

DOI: 10.5281/zenodo.4986839

CZU: 635.64:632.4

VARIABILITATEA ȘI HERITABILITATEA REZISTENȚEI GENOTIPURILOR DE TOMATE LA PATOGENII FUNGICI *ALTERNARIA ALTERNATA* ȘI *FUSARIUM* SPP.

Nadejda MIHNEA, Galina LUPAȘCU

Abstract. The paper presents the results of the laboratory testing of the response of some tomato varieties and lines from the collection of the Institute of Genetics, Physiology and Plant Protection to the pathogens *Fusarium* spp. and *Alternaria alternata*. Using the *k*-mean clustering method it was found that all fungi species manifested a high discriminating capacity of tomato cluster in the seed germination trait. The specificity of more pronounced interaction with *Fusarium oxysporum* and *Fusarium solani* pathogens was revealed for the stem and root length traits. A significant influence of fungi *Fusarium* and *Alternaria* on the genotypic and phenotypic variability of growth and development of tomato, on coefficients of heritability, genotypic and phenotypic variation and genetic progress was established.

Key words: *Lycopersicon esculentum*; Genotypes; Resistance to fungi; *Alternaria alternata*; *Fusarium*; Variability; Heritability.

Rezumat. În lucrare sunt prezentate date cu privire la reacția unor soiuri și linii din colecția de tomate a Institutului de Genetică, Fiziologie și Protecție a Plantelor la patogenii *Fusarium* spp. și *Alternaria alternata*, testate în condiții de laborator. Analiza clusteriană prin metoda *k*-mediilor a constatat că toate speciile de fungi au manifestat o capacitate discriminantă mai înaltă a clusterelor de tomate pentru caracterul germinarea semințelor, iar pentru lungimea tulpiniței și a rădăciniței s-au remarcat *Fusarium oxysporum* și *Fusarium solani*, respectiv, ceea ce relevă specificitatea de interacțiune mai pronunțată cu acești patogeni. S-a stabilit că ciupercile *Fusarium* și *Alternaria* influențează semnificativ varianța genotipică și fenotipică a caracterelor de creștere și dezvoltare a tomatelor, coeficientul de heritabilitate în sens larg, coeficientul de variație genotipic și fenotipic, progresul genetic.

Cuvinte-cheie: *Lycopersicon esculentum*; Genotipuri; Rezistență la fungi; *Alternaria alternata*; *Fusarium*; Variabilitate; Heritabilitate.

INTRODUCERE

Cantitatea și calitatea fructelor de tomate scade considerabil sub influența bolilor și dăunătorilor care pot trece ușor de la o plantă la alta (Hazra, P. et al. 2007; Foolad, M. R. 2007; Bodah, E. T. 2017; Szczechura, W. 2013). Alternarioza și fuzarioza sunt cele mai răspândite maladii la tomatele cultivate atât în seră, cât și în câmp, caracterizându-se printr-o gamă largă de simptome. Alternarioza se manifestă prin pătarea brună a frunzelor, lăstarilor și fructelor (Mamgain, A., Roychowdhury, R., Tah, J. 2013; Lupașcu, G. 2016), iar fuzarioza – prin leziunile brune severe care înconjoară hipocotilele, putregaiul rădăcinilor, ofilirea și moartea răsadului (Lupașcu, G. et al. 2009; Bodah, E. T. 2017; Szczechura, W. 2013). Creșterea patogenității și răspândirii fungilor la tomate este cauzată, în mare parte, de restrângerea diversității genetice a soiurilor nou-create. Includerea în programele de ameliorare a unei germoplasme cu bază genetică largă, inclusiv a formelor sălbatice, și selectarea în populațiile segregante a formelor recombinante cu asocieri reușite ale caracterelor valoroase reprezintă unele dintre strategiile moderne ale ameliorării (Heywood, V. et al. 2007).

Scopul cercetării noastre a fost de a determina efectul patogenilor fungici *Alternaria alternata* și *Fusarium* spp. asupra organelor de creștere și dezvoltare ale plantelor de tomate în ontogeneza timpurie, de a determina de asemenea gradul de variabilitate genetică, fenotipică și ereditatea caracterelor.

