost atestate modificări specifice, ce determină rezistența mai înaltă la stres în raport cu plantele sănătoase [8].

Luînd în considerare faptul, că în literatura de specialitate informația privind particularitățile manifestării indicilor gametofitului masculin la plantele supuse infectării/reinfectării cu virusuri este limitată, scopul cercetărilor realizate a constat în studiul influenței reinfectării genotipurilor de tomate cu patogeni virali asupra capacității de formare și a activității gametofitului masculin.

Material și metode. În calitate de material experimental au fost utilizate următoarele genotipuri de tomate: soiurile Mary Gratefully, Venеț, Flacăra, Rufina și formele spontane *Solanum pimpinellifolium, S. chilense*. Plantele au fost cultivate în condiţii de solariu, în blocuri randomizate. La etapa de 3-4 frunze, plantele au fost primar infectate/reinfectate cu Virusul mozaicului tutunului (VMT)/ Virusul aspermiei tomatelor (VAT). Pentru aprecierea calității polenului au fost colectate flori de la plantele infectate și sănătoase (martor). Determinarea viabilității gametofitului masculin a fost efectuată prin cultivarea grăuncioarelor de polen în termostat cu regim termic optim – 26 – 28^{o}C pe mediu nutritiv artificial, ce conţine soluție apoasă de zaharoză – 15%, acid boric– 0,006% - (mediu – martor). În baza studiului microscopic au fost evaluați următorii indici: viabilitatea şi termorezistenţa polenului; lungimea şi rezistenţa tuburilor polinice (TP), cât și coraportul acestor caractere în

variantele infectate față de martor. Capacitatea de formare a grăuncioarelor de polen în florile de tomate a fost stabilită cu ajutorul camerei Goreaev. 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 analizate a fost aplicată analiza dispersională polifactorială (ANOVA).

Rezultate și discuții. Conform datelor din literatură numărul grăuncioarelor de polen, ce se produc în anterele de tomate, variază de la 100 la 400 de mii, valorile acestui caracter fiind în dependență de particularitățile genetice ale genotipului și condițiile mediului [7]. Rezultatele cercetărilor au demonstrat, că în condiții optime, la soiuri producția de polen la plantele sănătoase (martor) a fost mai mică față de formele spontane. Astfel, la *S. pimpinellifolium* și *S. chilense* numărul de grăuncioare de polen în medie a constituit 320 de mii, în timp ce la soiuri, acest indiciu a fost mai mic de 1,7 ori și a avut valoarea de 190 mii. În rezultatul infectării primare cu VMT/VAT la toate genotipurile incluse în studiu s-a atestat modificarea producției de polen. Astfel, la formele spontane infectate cu VMT cantitatea grăuncioarelor de polen s-a diminuat de 1,5 ori față de martor, în timp ce la soiuri a fost stabilit efectul neutru sau ușor stimulativ. La genotipurile infectate cu VAT numărul grăuncioarelor de polen a depășit valorile martorului, inclusiv la formele spontane producția de polen a fost mai mare față de soiuri. După cum rezultă din datele analizei microscopice, toate genotipurile reinfectate cu VAT, în raport cu infectarea primară, au manifestat majorarea capacității de formare a polenului, fapt ce poate fi explicat prin eliminarea din componența populației a grăuncioarelor de polen cu un nivel scăzut de viabilitate (Fig. 1).



1 2 3 4

Figura 1. Determinarea producției de polen (1-2) și a viabilității polenului (3-4).

Genotipurile reinfectate cu VMT au atestat reacții specifice: la soiul Veneț și forma spontană *S. pimpinellifolium* a fost înregistrată sporirea producției de

polen, în timp ce la soiurile Flacăra și Rufina valorile acestui caracter s-au redus față de infectarea primară. La soiul Mary Gratefully (infectare primară/reinfectare), spre deosebire de alte genotipuri, diferențele după acest caracter n-au fost semnificative, fapt ce ne indică lipsa răspunsului la infectare. Astfel, plantele reinfectate cu virusuri, în majoritatea cazurilor, manifestă reacții specifice la nivel haploid, ce contribuie la modificarea capacității de formare a polenului.

