
КОМПЛЕКСНА ДІАГНОСТИКА ОЗНАКИ СТІЙКОСТІ ДО ФУЗАРІОЗНОГО В'ЯНЕННЯ СЕЛЕКЦІЙНО-ЦІННИХ ФОРМ ПЕРЦЮ СОЛОДКОГО (*CAPSICUM ANNUUM* L.)

Кондратенко С. І., Пилипенко Л. В., Ткалич Ю. В.
DOI <https://doi.org/10.30525/978-9934-26-588-4-8>

ВСТУП

На сьогодні в усьому світі визнається, що найбільш економічно ефективним методом захисту більшості овочевих культур від хвороб різної етіології є впровадження у товарне виробництво стійких або толерантних сортів і гібридів F₁¹. Зміна клімату в Україні вже сьогодні негативно впливає на фітосанітарний стан агроценозів перцю солодкого. На підставі отриманих експериментальних даних з'ясовано, що у зоні Північного-східного Лісостепу України прямим наслідком цього процесу стало стрімке зростання шкідливості у фітоагроценозах перцю солодкого хвороби в'янення².

Аналіз сучасних публікацій за даним напрямом досліджень засвідчує – лише сумісні теоретичні і практичні дослідження в галузі генетики, цитології, біотехнології, імунітету спроможні вивести вітчизняну сортову і гібридну селекцію перцю солодкого на конкурентоспроможний світовий рівень^{3,4}. Паралельно це дозволить більш ефективно контролювати перебіг формоутворюючих процесів у регіональному патокомплексі агрофітоценозів цієї овочевої культури.

¹ Петренкова В.П., Боровська І.Ю., Лучна І.С., Сокол Т.В., Ниска І.М., Кучеренко Є.Ю., Компанець К.В. Методологія виділення форм польових культур за стійкістю до комплексу біо- та абіотичних чинників. Харків: ФОП Бровін О.В., 2018. 242 с.

² Стасюк М., Полянська Х., Вересюк Ю. Найпоширеніші хвороби перцю солодкого (*Capsicum annuum* L.) та методи боротьби з ними. *Магістерський науковий вісник Тернопільського національного педагогічного університету імені Володимира Гнатюка*. 2023. Вип. 41. С. 140–143.

³ Ro N., Lee G.-A., Ko H.-C., Oh H., Lee S., Haile M., Lee J. Exploring disease resistance in pepper (*Capsicum* spp.) germplasm collection using fluidigm SNP genotyping. *Plants*. 2024. Vol. 13. P. 1344. DOI: <https://doi.org/10.3390/plants13101344>

⁴ Kondratenko S. Chapter 6. Application of methods of interspecies hybridization, biotechnology and induced apomixis in the context of accelerated creation of multigenome forms of pepper adapted to organic growing technologies. *Biological sciences and education in the context of European integration. Scientific monograph* / R. Krutko, L. Pylypenko. Riga, Latvia: “Baltija Publishing”, 2024. P. 114–132. DOI: <https://doi.org/10.30525/978-9934-26-443-6-6>

На теперішній час генетичні та фізіологічні механізми стійкості рослин перцю солодкого до збудника фузаріозу ще недостатньо вивчені. Існуючий спосіб польової оцінки стійкості проти фітофагів має ряд недоліків, оскільки потребує значну тривалість у часі (понад кілька років) та витратність, нерегулярність прояву хвороби за різних погодних умов, висока імовірність загибелі сприйнятливого до хвороби цінного селекційного матеріалу⁵. У кожного виду рослин в онтогенезі відмічені критичні фази, для яких характерна підвищена чутливість до збудника⁶. Досить інформативним критерієм добору, стійких до фузаріозу форм перцю солодкого є використання методу клітинної селекції *in vitro*, який передбачає вивчення в стерильній культурі реакції соматичних та меристематичних клітин на присутність фільтрату культуральної рідини (ФКР) збудника хвороби у складі поживного середовища^{7,8}. Іншим дійовим фактором оцінки та добору генотипів овочевих культур пасльонові групи за стійкістю до фузаріозного в'янення може слугувати показник життєздатності пилку, який дозволяє визначати стійкість зразка на рівні чоловічого гаметофіту вже на початкових етапах селекційного процесу⁹. Мікологічним аналізом підтверджено, що основними зональними збудниками цієї хвороби у перцю солодкого є комплекс фітопатогенних грибів некротрофного типу живлення роду *Fusarium* Link., а саме їх специфічне для зони проведення досліджень видове комбінаційне поєднання у патогенезі цієї хвороби грибів *F. solani*, *F. oxysporum* f.sp. *capsici* та *F. oxysporum* f. sp. *lycopersicon*¹⁰.