MATERIALE ȘI METODE

În calitate de material pentru cercetare au servit 6 soiuri și 4 linii de tomate. Liniile și soiurile Kristina, Florina, Măriuca, Darsirius sunt de origine românească și provin de la Stațiunea de Cercetare-Dezvoltare pentru Legumicultură Buzău. Experiențele au fost efectuate în condiții de laborator.

Au fost utilizate filtratele de cultură (FC) ale fungilor *Fusarium oxysporum*, *F. solani* și *Alternaria alternata* (izolate din plante bolnave de tomate), preparate prin inocularea miceliului în mediul lichid Czapek-Dox și cultivarea, ulterioră, la temperatura de 22–24°C timp de 21 de zile.

Semințele de tomate au fost tratate cu FC ale fungilor timp de 18 ore. În calitate de martor au servit

semințele menținute în apa distilată. Cultivarea plantulelor a avut loc în cutii Petri, pe hârtie de filtru umectată cu apă distilată, la temperatura de 22–24°C timp de 6 zile. În calitate de indici-test ai reacției plantelor au servit importante caractere de creștere și dezvoltare ale tomatelor la etapa timpurie a ontogenezei – germinație, lungimea rădăciniței și lungimea tulpiniței.

Pentru analiza variabilității genetice, a heritabilității și progresului genetic au fost aplicate formulele:

$$\sigma^2 = (\text{MSS} - \text{MSE})/r;$$

$$\sigma_{\text{ph}}^2 = \sigma_{\text{e}}^2 + \sigma_{\text{G}}^2;$$

$$h^2 = \sigma_{\text{g}}^2 / \sigma_{\text{ph}}^2 \times 100\%;$$

$$\text{PCV} = 100 \times \sqrt{\sigma_{\text{ph}}^2 / X};$$

$$\text{GCV} = 100 \times \sqrt{\sigma_{\text{g}}^2 / X};$$

$$\text{GA} = K \times (\sigma P) \times h^2;$$

$$\text{GA, \%} = 100 \times K \times h^2 \times \sigma_{\text{ph}} / X,$$

în care: σ_{g}^2 – varianța genotipică (genetic variance); σ_{ph}^2 – varianța fenotipică (phenotypic variance); σ_{e}^2 (error variance sau VE) = MSE; MSS – suma medie a pătratelor (average sum of the squares); h^2 – coeficientul de heritabilitate în sens larg (heritability in broad sense); PCV – coeficientul de variație fenotipic (phenotypic coefficients of variation); GCV – coeficientul de variație genotipic (genotypic coefficients of variation); X – media generală a caracterului (the general average of the character); r – numărul de repetiții (number of repetitions); GA – avantajul genetic (genetic advance); K – diferențial de selecție = 2,06 la presiunea de selecție de 5% (selection differential = 2,06 at the selection pressure of 5%); σ_{ph} – deviația standard generală a caracterului (general standard deviation of character) (Rameeh, V. 2014; Adeniji, O. T. 2018; Balkan, A. 2018).

Analizele clusteriene s-au efectuat prin construirea dendrogramelor (algoritm aglomerativ-iterațional, metoda Ward) și prin metoda *k*-mediilor (Savary, S. et al. 2010). În cadrul metodei *k*-mediilor s-au programat 3 clustere după posibilele valori ale caracterelor: mici, medii și înalte.

Datele obținute s-au prelucrat statistic în pachetul de soft STATISTICA 7.

REZULTATE ȘI DISCUȚII

Soiurile și liniile din colecție care au manifestat un complex de caractere utile în 2018 au fost testate în condiții de laborator în vederea stabilirii reacției la filtratele de cultură ale patogenilor *F. oxysporum*, *F. solani* și *A. alternata* în baza germinației semințelor, lungimii rădăciniței embrionare și a tulpiniței. S-a constatat o reprimare puternică a germinației semințelor, creșterii și dezvoltării rădăciniței embrionare și tulpiniței. Este de menționat că reacția plantelor a depins de genotip, caracterul analizat și specia de fung.

După cum rezultă din datele prezentate, influența FC asupra germinației semințelor la genotipurile de tomate incluse în studiu a fost diferită (Fig. 1).

