

CERCETĂRI CU PRIVIRE LA CONTROLUL GENETIC AL REZISTENȚEI TOMATELOR LA *FUSARIUM OXYSPORUM* VAR. *ORTHO CERAS*

Galina LUPAȘCU, Ludmila ROTARU, Nadejda MIHNEA

Institutul de Genetică și Fiziologie a Plantelor al AȘM

In the papers there are presented the data about the principle of screening of tomatoes genotypes for fusariose resistance in the controlled conditions and the results about the genes actions and interactions, participating in the formation of reaction to *Fusarium oxysporum* var. *orthoceras*.

În Republica Moldova fuzariozele compromit diverse specii de plante, atât la înființarea acestora ca culturi agricole, cât și la realizarea potențialului biologic al genotipului. Speciile de fungi *Fusarium* Link.ex.Fr., ubicuitar răspândite în sol, atacă și plantele de tomate, producând putrezirea rădăcinii, ofilirea plantei, diminuarea capacității de producție și de calitate a fructelor. Printre speciile menționate se remarcă *F.oxysporum* var. *orthoceras*, întâlnită cu frecvență înaltă la plantele cu simptome de boală. Elaborarea metodelor de screening al rezistenței tomatelor la fuzarioză prezintă, la moment, o importanță științifico-practică. Pentru crearea genotipurilor rezistente un rol deosebit are elucidarea particularităților controlului genetic al reacției de răspuns al plantei la acțiunea patogenului, precum și a acțiunilor și interacțiunilor genice implicate în control. În opinia unor autori, evoluția fenotipului caracterului cantitativ depinde, în mare parte, de interacțiunile epistatice între locusuri, a căror punere în evidență este destul de dificilă din cauza dependenței acestora de condițiile de mediu. Totodată, se consideră că nivelul epistaziei poate devia funcție de tendințele populaționiste, determinate de presiunea de selecție, precum și de expresia varianței genetice [1-3]. Pornind de la cele menționate, considerăm că prezintă obiectiv de actualitate cercetările cu privire la particularitățile genotipice ale tomatelor în reacția la *F.oxysporum* var. *orthoceras*, precum și efectele genice implicate în ereditatea rezistenței.

Material și metode

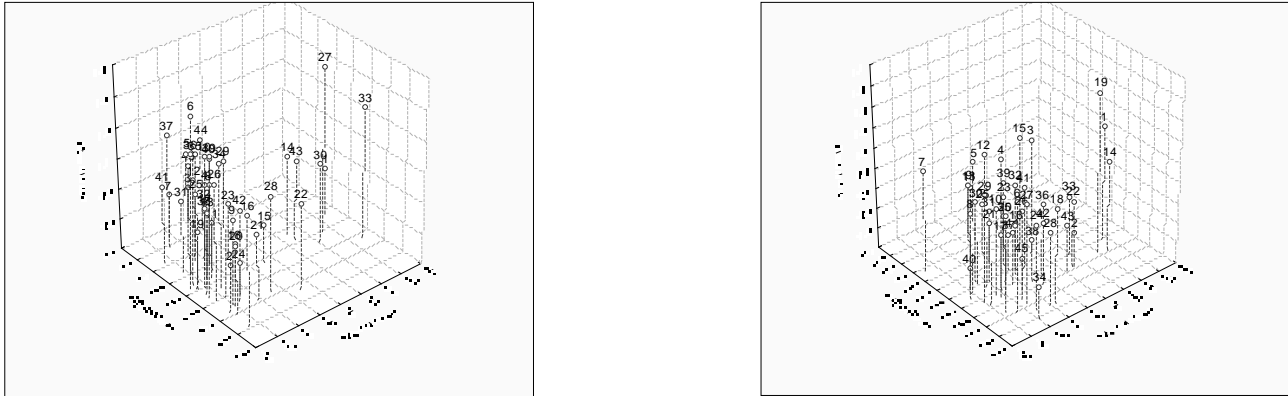
În calitate de material pentru cercetare au servit 45 genotipuri și populații (F_5 , F_9) perspective de tomate, precum și 4 combinații – Sunmark x Mestnâi, Costral x Mestnâi, Burnley Metro x Saladette, Noviciok x Balcan, încrucișate în sistem backcross (P_1 , P_2 , F_1 , F_2 , BC_1 , BC_2). Genotipurile și populațiile cercetate prezintă înalte însușiri de producție și calitate. Experiențele au fost efectuate în condiții de laborator. Filtratul de cultură (FC) al tulpinii virulente de *Fusarium oxysporum* var. *orthoceras* a fost preparat în baza mediului lichid Cszapek. Semințele de tomate, tratate cu FC timp de 18 ore, au fost clătite de 3 ori cu apă distilată, plasate în cutii Petri între 2 cerculețe de hârtie de filtru umectată și menținute la temperatura 22/10/22°C, câte 2 zile la fiecare regim. În calitate de indici cantitativi au servit germinația semințelor, %; lungimea rădăcinii plantulelor, mm; masa vegetală per plantă, mg; masa uscată în aer liber per plantă, mg – indici care au fost utilizați ca criterii de clasificare în analizele clusteriene (dendrograme, k -medii) și scanarea multidimensională [4,5]. Efectele genice de tip aditiv (a), dominant (d), aditiv x aditiv (aa), aditiv x dominant (ad) și dominant x dominant (dd) au fost calculate după metoda clasică Gamble. Datele au fost prelucrate în pachetul de soft STATISTICA 7,0.