Враховуючи вищевказану проблематику у представленій главі колективної монографії узагальнено важливі методичні аспекти та результати експериментальної роботи з оцінки прояву ознаки стійкості перцю солодкого (*C. annuum* L.) до збудника хвороби фузаріозу

⁵ Черненко О.В. Діагностика видового складу та вірулентний потенціал хвороб перцю солодкого *Capsicum annuum* L. *Овочівництво і багаторічництво*. 2016. Т.62. С. 317–326.

⁶ Яровий Г.І., Черненко В.Л., Черненко О.В. Критичні для розвитку перцю солодкого фази вегетаційного періоду у Лісостеповій зоні України. *Овочівництво і багаторічництво*. 2017. Вип. 63. С. 381–387.

⁷ Ranjit S., Deblais L., Poelstra J.W., Bhandari M., Rotondo F., Scaria J., Miller S.A., Rajashekara, G. *In vitro*, *in planta*, and comparative genomic analyses of *Pseudomonas syringa* pv. *syringae* strains of pepper (*Capsicum annuum* var. *annuum*). *Microbiology spectrum*. 2024. Vol. 12. № 6. e0006424. DOI: <https://doi.org/10.1128/spectrum.00064-24>

⁸ Кондратенко С.І., Черненко К.М., Гарт О.Ю., Черненко О.В. Використання інфекційних фонів для оцінки перцю солодкого (*Capsicum annuum* L.) в культурах *in vitro* та *in vivo* за стійкістю до фузаріозного в'янення та комплексом інших ознак. *Овочівництво і багаторічництво*. 2015. Вип. 61. С. 115–123.

⁹ Tejaswini. An innovative technique for disease resistance breeding: gametophytic approach. *Elegant Science in Floriculture: XXVI International Horticultural Congress*. Toronto. 2003. DOI: <https://doi.org/10.17660/ActaHortic.2003.624.68>

¹⁰ Черненко К.М., Скляревська В.В., Черненко В.Л., Куракса Н.П. Патогенез перцю солодкого *Capsicum annuum* L. *Овочівництво і багаторічництво*. 2005. Т.50. С. 198–205.

(*F. oxysporum* f. sp. *capsici*) на рівні спорофітного, гаметофітного потомства та клітинної селекції *in vitro*, проведені в лабораторії прикладної генетики, генетичних ресурсів і біотехнології Інституту овочівництва і баштанництва НААН.

1. Проблемні питання створення стійких до фузаріозу вихідних форм перцю солодкого для потреб сортової і гетерозисної селекції

До сучасних сортів і гібридів перцю солодкого вітчизняної селекції, особливо призначеним для вирощування за органічними технологіями, пред'являються дуже високі вимоги. Найбільш актуальна селекція на скоростиглість, пристосованість до переробки, поліпшення біохімічного складу плодів, стійкості до біотичних та абіотичних факторів навколишнього середовища.

Вирощування перцю солодкого в екстремальних температурних умовах (понижені добові температури у весняний період вирощування розсади, підвищена температура повітря та ґрунту у літній період) та за дефіциту вологи сприяють значному зниженню врожайності рослин та масовому розвитку хвороб, особливо – фузаріозу (*Fusarium oxysporum*).

Дієвим шляхом створення вихідного матеріалу перцю солодкого з високими показниками стійкості до фузаріозу є клітинна селекція *in vitro*, методи якої полягають у доборі клітинних популяцій, стійких до селективного фактору добору в умовах *in vitro* з подальшою регенерацією з відібраних калюсних клонів рослин-регенерантів, дорошуванням їх до повноцінних рослин *in vivo*, з яких потім можна отримати насіння¹¹. За останні десять років у науковій літературі опублікована низка експериментальних робіт, в яких практично доведена ефективність використання при оцінках і доборі стійких форм сільськогосподарських рослин за різнобічних штучних (лабораторних) методів їх зараження. Об'єднуючим цих методів є те, що всі вони базуються на визначенні загальної та специфічної реакції дослідних зразків рослин на штучне інфікування фітопатогенами у контрольованих дослідником умовах¹².