De exemplu, filtratul de cultură *F. oxysporum* a inhibat germinația semințelor cu 1,6–30,3%, iar *F. solani* – cu 5,8%–46,4%. Sub influența FC *A. alternata*, inhibarea a fost de 10,0–44,9%. Reprimare semnificativă s-a înregistrat la soiul Florina (30,3%) și liniile L 66 (19,4%), L 11 (16,4%) sub influența FC *F. oxysporum*.

În varianta cu FC *F. solani* s-a remarcat o inhibare puternică a caracterului la soiurile Florina, Pontina, Roma, L 66, L 71 – cu 46,4%, 30,0%, 23,3%, 26,9% și, respectiv, 25,4% și inhibare nesemnificativă la soiurile Flacăra și Mary Gratefully – 5,8% și, respectiv, 10,2%. Sub influența FC *A. Alternata*, o inhibare semnificativă s-a atestat la soiurile Florina (44,9%), Pontina (29,1%), Măriuca (25,0%) și liniile L 66 (23,2%), L 11 (20,1%). O inhibare mai joasă de 15% la acțiunea tuturor filtratelor de cultură evaluate s-a înregistrat la soiurile Flacăra, Mary Gratefully și L 10B, ele prezentând astfel interes pentru programele de ameliorare ca posibile surse de rezistență la acești patogeni fungici.

S-a constatat că, în cazul rădăciniței, genotipurile au manifestat sensibilitate destul de înaltă la FC (Fig. 2). Astfel, filtratele de cultură sus-menționate au inhibat creșterea rădăciniței în limitele -35,0–82,0%. Genotipurile evaluate au fost cel mai puternic influențate de *F. solani* și *A. alternata*, valorile medii în raport cu martorul variind în limitele 46,9–80,3% și 47,1–82,0%, corespunzător. În varianta cu FC *F. oxysporum* s-au atestat reprimări puternice ale dezvoltării caracterului la L 71, Florina, L 66, Flacăra. În 8 cazuri din 30 s-a atestat o inhibare a creșterii rădăciniței embrionare în limitele 35,0–47,9%. Nu au fost atestate genotipuri cu sensibilitate joasă, cea mai scăzută sensibilitate la FC studiate înregistrându-se la L 66.

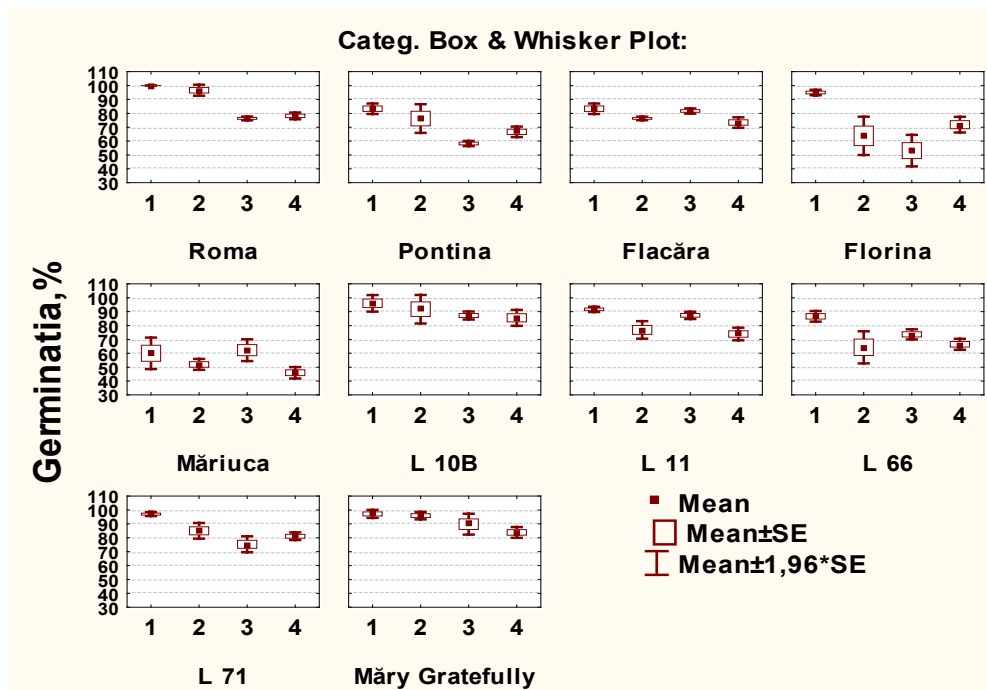


Figura 1. Influența filtratelor de cultură asupra germinăției semințelor liniilor de perspectivă și soiurilor de tomate, % (pe orizontală – 1. H₂O (martor); 2. *F. oxysporum*; 3. *F. solani*; 4. *A. alternata*)