Rezultate și discuții

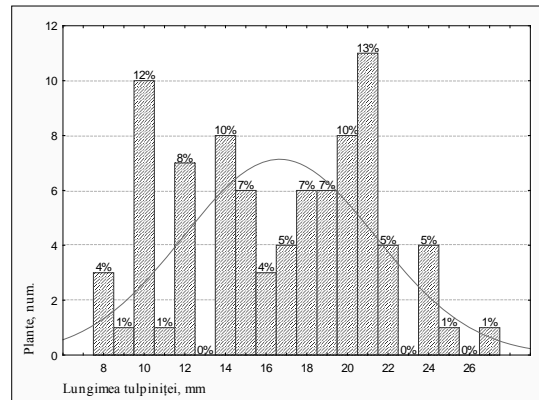
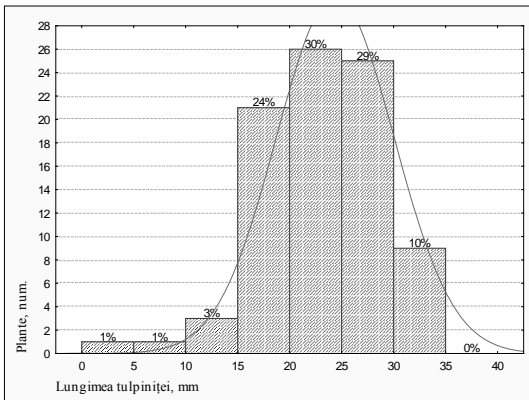
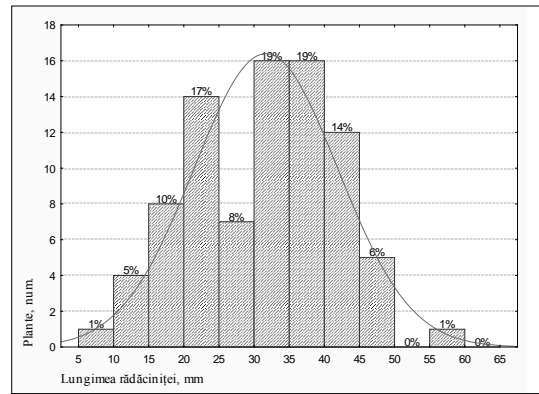
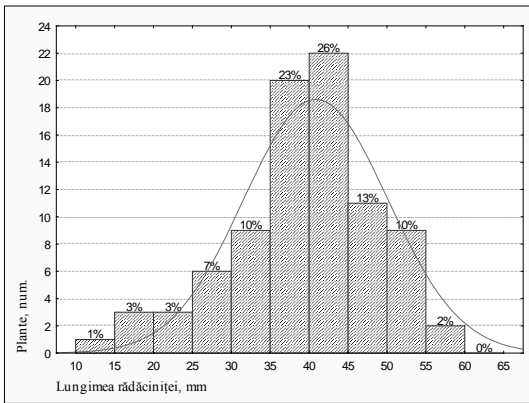
În legătură cu faptul că ciupercile *Fusarium* atacă sever rădăcinile plantelor, inclusiv a celor de tomate, la temperaturi joase, s-a procedat la testarea a 45 forme perspective de tomate la regimurile 22/10/22°C – martor (I) și 22/10/22°C + FC (II). În variantele I și II, la setul de genotipuri aflat în studiu, germinația semințelor a variat, respectiv, în limitele 43,2...99,0 și 42,2...100,0%; lungimea rădăcinii – 28,4...41,9 și 13,0...45,7 mm; lungimea tulpiniței – 13,0...28,9 și 6,7...18,8 mm; masa vegetală per plantă – 24,5...46,2 și 15,0...48,6 mg și masa vegetală uscată în aer liber per plantă – 2,3...3,7 și 0,2...4,0 mg. Deci, prezența FC al patogenului a condus la diminuarea indicilor de creștere și dezvoltare a plantelor, cu excepția germinației. Genotipurile scanate în baza indicilor menționați au prezentat localizări diferite sau similare în spațiul tridimensional, ceea ce denotă existența diferențelor sau similitudinilor în baza indicilor de clasificare. Totodată, clusterile de genotipuri au fost diferite după componență în varianta martor (I) și cea cu FC (II), relevându-se, astfel, particularități de reacție a genotipurilor la acțiunea asociată a temperaturii nefavorabile și a FC (Fig.1). De exemplu, linia F_5 Nota x Kecikemeti, sub numărul 7 din Fig.1, II, s-a deosebit de majoritatea liniilor prin valori înalte ale indicilor testați, ceea ce relevă rezistența înaltă a acesteia.