Se consideră, că viabilitatea gametofitului masculin este un caracter important, ce determină succesul fecundării și calitatea semințelor și poate caracteriza funcționalitatea polenului. A fost stabilit, că nu toate grăuncioarele de polen reacționează în mod egal la acțiunea factorilor de stres; majoritatea acestora manifestă reacții diferite, fapt ce permite selectarea genotipurilor rezistente în baza variabilității existente [9]. În cercetările noastre, reinfectarea cu VMT a soiurilor Veneț, Mary Gratefully și a formei spontane *S. pimpinellifolium* a contribuit la diminuarea nivelului viabilității polenului cu 6,2…28,9% față de infectarea primară. Totodată, în aceste condiții, la soiul Flacăra s-a atestat majorarea acestui indiciu cu 27,4%, iar la soiul Rufina n-au fost stabilite diferențe semnificative dintre plantele primar infectate și cele reinfectate, după acest parametru. În rezultatul reinfectării cu VAT la soiurile Veneț si Flacăra, precum și la forma spontană *S. pimpinellifolium,* ca și în cazul reinfectăruii cu VMT, viabilitatea polenului s-a redus cu 4,5…11,4%, în timp ce la soiurile Mary Gratefully și Rufina s-a constatat creșterea cu 9,4…9,6%.

Urmare a examinării dimensiunilor tuburilor polinice la genotipurile reinfectate cu VMT, în raport cu plantele primar infectate, s-a constatat depășirea valorilor cu 9,6…18,8 un.conv. Totodată, reinfectarea cu VAT la soiurile Mary Gratefully și Flacăra a contribuit la formarea tuburilor polinice mai scurte cu 23,0…34,6 un.conv., deși la celelalte genotipuri n-au fost stabilite diferențe semnificative după acest indiciu (Fig. 2). În general, în 50% de cazuri analizate, a fost depistată diminuarea viabilității polenului și reducerea lungimii TP, iar în 30% de cazuri s-a înregistrat efect stimulativ sau reacții neutre (Fig. 2). Astfel, reinfectarea plantelor de tomate cu VMT/VAT, la fel ca și în rezultatul infectării primare, a contribuit la nivel haploid la manifestarea unor reacții specifice, dependente de genotip, agentul viral și statutul recurent al patogenezei virale (infectare primară/reinfectare).

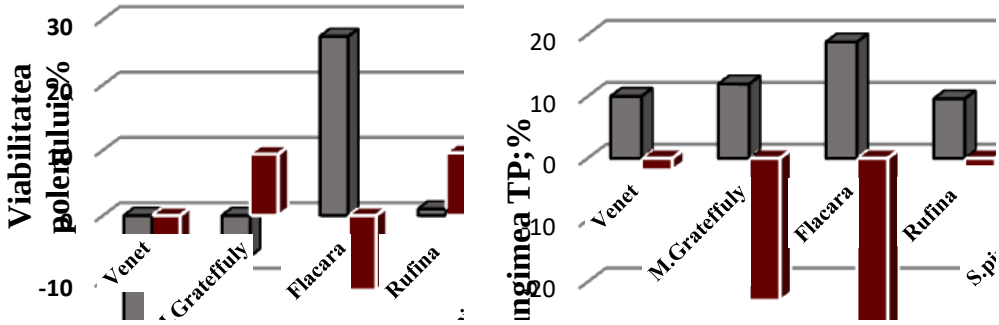


Figura 2. Influența infectării plantelor cu virusuri asupra indicilor gametofitului masculin (VMT1,VAT1- infectare primară; VMT2,VAT2 – reinfectare).

Reieșind din faptul că dimensiunile tuburilor polinice sunt asociate cu viteza lor de creștere, am examinat distribuția grăuncioarelor de polen în baza lungimii tuburilor polinice în condiții de infectare/reinfectare cu virusuri. S-a stabilit că la plantele sănătoase amplitudinea variației lungimii tuburilor polinice a fost destul de mare, în limitele 30-90 un.conv. În cazul infectării primare cu VMT frecvența grăuncioarelor, ce au format tuburi polinice de dimensiuni mici (considerate nesemnificative) s-a majorat, și concomitent, s-a redus numărul grăuncioarelor cu tuburi polinice lungi, fapt ce indică diminuarea vitezei de creștere a acestora pe fondalul infecției virale. Totodată, la plantele infectate cu VAT a fost depistată majorarea numărului grăuncioarelor de polen, ce au format tuburi cu dimensiuni mari, în raport cu martorul.