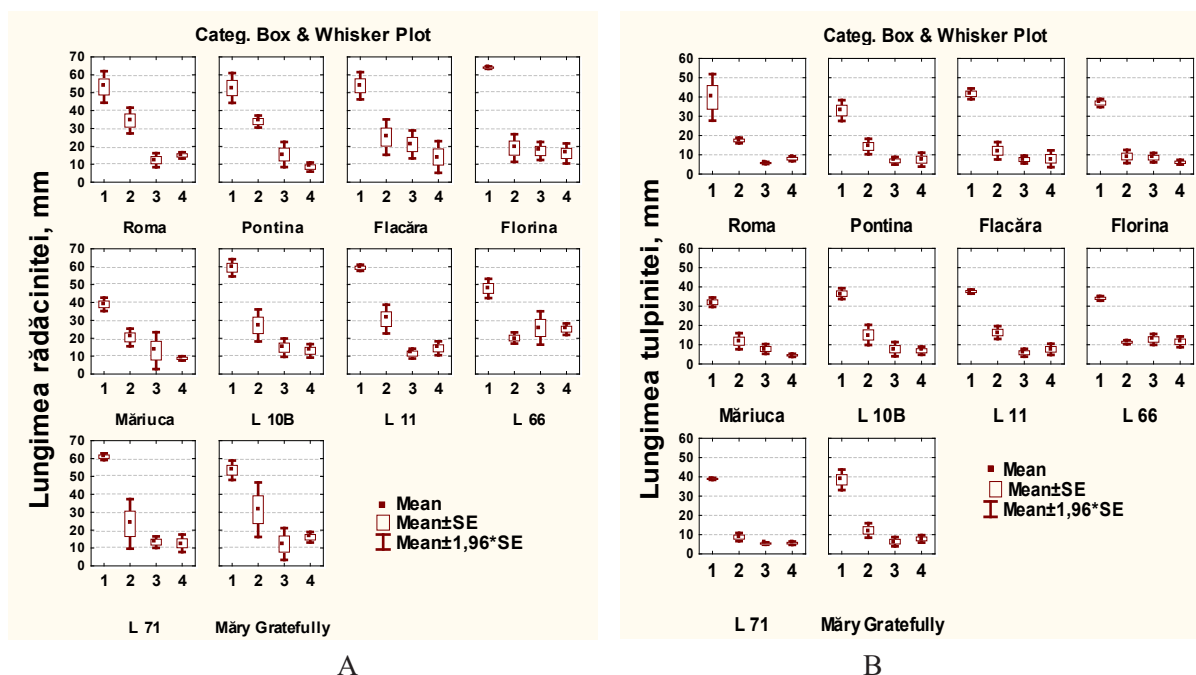


Figura 2. Influența filtratelor de culturi *F. oxysporum*, *F. solani*, *A. alternata* asupra creșterii rădăcinii (A) și tulpinii (B) la plantulele de tomate (pe verticală – lungimea rădăcinii; pe orizontală – 1. H₂O (martor); 2. *F. oxysporum*; 3. *F. solani*; 4. *A. alternata*)

În cazul lungimii tulpinii s-a identificat o amplitudine mai largă a variabilității ca răspuns la FC experimentate. Reprimarea tulpinii în raport cu martorul a variat în limitele 48,3–71,1% la *F. oxysporum*, 55,2–84,7% la *F. solani*, 61,2–85,7% la *A. alternata*. Ca și în cazul rădăcinii, genotipurile au fost cel mai puternic influențate de *F. solani* și *A. alternata*. De exemplu, în varianta cu FC *F. solani* s-a remarcat o inhibare de peste 60,0% la toate genotipurile, cu excepția liniei L 66, la care creșterea tulpinii a fost reprimată cu 55,0%.

Analiza clusteriană (metoda *k*-mediilor) a demonstrat că, în varianta martor, pentru toate cele 3 ca-

ractere studiate, variația interclusteriană a fost mult mai înaltă decât variația intraclusteriană, iar asta înseamnă că genotipurile luate în studiu (10) au manifestat deosebiri pronunțate.