Першочергово, основною перевагою при оцінках і доборі стійкого вихідного матеріалу в умовах штучного зараження є однорідність і

¹¹ Sargsyan G.J., Vardanian I.V., Harutunyan, Z.E. Usage of callus culture in selection of pepper and tomato. *Acta Horticulturae*. 2014. Vol. 1033. P. 77–84. DOI: <https://doi.org/10.17660/ActaHortic.2014.1033.10>.

¹² Kondratenko S.I., Lancaster Y.M. Section 7. Methodological aspects of assessing the response of courgette plants to artificial contamination of Zucchini yellow mosaic virus (ZYMV). *Achievements of Ukraine and the EU in ecology, biology, chemistry, geography and agricultural sciences: Collective monograph*. Riga, Latvia: "Baltija Publishing", 2021. Vol. 2. P. 115–134. DOI: <https://doi.org/10.30525/978-9934-26-086-5-20>

висока патогенність інфекційного матеріалу, контрольована у дозі і часі точність інфекційного навантаження на рослину, відсутність впливу на аналіз нерегульованих умов навколишнього середовища, скорочення затрат праці на висаджування сприйнятливих до фітопатогенів форм, скорочення часу на проведення оцінки рослин-регенерантів¹³.

На теперішній час оцінку стійкості перцю солодкого до фузаріозного в'янення проводять методами штучного зараження інокулюмом (15-денна жива культура гриба фузаріума) патогена сіянців, окремих пагонів або дорослих рослин, які вирощуються на інфекційному фоні. Ступінь ураження рослин хворобою вираховують через 30 і 60 діб, використовуючи 9-бальну шкалу¹⁴. Недоліками цього методу є обмежений в часі вплив ФКР на рослину, ризик втрати цінних генотипів з огляду на малочисельність вибірки та цінність селекційного матеріалу.

Крім того, оцінку рівня стійкості перцю солодкого до фузаріозного в'янення можна визначати і в лабораторних умовах за ростом пилкових трубок на селективному середовищі. Відомий спосіб, коли на пилки діють токсичним агентом – фузарієвою кислотою шляхом додавання її до поживного середовища, а оцінку стійкості мікрогаметофітів (пилкових зерен) проводять протягом 24 годин за абсолютним показником зменшення росту (мкм) довжини пилкових трубок нестійких генотипів шляхом порівняння їх із ростом у контрольному варіанті (оптимальне середовище)¹⁵. Недоліком цього способу є те, що він дозволяє проводити оцінку стійкості тільки на рівні мікрогаметофітів (констатувати сам факт наявності/відсутності стійкості), потрібно враховувати термін придатності об'єкту для проведення аналізу (термін життєздатності пилку, рівень фертильності), потребує спеціального обладнання (холодильник, мікроскоп, біокуляр), високої кваліфікації виконавця при зборі, транспортуванні та нетривалого у часі терміну зберіганні пилку та аналізі.

Загалом, дослідження з гаметної селекції перцю солодкого не є численними. Викладені в наукових публікаціях методики не є ефективними в роботі з українськими сортами і гібридами, оскільки раніше були розроблені для генотипів з іншими генетичними

¹³ Gurung S., Short D.P.G., Hu X., Sandoya G.V., Hayes R.J., Subbarao K.V. Screening of wild and cultivated *Capsicum* germplasm reveals new sources of *Vorticillium* Wilt resistance. *Plant Disease*. 2015 Vol. 99. № 10. P. 1404–1409. DOI: <https://doi.org/10.1094/pdis-01-15-0113-re>

¹⁴ Кириченко В.В, Петренкова В.П. Основи селекції польових культур на стійкість до шкідливих організмів. Харків: Ін-т рослинництва ім. В.Я. Юр'єва. 2012. 320 с..