După cum rezultă din datele obținute, reinfectarea plantelor cu VMT nu a contribuit la modificarea semnificativă în distribuția TP, deși în cazul reinfectării cu VAT, s-a atestat majorarea frecvenței de apariție a tuburilor polinice cu dimensiuni medii (Fig. 3). Astfel, infectarea și/sau reinfectarea plantelor cu VMT/VAT contribuie la modificarea repartizării grăuncioarelor de polen după dimensiunile acestora.

În baza aplicării analizei dispersionale polifactoriale, au fost elucidate sursele de variabilitate ale indicilor gametofitului masculin. De asemenea, s-a stabilit, că influența genotipului, agenților virali și interacțiunii acestora asupra variației caracterelor polenului a fost semnificativă ($P<0,001$).

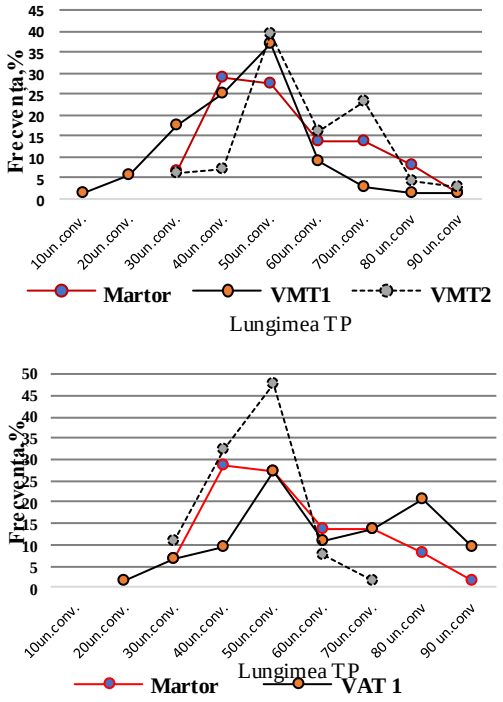
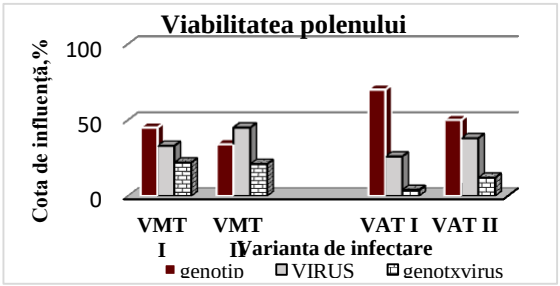
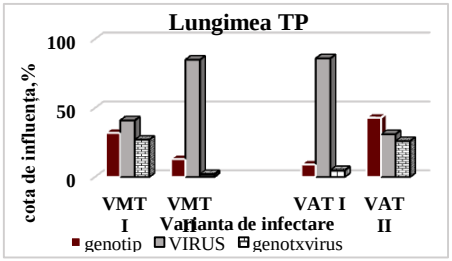


Figura 3. Influența infectării primare/reinfectării plantelor cu VMT/VAT asupra distribuției grăuncioarelor de polen în baza lungimii tuburilor polinice.

