

PARTICULARITĂȚI DE INTERACȚIUNE TOMATE X *FUSARIUM OXYSPORUM* VAR. *ORTHOCERAS* ÎN DIFERITE CONDIȚII TERMICE

Ludmila ROTARU

Institutul de Genetică și Fiziologie a Plantelor al AȘM

In the papers are presented the data about the interactions of tomatoes genotypes with the isolates of *Fusarium oxysporum* var. *orthoceras* fungus – one of the most pathogenetic species of *Fusarium* genus, which causes the root rot and plant withering. In laboratory conditions was established that the tomatoes genotypes have different reactions to the fungus isolates in dependence of quantitative indices and temperature conditions and this fact is necessary to appreciate for the elaboration of test systems with the aim to create resistant forms to fusariose.

În condițiile Republicii Moldova, ciupercile *Fusarium* spp. sunt agenți activi ai bolilor de rădăcină la tomate, manifestate prin necroze, ulceratii, deformări, ofiliri, reprimări sau stimulări excesive ale creșterii.

Fitopatosistemele au apărut pe parcursul evoluției ca rezultat al integrării treptate a două sau a câtorva organisme independente într-un sistem integrat comun [1]. Apariția complexelor patologice este firească, determinată de evoluțiile comune ale plantei și patogenului și acest punct de vedere se reflectă în cel mai direct mod asupra strategiei lucrărilor de ameliorare. Obiectivele de bază urmează a fi axate nu pe obținerea genotipurilor imune, ci pe a celor cu rezistență suficientă pentru a asigura realizarea potențialului biologic al plantei și care nu ar prezenta surse de acumulare a infecției.

În elaborarea unei strategii de management și control al bolilor, de rând cu un șir de cunoștințe importante, precum ar fi diversitatea genetică, structura populațiilor, virulența, rasele, relațiile biogeografice, de mare actualitate se prezintă elucidarea particularităților de specificitate a gazdei în reacția la patogeni [2-5], întrucât recunoașterea acestora reprezintă un eveniment crucial în apărarea activă a plantei [6].

Este cunoscut faptul că factorii abiotici, în special temperatura, joacă un rol important în reglarea echilibrului *plantă x patogen*. În legătură cu aceasta, scopul prezentei lucrări constă în elucidarea specificității de interacțiune a genotipurilor de tomate cu una dintre cele mai virulente specii *Fusarium* – ciuperca *F. oxysporum* var. *orthoceras*, în condiții termice optime și stresante, la etapa inițială a ontogenezei plantelor.

Material și metode

Genotipuri. A fost utilizat material semincier ce prezintă soiurile Mihaela, Merișor, precum și liniile L 120, L 121, L 122 – genotipuri cu rezistență pronunțată la temperatură joasă și cu indici înalți de producție și calitate, obținute și oferite cu amabilitate de către dr. biol. Nadejda Mihnea și dr. biol. Maria Grati.

Inoculul. Pentru aprecierea rezistenței/sensibilității plantelor la putrezirea semințelor și rădăcinii s-au utilizat filtratele de cultură a 6 tulpini *F. oxysporum* var. *orthoceras*, din colecția Laboratorului Imunogenetică Vegetală, izolate din rădăcini bolnave de tomate. Filtratele de cultură (FC) au fost preparate prin cultivarea miceliului pe mediul lichid Czapek, timp de 21 zile, la temperatura 22-23°C. Semințele de tomate au fost tratate cu filtrate de cultură și apă distilată (martor) timp de 18 ore.

Condițiile. Experiența s-a efectuat conform schemei de analiză bifactorială a varianței, în 3 repetiții. Semințele s-au plasat timp de 6 zile în camere umede, sterile (vase Petri cu hârtie de filtru imectată cu apă distilată). O variantă a experienței s-a realizat prin menținerea permanentă a semințelor/plăntuțelor la temperatura optimă 24°C (I), iar altă variantă – prin alternarea regimurilor de temperatură optimă/stresantă (10°C): 24°C – 2, 10°C – 2, 24°C – 2 zile (II). Datele obținute au fost prelucrate statistic cu pachetul de soft STATISTICA (SUA).