Repartiția plantelor în baza lungimii rădăcinii unuia din obiectele-test sensibile la acțiunea factorilor nefavorabili a pus în evidență faptul că la acțiunea asociată a temperaturii nefavorabile și FC (II) s-au atestat modificări ale unor indici de bază ai histogramei, cum ar fi modalitatea și înclinarea (Fig.2). În varianta II histograma a fost, practic, bimodală în cazul lungimii rădăcinii, și multimodală – în cazul lungimii tulpiniței.

Această relevă apariția mai multor centri (media aritmetică) de distribuție a valorilor (x), fenomen care conduce la descompunerea liniei inițiale în 2 sau mai multe linii cu noi însușiri biologice.



I II
Fig.1. Scanarea multidimensională a genotipurilor de tomate în baza unor indici cantitativi.



I II
Fig.2. Histogramele de repartiție a plantelor de tomate (linia F₅ Nistru x Solearis).

Prin cercetarea a 4 combinații încrucișate în sistem backcross care au inclus următoarele forme genetice: 1 – Sunmark, 2 – Mestnâi, 3 – Costral, 4 – Burnley Metro, 5 – Saladette, 6 – Noviciok, 7 – Balcan (părinți), 8 – F₁ Sunmark x Mestnâi, 9 – F₁ Costral x Mestnâi, 10 – F₁ Burnley Metro x Saladette, 11 – F₁ Noviciok x Balcan, 12 – F₂ Sunmark x Mestnâi, 13 – F₂ Costral x Mestnâi, 14 – F₂ Burnley Metro x Saladette, 15 – F₂ Noviciok x Balcan, 16 – BC₁ (F₁ Sunmark x Mestnâi) x Sunmark, 17 – BC₂ (F₁ Sunmark x Mestnâi) x Mestnâi, 18 – BC₁ (F₁ Costral x Mestnâi) x Costral, 19 – BC₂ (F₁ Costral x Mestnâi) x Mestnâi, 20 – BC₁ (F₁ Burnley Metro x Saladette) x Burnley Metro, 21 – BC₂ (F₁ Burnley Metro x Saladette) x Saladette, 22 – BC₁ (F₁ Noviciok x