În condiții de infectare primară/reinfectare a plantelor, genotipul a fost factorul decisiv - 45,0...70,0% de modificare a viabilității polenului, în timp ce acțiunea virusurilor a fost mai slabă și a determinat 26,0…45,0% din variabilitate (Fig. 4A). Astfel, genotipul are o pondere mai mare în norma de reacție a grăuncioarelor de polen la acțiunea virusurilor, fapt ce indică posibilitatea selectării reușite a genotipurilor după acest caracter. De menționat, că în cazul reinfectării plantelor contribuția virusurilor în variația acestui caracter s-a majorat de 1,4…1,5 ori, comparativ cu infectarea primară, fapt ce poate provoca modificări semnificative în activitatea grăuncioarelor de polen. În cazul infectării primare/reinfectării, virusurile au determinat si partea majoră a variabilității lungimii tuburilor polinice - 41,0...87,0%, deși acțiunea genotipului a fost mai slabă (Fig. 4B). Prin urmare, acțiunea patogenilor virali contribuie la manifestarea unor reacții diferențiate ale gametofitului masculin, care în mare măsură sunt controlate de genotip - în variația viabilității polenului și de virusuri - în modificarea lungimii tuburilor polinice.



A



B

Figura 4. Sursele de variabilitate ale indicilor gametofitului masculin în condiții de infectare cu virusuri.

În baza generalizării datelor experimentale au fost evidențiate soiurile M.Gratefully, Rufina și forma spontană *S. pimpinellifolium*, care în rezultatul infectării/reinfectării cu VMT/VAT au îmbinat activitatea ridicată a gametofitului masculin și capacitatea înaltă de formare a polenului, fapt ce indică un potențial înalt de reproducere al acestor genotipuri.

Concluzii:

În condiții de infectare/reinfectare cu VMT/VAT, genotipurile de tomate au manifestat, la nivel haploid, reacții specifice asociate cu modificarea producției de polen și a activității gametofitului masculin.

Analiza histogramelor de distribuție a grăuncioarelor de polen după dimensiunile tuburilor polinice a stabilit în variantele infectate diminuarea frecvenței de apariție a tuburilor cu dimensiuni mari, fapt ce dă dovadă de heterogenitate a populațiilor de polen după viteza de creștere a acestora în condiții de patogeneză virală.

Pe fondal de infecții virale, partea majoră a variației viabilității polenului îi aparține genotipului, în timp ce patogenii virali controlează în mare măsură modificarea dimensiunilor tuburilor polinice.

În rezultatul reinfectării plantelor, contribuția virusurilor la modificarea viabilității polenului se majorează semnificativ. Soiurile Mary Gratefully, Rufina cât și forma spontană *S.pimpinellifolium* au îmbinat un nivel ridicat de activitate a gametofitului masculin și a producției de polen, fapt ce ne indică un potențial înalt de reproducere al acestor genotipuri.

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. Лях В., Сорока А. и др. Методы отбора ценных генотипов на уровне пыльцы. Методические рекомендации. Запорожье. 2000. 48 p.
2. Chang Y., Leslie A. et al. Effect of temperature on gametophytic selection in a *Phalaenopsis* F1 population. In: *Euphytica*. 2010. Vol.171, is. 2, p. 251–261.
3. Patil B., Ravikumar R. et al. Effect of pollen selection for moisture stress tolerance on progeny performance in *Sorghum.* In: *Journal of Food, Agriculture & Environment*, 2006. Vol. 4, p. 201–204.
4. Шевченко С., Кузьмина Т., Митрофанва И. Характеристика пыльцы пораженных вирусами и бессимптомных растений розы эфиромасличной. Бюллетень ГНБС. 2016. в. 121, с. 18-24.
5. Хохлова А. А. Особенности влияния абиотических и биотического факторов на репродуктивную систему растений томата *Lycopersicon esculentum* Mill. Автореферат дис.к.б.н. 2014. 26 с.
6. Petrzik K., Špak J., Nebesářová J., Fránova J. The effect of virus infection on morphology and protein components of pollen grains. In*: Biol Plant*, 1996. Vol. 38, p. 445.
7. Король В. Г.Опыление и плодообразование у культуры томата в защищенном грунте. In: Овощи России, 2019(4), с. 32-36. https://doi.org/10. 18619/2072-9146-2019-3-32-36.

8. Kathiria P., Sidler C., Golubov A. et al. Tobacco mosaic virus infection results in an increase in recombination frequency and resistance to viral, bacterial, and fungal pathogens in the progeny of infected tobacco plants. In: *Plant Physiology*, 2010. Vol. 153, p.1859-870, https://doi.org/10.1104/pp.110.157263
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.