Rezultate și discuții

După cum rezultă din datele prezentate (Fig.1,2), filtratele de cultură utilizate FC1...FC6 au acționat în mod diferit asupra germinăției semințelor și creșterii rădăcinii, în raport cu genotipul plantei, izolata ciupercii și condițiile de temperatură. De exemplu, germinația semințelor la I, sub acțiunea FC1, FC2, FC3, FC4, FC5, FC6, la soiul Mihaela a înregistrat valori de 0,0; -12,0; -13,8; -3,3; -11,7 și -4,9%, iar la linia L 122: +8,9; +24,6; +8,1; +16,8; +0,6 și +21,2%, respectiv, în raport cu martorul. În cazul regimului termic II,

sub acțiunea FC1, FC2, FC3, FC4, FC5, FC6, la soiul Mihaela germinația a prezentat valori de +1,6; -3,4; -5,0; -1,7; -88,4 și -78,4%, iar la linia L 122 valori de -10,0; -11,7; -13,3; -13,3; -25,0; -1,7%, respectiv, în raport cu martorul. În ceea ce privește lungimea rădăcinii, s-a constatat că la I, sub acțiunea FC1, FC2, FC3, FC4, FC5, FC6, soiul Mihaela a înregistrat valori de +19,1; +9,0; +23,8; +31,8; +11,8; +4,3%, iar linia L 122 valori de +31,3; +17,4; +26,4; +26,9; +34,5; +12,5%, respectiv, în raport cu martorul. La II, sub acțiunea FC1, FC2, FC3, FC4, FC5, FC6, soiul Mihaela a prezentat valori de -26,9; -7,0; -19,9; +9,9; -47,4; -42,1%, iar linia L 122 valori de -10,0; -11,7; -13,3; -13,3; -25,0; -1,7%, respectiv, în raport cu martorul.

La mod general, s-a relevat că la I germinația semințelor, cu excepția L 122 (care a prezentat stimulări semnificative: +8,1... +24,6%), a diminuat, nivelul acesteia fiind diferit la genotipurile cercetate. Semințele supraviețuite au produs plante care au prezentat reacții sinergice cu FC, manifestate prin stimularea creșterii rădăcinii. La alternarea regimurilor termice (II), aproape în toate cazurile s-au atestat reprimări puternice ale germinației, cazurile de stimulare fiind cu frecvență redusă și ne semnificativă. Mai pronunțată s-a dovedit a fi și reprimarea creșterii rădăcinii. Sub acțiunea temperaturii joase, creșterea rădăcinii aproape în toate cazurile a diminuat, în special în cazul tulpinii 5 (FC5).

În raport cu I, la II germinația semințelor de genotipuri Mihaela, Merișor, L 120, L 121, L 122 a fost de -3,3; -5,2; 0,0; -3,3; +19,6, respectiv, iar lungimea rădăcinii – de -63,3; -62,0; -52,6; -44,1; -60,9%. Deci, linia L 121 s-a dovedit mai puțin sensibilă la stresul termic, comparativ cu celelalte genotipuri.