Balcan) x Noviciok, 23 – BC₂ (F₁ Noviciok x Balcan) x Balcan, s-a constatat că FC a condus cu preponderență la diminuarea valorilor indicilor de germinație, masă vegetală per plantă și masă uscată în aer liber per plantă. Cazurile de excepție, în care s-au produs fenomene de stimulare, se datorează, probabil, sinergismului favorabil între hormonii endogeni ai plantei și ai celor din FC (Tab.1).

Pentru stabilirea gradului de similitudine a părinților și populațiilor hibride descendente – F₁, F₂, BC₁, BC₂, s-a procedat la scanarea multidimensională (Fig.3), analiza clusteriană în baza construirii dendrogramelor (Fig.4) și metodei *k*-medii (Fig.5). Clasificarea obiectelor (părinților/populațiilor hibride) s-a efectuat în baza următorilor indici: germinația semințelor, %; lungimea rădăcinței, mm; masa vegetală per plantă, mg; masa uscată în aer liber per plantă, mg.

După cum se vede din Figura 3, părinții și populațiile descendente au format diverse clustere în spațiul tridimensional, ceea ce denotă existența deosebirilor în baza indicilor examinați. Totodată, organizarea clusteriană în condițiile I și II este diferită, relevându-se, astfel, reacția specifică a formelor testate.

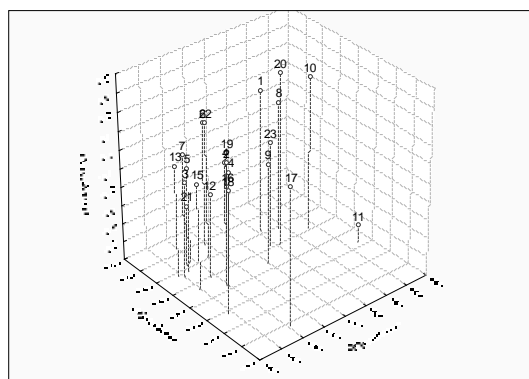
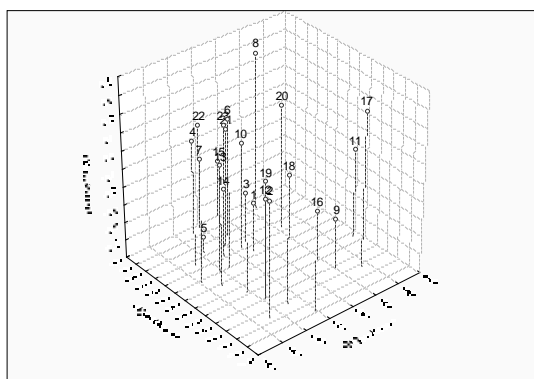
Părinții (1-7) au prezentat diferit grad de similitudine. Cel mai înalt grad de similitudine între părinți s-a manifestat în cazul soiurilor Mestnâi (2) și Costral (3), cu diferență mai mică urmând Burnley Metro (4) și Saladette (5). Influența FC a condus la accentuarea deosebirilor între prima pereche de părinți menționată și, totodată, la diminuarea deosebirilor la cei din a doua pereche, ceea ce denotă existența diferitelor reacții la acțiunea factorilor nefavorabili asociați (Fig.4). Prin metoda *k*-medii de analiză clusteriană, care prezintă oportunități de înaltă precizie în stabilirea indicilor relevanți pentru clasificare, precum și apartenență clusteriană a obiectelor, s-a constatat că cea mai mare capacitate de diferențiere a clusterelor la condițiile I prezintă nivelul de germinație și lungimea rădăcinței, iar la condițiile II – doar germinația (Fig.5).