O mare importanță pentru separarea reușită în clustere are capacitatea de discriminare a caracterelor și a factorilor luați în calitate de cazuri – germinația, lungimea rădăcinii, lungimea tulpiniței. Putem observa că, la modul general, variațiile interclusteriană și intraclusteriană au fost mult mai înalte pentru germinație, apoi pentru lungimea rădăcinii și, în ultimul rând, pentru lungimea tulpiniței.

În cazul germinației, separarea genotipurilor în clustere a fost reușită pentru toate cele 4 variante – martor, FC *F. oxysporum*, FC *F. solani* și FC *A. alternata*. S-a observat că FC *A. alternata* a fost un factor cu putere slabă de diferențiere a genotipurilor în baza lungimii rădăcinii, iar FC *F. oxysporum* – în baza lungimii tulpiniței, ceea ce denotă că parametrii respectivi ai genotipurilor de tomate luate în studiu n-au interacționat specific cu acești patogeni.

Tabelul 1. Analiza varianței inter- și intraclusteriene la interacțiunea genotipurilor de tomate cu unii patogeni fungici

Variantă	Varianță interclusteriană	df	Varianță intraclusteriană	df	F	p
<i>Germinație</i>						
Martor (H ₂ O)	1079,601	2	180,468	7	20,94	0,00
FC <i>F. oxysporum</i>	1555,205	2	435,800	7	12,49	0,01
FC <i>F. solani</i>	761,029	2	517,560	7	5,15	0,04
FC <i>A. alternata</i>	1575,296	2	381,188	7	14,46	0,00
<i>Lungimea rădăcinii</i>						
Martor (H ₂ O)	267,589	2	202,735	7	4,62	0,05
FC <i>F. oxysporum</i>	176,494	2	111,702	7	5,53	0,04
FC <i>F. solani</i>	160,621	2	31,820	7	17,67	0,00
FC <i>A. alternata</i>	85,309	2	96,880	7	3,08	0,11
<i>Lungimea tulpiniței</i>						
Martor (H ₂ O)	68,203	2	20,398	7	11,702	0,01
FC <i>F. oxysporum</i>	21,757	2	28,088	7	2,71	0,13
FC <i>F. solani</i>	79,243	2	16,118	7	17,207	0,00
FC <i>A. alternata</i>	26,683	2	19,773	7	4,72	0,05

Prin clasificarea genotipurilor în baza celor 3 caractere s-a constatat că, în varianta martor, clusterul 1 a întrunit 6 genotipuri – Roma, Florina, L 10B, L11, L71 și Mary Gratefully – cu cele mai înalte valori ale caracterelor analizate: germinația – 96,38%; lungimea rădăcinii – 58,43 mm și lungimea tulpiniței – 38,1 mm.

În varianta cu FC, genotipurile Roma, L 10B, L71 și Mary Gratefully au format clusterul 3, cu cele mai înalte valori ale germinației – 85,59%, lungimea rădăcinii și tulpiniței fiind practic egale în cele 3 clustere, ceea ce denotă că germinația, comparativ cu celelalte 2 caractere, a fost un factor cu capacitate discriminantă mai înaltă.

Prelucrarea statistică a datelor experimentale prin analiză bifactorială a varianței a permis aprecierea variabilității și a gradului de influență a FC, genotip, precum și interacțiunea lor asupra variabilității caracterelor evaluate (Tab. 3).

S-a constatat că contribuția genotipului, izolatei și interacțiunii genotip x izolată a fost următoarea: pentru lungimea rădăcinii – 0,8; 97,9; 1,0%; pentru tulpiniță – 0,3; 99,2; 0,33%; pentru germinație – 46,1; 48,60; 4,5%, corespunzător. Astfel, factorul de izolată este cel mai important pentru creșterea rădăcinii și tulpinii (97,9–99,2%). Este necesar de remarcat faptul că genotipul a jucat un rol destul de important pentru germinația semințelor, contribuția în sursa de variație fiind de 46,5%, ceea ce indică o plasticitate fenotipică relativ diferită a germinației semințelor de tomate la patogenii fungici.

Variațiile genotipice (σ_g) și fenotipice (σ_{ph}) au fost mult mai mari pentru germinație și lungimea rădăcinii decât pentru tulpiniță (Tab. 4).