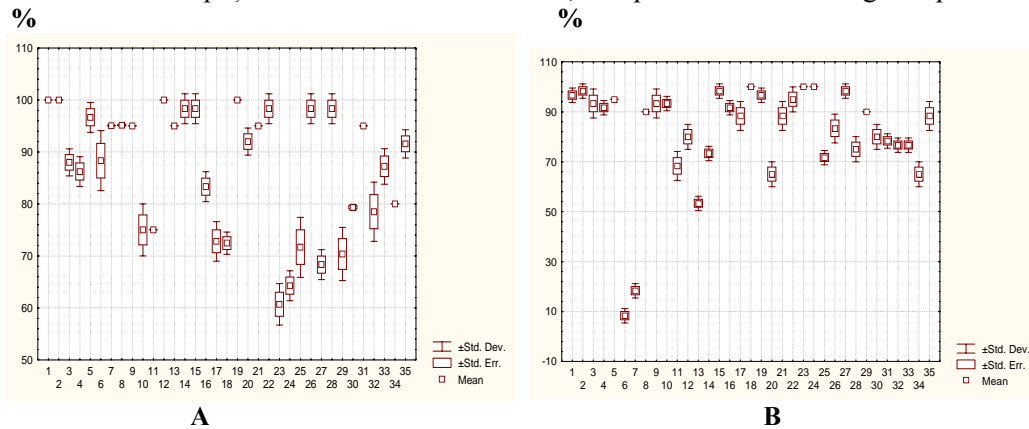


Fig.1. Influența FC *F. oxysporum* var. *orthoceras* asupra germinației semințelor de tomate în condiții termice optime (A) și stresante (B):

1...7 – Mihaela; 8...14 – Merișor; 15...21 – L 120; 22...28 – L 121; 29...35 – L 122.
1, 8, 15, 22, 29 – H₂O; 2, 9, 16, 23, 30 – FC1; 3, 10, 17, 24, 31 – FC2; 4, 11, 18, 25, 32 – FC3; 5, 12, 19, 26, 33 – FC4; 6, 13, 20, 27, 34 – FC5; 7, 14, 21, 28, 35 – FC6.

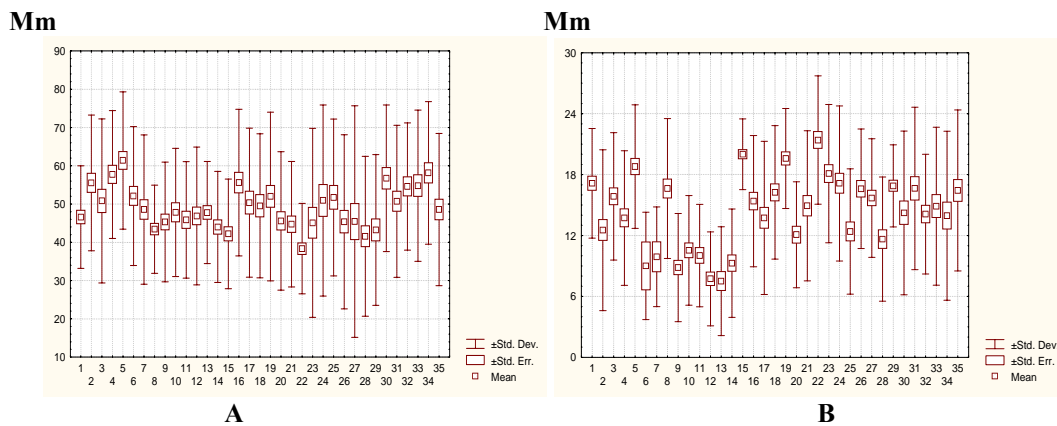


Fig.2. Influența FC *F. oxysporum* var. *orthoceras* asupra creșterii rădăcinii de tomate în condiții termice optime (A) și stresante (B):

1...7 – Mihaela; 8...14 – Merișor; 15...21 – L 120; 22...28 – L 121; 29...35 – L 122.
1, 8, 15, 22, 29 – H₂O; 2, 9, 16, 23, 30 – FC1; 3, 10, 17, 24, 31 – FC2; 4, 11, 18, 25, 32 – FC3; 5, 12, 19, 26, 33 – FC4; 6, 13, 20, 27, 34 – FC5; 7, 14, 21, 28, 35 – FC6.

Prin analiză bifactorială a varianței a fost apreciată contribuția diferitelor surse de variație – a genotipului de tomate, izolatei *F. oxysporum* var. *orthoceras* și a interacțiunii acestora în formarea fitopatosistemului, drept criterii de evaluare servind parametri aflați în studiu: germinația și lungimea rădăcinii (Tab.1,2).