Tabelul 1
Date comparative ale unor indici cantitativi la genotipuri și populații hibride de tomate

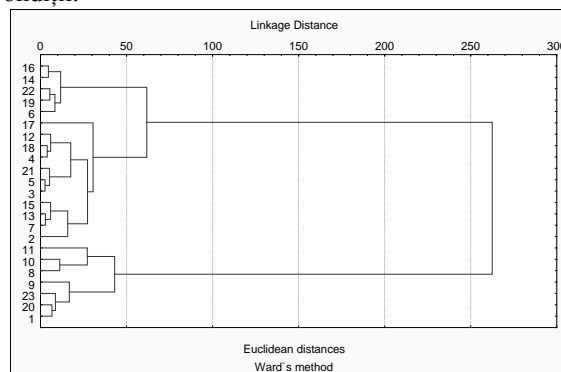
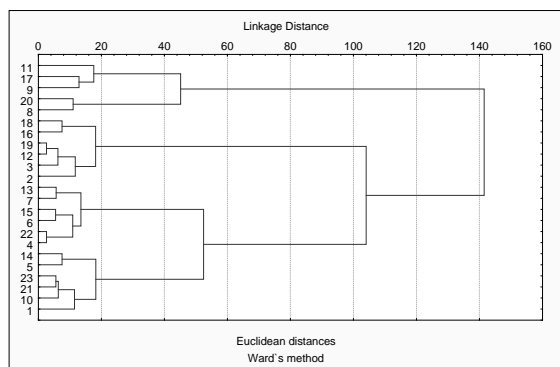
Nr.crt.	Genotipul/ populația hibridă	Germinația, %		Masa vegetală per plantă, mg		Masa uscată per plantă, mg	
		I	II	I	II	I	II
1	Sunmark	80,0	53,3	26,7	15,8	3,9	1,7
2	Mestnâi	100,0	100,0	24,8	16,4	3,7	1,3
3	Costral	95,6	93,3	22,8	16,9	3,0	2,6
4	Burnley Metro	95,6	88,9	13,5	17,3	4,0	1,5
5	Saladette	91,1	91,1	23,7	15,6	3,2	2,0
6	Noviciok	88,9	77,8	15,5	13,4	4,0	1,4
7	Balcan	100,0	97,8	14,8	12,5	0,7	1,8
8	F ₁ Sunmark x Mestnâi	60,0	46,7	15,6	17,9	2,2	5,7
9	F ₁ Costral x Mestnâi	70,0	66,7	36,7	22,0	6,2	4,5
10	F ₁ Burnley Metro x Saladette	80,0	36,7	19,6	19,1	5,8	0,9
11	F ₁ Noviciok x Balcan	53,3	30,0	34,4	37,8	2,5	5,6
12	F ₂ Sunmark x Mestnâi	94,2	90,8	25,5	19,3	2,9	2,8
13	F ₂ Costral x Mestnâi	97,5	100,0	17,8	13,4	2,8	2,7
14	F ₂ Burnley Metro x Saladette	87,5	75,8	21,7	19,8	3,3	3,5
15	F ₂ Noviciok x Balcan	93,3	99,2	18,0	16,6	3,0	2,1
16	BC ₁ (F ₁ Sunmark x Mestnâi) x Sunmark	88,9	80,0	31,3	21,1	2,3	3,1
17	BC ₂ (F ₁ Sunmark x Mestnâi) x Mestnâi	62,2	86,7	30,7	24,6	5,4	2,3

Tabel (Continuare)