**Tabelul 2. Analiza descriptivă a clusterelor
Varianta martor**

Cluster	Caracter	x	Genotip
1	Germinație, %	96,38	1 – Roma, 4 – Florina, 6 – L 10B, 7 – L 11, 9 – L 71, 10 – Mary Gratefully
	Lungimea rădăcinii, mm	58,43	
	Lungimea tulpiniței, mm	38,1	
2	Germinație, %	60,0	5 – Măriuca
	Lungimea rădăcinii, mm	39,1	
	Lungimea tulpiniței, mm	32,1	
3	Germinație, %	85,60	2 – Pontina, 3 – Flacăra, 8 – L 66
	Lungimea rădăcinii, mm	51,63	
	Lungimea tulpiniței, mm	36,20	

Varianta cu FC

Cluster	Caracter	x	Genotip
1	Germinație, %	60,88	4 – Florina, 5 – Măriuca, 8 – L 66
	Lungimea rădăcinii, mm	18,80	
	Lungimea tulpiniței, mm	11,86	
2	Germinație, %	76,64	2 – Pontina, 3 – Flacăra, 7 – L 11
	Lungimea rădăcinii, mm	19,42	
	Lungimea tulpiniței, mm	10,74	
3	Germinație, %	85,59	1 – Roma, 6 – L 10B, 9 – L 71, 10 – Mary Gratefully
	Lungimea rădăcinii, mm	18,87	
	Lungimea tulpiniței, mm	10,05	

Tabelul 3. Analiza bifactorială a relațiilor genotip de tomate x patogen fungic

Sursă de variație	Grad de libertate	Lungimea rădăcinii		Lungimea tulpiniței		Germinația	
		Suma medie a pătratelor	Contribuția în sursa de variație, %	Suma medie a pătratelor	Contribuția în sursa de variație, %	Suma medie a pătratelor	Contribuția în sursa de variație, %
Genotip	9	86,86	0,8	18,83	0,3	1524,5	46,1
Izolată	3	10366,06	97,9	5948,81	99,2	1608,2	48,6
Genotip x izolată	27	99,57	1,0	19,52	0,3	148,3	4,5
Efecte aleatorii	80	34,95	0,3	9,15	0,2	26,6	0,80

*- p<0,05.

Tabelul 4. Variabilitatea genetică a organelor de creștere ale tomatelor și ereditatea rezistenței la patogenii fungici în ontogeneza timpurie

Parametrul	Lungimea rădăcinii	Lungimea tulpiniței	Germinația
σ^2_g	17,3	3,2	499,3
σ^2_{ph}	52,3	12,4	525,9
h^2	0,33	0,26	0,95
GCV, %	15,0	11,0	28,5
PCV, %	26,0	21,7	29,2
PCV – GCV, %	11,0	10,7	0,7
GA	12,0	6,8	28,2
GA, %	43,3	42,0	35,9

Coefficientul de heritabilitate înalt, în sensul larg al cuvântului (0,33 pentru lungimea rădăcinii și 0,75 pentru germinație), indică o bună ereditate a caracterelor la interacțiunea cu FC. Menționăm că coeficientul de variație genotipic pentru germinația semințelor a fost de 28,5%, ceea ce dovedește natura genetică a variabilității lui. Diferența dintre PCV și GCV a fost de 0,7–11,0% și reflectă influența FC asupra reacției organelor de creștere.

CONCLUZII

S-a constatat că reacția plantelor de tomate (germinație, creșterea rădăcinii și tulpiniței) la FC *F. oxysporum*, *F. solani* și *A. alternata*, în condiții controlate, a fost diferită și a depins de genotip, organul de creștere al genotipului și specia fungului.

Analiza clusteriană prin metoda *k*-mediilor a constatat că toate speciile de fungi au manifestat o capacitate discriminantă mai înaltă a clusterelor de tomate pentru caracterul germinația semințelor, iar pentru lungimea tulpiniței și a rădăcinii s-au remarcat *F. oxysporum* și *F. solani*, corespunzător, ceea ce relevă specificitatea de interacțiune mai pronunțată cu acești patogeni.