Tabelul 1

Analiza bifactorială a relațiilor tomate x *F. oxysporum* var. *orthoceras* la regim termic optim

Sursa de variație	Grade de libertate	Suma medie a pătratelor	Contribuția procentuală a sursei de variație
Germinația			
Genotip	4*	617,52*	33,04
Izolată	5*	1030,19*	55,12
Interacțiuni <i>genotip x izolată</i>	20*	221,26*	11,84
Lungimea rădăcinii			
Genotip	4*	4444,58*	67,03
Izolată	5*	1704,86*	25,71
Interacțiuni <i>genotip x izolată</i>	20	481,80	7,27

* - suport statistic al testului F

Tabelul 2

Analiza bifactorială a relațiilor tomate x *F. oxysporum* var. *orthoceras* la regim termic stresant

Sursa de variație	Grade de libertate	Suma medie a pătratelor	Contribuția procentuală a sursei de variație
Germinația			
Genotip	4*	1375,28*	26,15
Izolată	5*	2786,67*	52,98
Interacțiuni <i>genotip x izolată</i>	20*	1097,78*	20,87
Lungimea rădăcinii			
Genotip	4*	2007,43*	78,48
Izolată	5*	339,63*	13,28
Interacțiuni <i>genotip x izolată</i>	20*	210,84*	8,24

* - suport statistic al testului F

S-a stabilit că în ambele condiții de temperatură, la etapa de germinație ponderea mai mare în sursa de variație a revenit izolatei (52,98...55,12%), iar la etapa formării rădăcinii – genotipului-gază (67,03...78,48%). Deci, în urma acțiunii FC (izolatelor) ca factor selectiv, la etapa de germinație, rolul genotipului plantei s-a manifestat cu înalt grad de expresie la etapa creșterii rădăcinii, deși, după cum rezultă din analiza anterioară – cu orientare diferită în condiții termice diferite – de stimulare și reprimare diferențiată, respectiv, pentru I și II. De remarcat că, în comparație cu I, în cazul II s-a mărit de ~2 ori nivelul interacțiunilor *genotip x izolată* la etapa germinării semințelor.

După cum se știe, unul dintre indicii rezistenței/sensibilității plantelor la stresuri biotice și abiotice este modul de repartiție a plantelor în populație [7]. Cercetând însușirile de bază ale histogramelor – modalitatea, aplatizarea, înclinarea (dreapta/stânga), se observă că acestea se deosebesc mult, funcție de izolată și regimul termic. De exemplu, soiul Mihaela, la temperatura 24°C, a prezentat rezistență relativă pentru izolata 2, 3, 5 și 6, iar la alternarea temperaturilor 24°/10°/24°C – pentru izolatele 3 și 5. În celelalte cazuri s-au atestat abateri de la distribuția normală, marcate de dizruperi ale continuității claselor, histogramme bimodale (2 B), aplatizări care denotă mărirea puternică a variabilității plantelor după parametrul cercetat (lungimea rădăcinii).

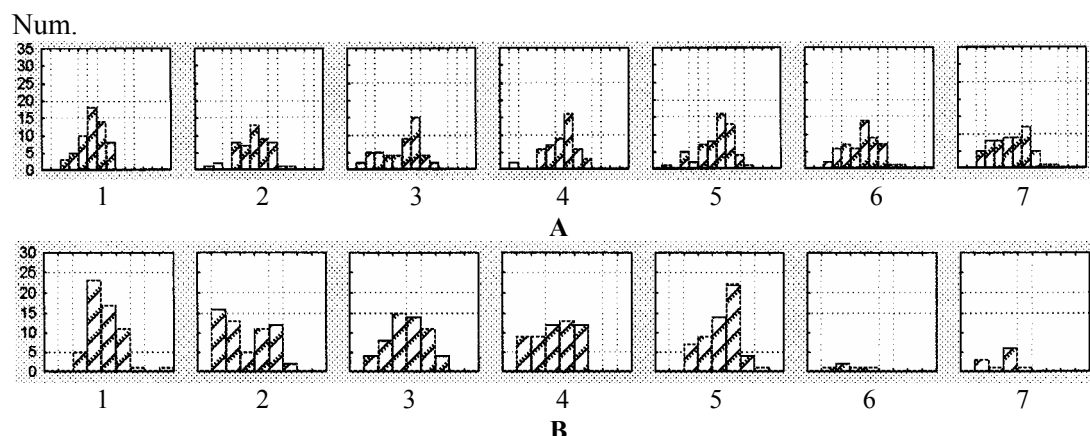


Fig.3. Repartiția plantelor în clase fenotipice sub acțiunea izolatelor *F. oxysporum* var. *orthoceras* și factorului termic (soiul Mihaela):