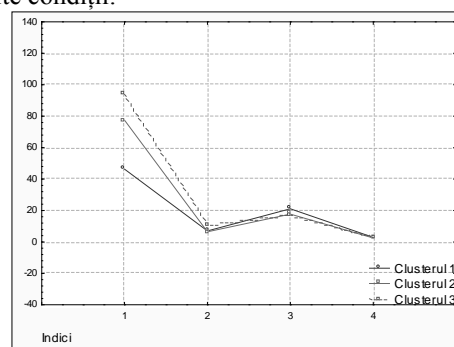
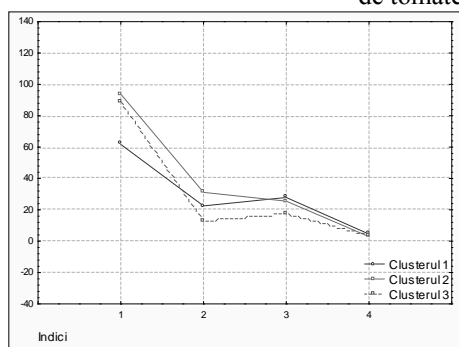
Nr.crt.	Genotipul/ populația hibridă	Germinația, %		Masa vegetală per plantă, mg		Masa uscată per plantă, mg	
		I	II	I	II	I	II
18	BC ₁ (F ₁ Costral x Mestnâi) x Costral	91,1	88,9	25,6	20,8	1,5	2,5
19	BC ₂ (F ₁ Costral x Mestnâi) x Mestnâi	93,3	82,2	23,6	17,0	4,1	1,6
20	BC ₁ (F ₁ Burnley Metro x Saladette) x Burnley Metro	63,3	53,3	22,1	15,0	6,3	2,5
21	BC ₁ (F ₁ Burnley Metro x Saladette) x Saladette	77,8	95,6	17,7	19,1	2,9	1,2
22	BC ₁ (F ₁ Noviciok x Balcan) x Noviciok	93,3	82,2	12,9	13,0	3,8	0,8
23	BC ₂ (F ₁ Noviciok x Balcan) x Balcan	82,2	57,8	16,5	21,2	2,2	1,1



I II
Fig.3. Scanarea multidimensională a genotipurilor și populațiilor descendente de tomate, cultivate în diferite condiții.



I II
Fig.4. Analiza clusteriană în baza dendrogramelor de repartiție a genotipurilor și populațiilor descendente de tomate, cultivate în diferite condiții.



I II
Fig.5. Analiza clusteriană (metoda k-medii) de repartiție a genotipurilor și populațiilor descendente de tomate, cultivate în diferite condiții.

Repartiția genotipurilor/populațiilor la condițiile I a fost următoarea: clusterelor 1 – nr.8, 9, 11, 17, 20; 2 – nr.2, 3, 12, 16, 18, 19; 3 – nr.1, 4, 5, 6, 7, 10, 13, 14, 15, 21, 22, 23, iar la condițiile II: clusterelor 1 – nr.1, 8, 10, 11, 20, 23; 2 – nr.6, 9, 14, 16, 19, 22; 3 – nr.2, 3, 4, 5, 7, 12, 13, 15, 17, 18, 21. Datele prezentate denotă că hibridii F_1 aproape întotdeauna au avut localizare diferită de părinți, ceea ce demonstrează rolul acțiunilor interalelice în formarea însușirilor specifice. Hibridii F_2 au format, preponderent, cluster comun cu ambii sau cu unul din părinți, relevându-se, astfel, că norma de reacție a caracterelor nu a fost prea mare. S-a constatat că în varianta martor 5 populații, iar în prezența FC – 4 din cele 8 populații BC au format cluster comun cu părintele implicat în retroincrușare. Aceasta relevă manifestarea în proporții aproximativ egale a recurenței și a interacțiunilor genice proprii în reacția plantelor la condițiile menționate.