Prin analiză clusteriană s-a constatat că, în varianta cu filtrate de cultură ale fungilor, 4 din genotipurile testate – Roma, L 10B, L71 și Mary Gratefully – au format clusterul cu cele mai înalte valori ale germinației, lungimii rădăcinii și tulpiniței, iar aceasta denotă sensibilitatea mai puțin pronunțată a lor.

S-a constatat că interacțiunea plantelor de tomate cu ciupercile *Fusarium* și *Alternaria* afectează puternic variabilitatea genotipică și fenotipică, precum și ereditatea organelor de creștere și dezvoltare.

Indici înalți ai coeficientului de heritabilitate și ai progresului genetic pentru organele de creștere ale tomatelor la interacțiunea cu agenții patogeni semnaleză o contribuție semnificativă a variantei aditive genetice la valoarea caracterelor, ceea ce are o importanță majoră în accelerarea identificării formelor rezistente.

RECUNOAȘTERI

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.

REFERINȚE BIBLIOGRAFICE

- ADENIJI, O.T. (2018). Genetic variation and heritability for foliage yield and yield component traits in edible *Amaranthus cruentus* [L.] genotypes. In: Journal of Agricultural Research, 43(3), pp. 513-524.
- BALKAN, A. (2018). Genetic variability, heritability and genetic advance for yield and quality traits in M2-4 generations of bread wheat (*Triticum aestivum* L.) genotypes. Turkish Journal of Field Crops, no. 2, pp. 173-179.
- BODAH, E.T. (2017). Root rot diseases in plants: a review of common causal agents and management strategies. In: Agricultural Research & Technology Open Access Journal, vol. 5, Issue 3. DOI: 10.19080/ARTOAJ.2017.04.555661.
- FOOLAD, M. (2007). Genome mapping and molecular breeding of tomato. In: International Journal of Plant Genomics, vol. 2007, p. 52.
- HAZRA, P., HAQUE ANSARY, S., SIKDER, D., PETER, K.V. (2007). Breeding Tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill.) Resistant to High Temperature Stress. In: Int. Journal of Plant Breed., no. 1(1), pp. 31-40.
- HEYWOOD, V. et al. (2007). Conservation and sustainable use of crop wild relatives. In: Agriculture Ecosystems & Environment, no. 121, pp. 245-255.
- LUPAȘCU, G. (2016). Rolul factorului parental și interacțiunilor genice la elaborarea tehnologiilor de creare a genotipurilor de plante cu însușiri valoroase. In: Intellectus, nr. 1, pp. 89-93. 1810-7079.
- LUPAȘCU, G., ROTARU, L., MIHNEA, N. (2009). Cercetări cu privire la controlul genetic al rezistenței tomatelor la *Fusarium oxysporum* var. orthoceras. In: Studia Universitatis, nr.6 (26), pp. 143-148.
- MAMGAIN, A., ROYCHOWDHURY, R., TAH J. (2013). *Alternaria* pathogenicity and its strategic controls. In: Research Journal of Biology, vol. 1, pp. 1-9.
- RAMEEH, V. (2014). Multivariate Regression Analyses of Yield Associated Traits in Rapeseed (*Brassica napus* L.) Genotypes. In: Advances in Agriculture, vol. 9, pp. 1-5. DOI:10.1155/2014/626434.
- SAVARY, S. et al. (2010). Use of Categorical Information and Correspondence Analysis in Plant Disease Epidemiology. In: Advances in Botanical Research, vol. 54, pp. 190-198.
- SZCZETCHURA, W., STANIASZEK, M., HABDAS, H. (2013). *Fusarium oxysporum* f. sp. *radicis-lycopersici* – the cause of fusarium crown and root rot in tomato cultivation. In: Journal of Plant Protection Research, vol. 53, no. 2, pp. 172-176.

INFORMAȚII DESPRE AUTORI

MIHNEA Nadejda

doctor habilitat în științe biologice, conferențiar cercetător, Institutul de Genetică, Fiziologie și Protecție a Plantelor, Republica Moldova

E-mail: mihneanadea@yahoo.com

LUPAȘCU Galina

doctor habilitat în științe biologice, profesor cercetător, Institutul de Genetică, Fiziologie și Protecție a Plantelor, Republica Moldova

E-mail: galinalupascu51@gmail.com

Data prezentării articolului: 26.01.2021

Data acceptării articolului: 05.03.2021