1 – martor (H_2O), 2 – FC1, 3 – FC2, 4 – FC3, 5 – FC4, 6 – FC5, 7 – FC6;
A – temperatura 24°C, B – alternanță de temperatură 24°/10°/24°C

Deci, apariția a 2 sau a mai multor maximuri, aplatizărilor, dizruperilor în histogramele de distribuție a plantelor poate servi în calitate de marker fenotipic al stresului în reacția tomatelor la tulpinile de *Fusarium* și la temperatură joasă, ceea ce poate fi utilizat în scopuri teoretice și practice.

Concluzii

Interacțiunile *tomate* x *F. oxysporum* var. *orthoceras* sunt specifice în faza de plantulă, funcție de parametrul de evaluare și condițiile de temperatură, fapt ce trebuie luat în considerație la elaborarea metodologiei de testare a rezistenței la putrezirea fuzariană a rădăcinilor.

În fitopatosistemul *tomate* x *F. oxysporum* var. *orthoceras* procesul de germinare a semințelor este controlat în mare măsură de patogen: 55,12 și 52,98%, deși nu este neglijabil factorul genotipic: 33,04 și 26,15%, respectiv, pentru condițiile termice: 24°C și 24°...10°...24°C. Formarea și creșterea rădăciniței este controlată, în mod special, de genotip: 67,03 și 78,48%, respectiv, pentru condițiile termice optime și stresante.

Apariția abaterilor de la distribuția normală a plantelor în populație, sub acțiunea izolatelor *F. oxysporum* var. *orthoceras* și/sau temperaturii nefavorabile, prezintă markeri fenotipici ai stresului biotic și/sau abiotic și, totodată, pune în evidență izolatele virulente care pot fi utilizate în calitate de factori de selecție pentru crearea genotipurilor rezistente de tomate.

Pentru includerea în programele de ameliorare se recomandă linia L 121, genotip care a prezentat valori înalte pentru nivelul de germinare și creștere a rădăciniței în condiții stresante complexe – biotice și abiotice.

Referințe:

1. Хахина Л.Н. Проблема симбиогенеза: Историко-критический очерк. - Ленинград: Наука, 1979. - 154 с.
2. Bao J., Fravel D.R., Lazarovits G., Chellemi D., van Berkum, P., and O' Neill N. Biocontrol genotypes of *Fusarium oxysporum* from tomato field in Florida // *Phytoparasitica*. - 2004. - No32. - P.9-20.
3. Research Project: Molecular Genetics and Host-Parasite Interactions of Fungal pathogens of Forage Legumes and Grasses, 2004, Annual Report//<http://www.ars.usda.gov/research/projects/projects.htm>
4. Лупашку Г.А., Сашко Е.Ф., Гавзер С.И. Взаимодействие генотипов пшеницы с фузариотоксином // Доклады Российской Академии с.-х. наук. - 2006. - №6. - С.11-13.
5. Серова З.Я., Спиридонова Г.И. Метаболизм нуклеиновых кислот у растений в связи с грибной инфекцией. - Минск: Наука и техника, 1986. - 224 с.
6. Storti E., Latil C., Salti S., Bettini P., Bogani P., Pellegrini M.G., Simeti C., Molnar A., Buiatti M. The *in vitro* physiological phenotype of tomato resistance to *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* // *Theoretical and Applied Genetics*. - 1992. - Vol.84. - No1-2. - P.123-128.
7. Amzallag J.-M. Critical period as fundamental events in life // *Theory in Bioscience*. - 2004. - Vol.123. - P.17-32.

Prezentat la 15.06.2007