S-a constatat că la combinațiile Sunmark x Mestnâi (1), Costral x Mestnâi (2), Burnley Metro x Saladette (3), Noviciok x Balcan (4) în heritabilitatea caracterului cercetat au fost implicate diverse tipuri de acțiuni și interacțiuni genice. În cele mai frecvente cazuri acțiunile a , d și interacțiunile epistatice aa și ad au contribuit la mărirea, iar dd – la micșorarea valorilor caracterului (Tab.2). A fost stabilit că în varianta martor variația efectelor a a prezentat 0,8...1,9%, d – 23,9...28,3%, a interacțiunilor aa – 22,7...26,7%, ad – 1,3...2,2%, dd – 42,9...49,4%, iar în varianta cu FC variația efectelor a a prezentat 1,2...2,8%, d – 19,8...27,2%, a interacțiunilor aa – 18,8...26,8%, ad – 1,5...3,3% și dd – 43,2...55,7% din variația genetică generală (Tab.3). Deci, controlul genetic al lungimii rădăcinii în ambele variante a fost determinat în majoritate de epistazii, dintre care cele de tip dd au avut pondere mai mare. Analiza corelațională a variațiilor efectelor genice și a distanțelor euclidiene între populațiile backcross a demonstrat existența unei dependențe înalte, pozitive: 1,0 și 0,86 la condițiile I și II, respectiv, între variația genetică generală și variația efectelor dd , care au prezentat cea mai mare implicare în reacția genotipurilor. Totodată, coeficientul de corelație între distanțele euclidiene (d.e.) ale populațiilor BC și variațiile efectelor genice au prezentat valoarea 0,35 pentru relațiile variantei dd și d.e. la condițiile I, și -0,94 – pentru relațiile variantei dd și d.e. la condițiile II. Deci, la condițiile deosebit de nefavorabile (II) norma de reacție mare a interacțiunilor dd poate conduce la diminuarea deosebirilor dintre genotipuri/populații, astfel prezentând un impediment serios în selecția epistatică.

Datele obținute relevă complexitatea genetică a reacției plantelor de tomate la acțiunea patogenului *F.oxysporum* var.*orthoceras*. Implicarea diferitelor acțiuni și interacțiuni genice, în special a epistaziilor de tip dd , și variația mare a acestora poate diminua considerabil deosebirile dintre genotipuri, ceea ce pune în dificultate posibilitățile de diferențiere a acestora. Tehnologiile informaționale statistice aplicate contribuie, în mare măsură, la elucidarea particularităților de reacție a tomatelor la patogenii fungici și la identificarea genotipurilor/combinațiilor valoroase.

Tabelul 2

Efectele genice implicate în creșterea rădăcinii de tomate

Combinația	m	a	d	aa	ad	dd
I						
1	28,1±1,9*	1,0±3,2	21,6±2,1*	38,0±2,1*	24,3±2,9*	-128,0±2,4*
2	19,8±1,5*	4,8±2,4*	46,0±1,7*	46,2±1,7*	33,9±2,3*	-56,0±2,0*
3	10,5±0,9*	6,7±1,5*	5,3±1,0*	0,6±1,0	14,5±1,4*	-2,9±1,1*
4	15,7±1,5*	1,9±1,3	-9,0±1,5*	-17,7±1,4*	18,8±1,5*	57,7±1,5*
II						
1	7,8±0,7*	-20,2±1,4*	26,6±0,8*	33,3±0,8*	-7,6±1,4*	-60,8±1,0*
2	6,6±0,6*	1,9±1,7	14,5±0,8*	16,6±0,8*	13,9±1,6*	-16,0±1,2*
3	4,7±0,5*	7,5±1,5*	10,4±0,7*	12,1±0,7*	15,9±1,4*	-12,3±1,0*
4	11,0±0,9*	-0,6±1,2	-17,2±1,0*	-18,0±1,0*	4,8±1,1*	14,8±1,0*

* - suport statistic al testului F

Tabelul 3

Varianța efectelor genice implicate în creșterea rădăcinii de tomate

Combinația	a		d		aa		ad		dd	
	S	%	S	%	S	%	S	%	S	%
I										
1	696,1	1,9	9108,2	24,5	9055,5	24,3	744,9	2,0	17619,4	47,3
2	491,9	1,9	6354,0	23,9	6053,5	22,7	576,6	2,2	13158,2	49,4
3	121,7	1,7	1808,4	24,7	1723,6	23,6	141,8	1,9	3522,8	48,1
4	132,6	0,8	4575,9	28,3	4314,5	26,7	213,9	1,3	6951,7	42,9

II										
1	141,5	2,2	1403,3	22,1	1341,7	21,2	172,0	2,7	3286,6	51,8
2	223,3	2,8	1604,4	19,8	1523,6	18,8	246,4	3,0	4526,7	55,7
3	129,9	2,7	944,3	19,8	901,6	18,9	157,4	3,3	2630,7	55,2
4	88,1	1,2	1953,5	27,2	1924,6	26,8	107,4	1,5	3097,2	43,2

Tabelul 4

Analiza corelațională a relațiilor dintre varianța diferitelor efecte genice implicate în creșterea rădăcinii de tomate (condițiile I)

Varianța	1	2	3	4	5	6
1	1,00					
2	0,93	1,00				
3	0,94	1,00*	1,00			
4	0,99*	0,95*	0,95*	1,00		
5	0,98*	0,98*	0,98*	0,99*	1,00	
6	0,96*	0,99*	0,99*	0,98*	1,00*	1,00

* - suport statistic al testului F

1, 2, 3, 4, 5, 6 – varianța *a*, *d*, *aa*, *ad*, *dd*, *generală*, respectiv.

Tabelul 5

Analiza corelațională a relațiilor între varianța diferitelor efecte genice implicate în creșterea rădăcinii de tomate (condițiile II)

Varianța	1	2	3	4	5	6
1	1,00					
2	-0,12	1,00				
3	-0,17	1,00*	1,00			
4	1,00*	-0,19	-0,24	1,00		
5	0,86	0,41	0,36	0,82	1,00	
6	0,48	0,81	0,78	0,42	0,86	1,00

* - suport statistic al testului F

1, 2, 3, 4, 5, 6 – varianța *a*, *d*, *aa*, *ad*, *dd*, *generală*, respectiv.

Concluzii

1. Analiza de scanare multidimensională a pus în evidență diferențe și similitudini ale soiurilor și liniilor de tomate în baza unor indici cantitativi, în condițiile 22/10/22°C și 22/10/22°C + FC *F.oxysporum* var.*orthoceras*, făcând posibilă detectarea genotipurilor de interes ameliorativ.

2. Examinarea histogramelor de repartiție a plantelor de tomate, supuse acțiunii asociate 22/10/22°C + FC *F.oxysporum* var.*orthoceras* a permis elucidarea fenomenului de descompunere a populației inițiale în subpopulații cu însușiri biologice distincte, considerat ca mecanism de formare a noilor linii.

3. Rezistența tomatelor la *F.oxysporum* var.*orthoceras*, apreciată în baza reacției rădăcinii la acțiunea filtratului de cultură, pe fondal de temperatură nefavorabilă, este controlată de un șir de efecte genice, dintre care interacțiunile epistatice de tip *dominant-dominat* prezintă o influență majoră.

4. La combinațiile backcross de tomate, epistaziile *dd* au prezentat 42,9...49,4% și 43,2...55,7% din varianța genetică generală în condițiile 22/10/22°C și 22/10/22°C + FC *F.oxysporum* var.*orthoceras*, respectiv, influențând cel mai mult gradul de participare a genotipului în formarea fenotipului caracterului de rezistență la patogen.

Referințe:

- Blows M.W., Hoffmann A.A. Evidence for an Association between Nonadditive Genetic Variation and Extreme Expression of a Trait // The American Naturalist. - 1996. - Vol.148, No3. - P.576-587.
- Carlborg O., Haley C.S. Epistasis: too often neglected in complex trait studies? // Genetics. - 2004. - Vol.5. - P.618-625
- Wolf J.B., Brodie E.D., Wade M.J. Epistasis and the Evolutionary Process. – Oxford: Oxford Univ. Press, 2000. – 330 p.
- Jiang Q., Chen C.-H. A multi-dimensional fuzzy decision support strategy // Decision Support Systems. – 2005. - No38. - P.591-598.
- Компьютерная биометрика / Под ред. В.Н. Носова. - Москва: Изд-во Московского ун-та, 1990. - 232 с.

Prezentat la 13.02.2009