¹⁵ Purnachandra G.G., Dhananjaya M.V., Devappa V., Fakrudin B., Ashwath C., Sriram S., Kumar R. Prospecting male gametophytic selection for *Fusarium* wilt resistance in carnation (*Dianthus caryophyllus* L.). *Green Farming*. 2018. Vol. 9. No. 5. P. 792–799.

параметрами¹⁶. Тому розробка методів гаметної селекції для прискореного отримання вихідного матеріалу цієї культури, стійкого проти абіотичних чинників має важливе як теоретичне, так і практичне значення.

Враховуючи вищевказану проблематику, в Інституті овочівництва і баштанництва НААН було проведено комплекс робіт методичного спрямування, в ході яких вирішувалися наступні питання:

- за напрямом гаметної селекції на стійкість до фузаріозу визначити порогові концентрації токсину гриба, які впливають на життєздатність пилку перцю солодкого, а саме провести аналіз прояву експресії генів стійкості до очищеного токсину збудника фузаріозного в'янення на рівні гаметофіту у досліджених генотипів перцю солодкого;

- визначити стійкість до фузаріозу на рівні клітинної селекції *in vitro*;

- удосконалити методику оцінки на стійкість до фузаріозу на рівні спорофіту на основі комплексного аналізу кореляційних зв'язків у селекційно-цінних генотипів перцю солодкого між ознаками, що визначають стійкість до фузаріозу на рівні гаметофіту і клітинної селекції *in vitro*.

У дослідженнях було задіяно 10 ліній перцю солодкого, зареєстрованих у Національному банку генетичних ресурсів рослин України. За стандарт порівняння був обраний районований вітчизняний сорт перцю солодкого Піонер, який включено до списку зразків-диференціаторів за стійкістю до фузаріозного в'янення (табл. 1). Оцінку фузаріозостійкості зразків проводили у фазу цвітіння (гаметофітне покоління) та біологічної стиглості плодів (спорофітне покоління).

Лінії вирощувалися в умовах штучного провокаційного фону у плівковій теплиці. Оцінку ліній за комплексом кількісних ознак було проведено згідно методичних рекомендацій¹⁷. Ступінь ураження рослин хворобою вираховували через 60 діб, використовуючи 9-бальну шкалу РЕВ¹⁸ (табл. 1).

¹⁶ Gajanayake B., Trader B.W., Reddy K.R., Harkess R.L. Screening ornamental pepper cultivars for temperature tolerance using pollen and physiological parameters. *Hort Science horts*. 2011. Vol. 46. Iss. 6. P. 878–884. DOI: <https://doi.org/10.21273/HORTSCI.46.6.878>

¹⁷ Методика проведення експертизи сортів рослин групи овочевих, картоплі та грибів на відмінність, однорідність і стабільність. Вінниця: ФОП Корзун Д.Ю., 2016. С. 536–558.

¹⁸ Методика проведення фітопатологічних досліджень за штучного зараження рослин. Затверджено Наказом Міністерства аграрної політики та продовольства України 12 грудня 2016 року № 540. 76 с. URL: <https://sops.gov.ua/uploads/page/5a5f418eb746e.pdf>

Таблиця 1

**Вітчизняні зразки-диференціатори перцю солодкого
за стійкістю до фузаріозного в'янення**

Тип імунологічної реакції	Стійкість за шкалою РЕВ, бал	Фузаріозне в'янення	
		№ кат. НЦГРРУ	назва зразка
Висока стійкість (<i>Highly resistant</i> , HR)	9 (0,0%)	-	-
Стійкість або практична стійкість (<i>Resistant</i> , R)	7 (0,1–10%)	UL0500371	ЮБ-1
		UL0500648	Лада
		UL0500376	Родзинка 384
		UL0500611	Родзинка 359
Середня стійкість або слабка сприйнятливність (<i>Moderately resistant</i> , MR)	5 (0,1–35,0%)	UL0500342	Світлячок
Сприйнятливність (<i>Susceptible</i> , S)	3 (35,1–50%)	UL0500138	Мереф'янський
		UL0500010	Надія
		UL0500001	Піонер
Висока сприйнятливність (<i>Highly susceptible</i> , HS)	1 (> 50%)	UL0500557	Лютик
		UL0500364	Снігур

**2. Методичні аспекти комплексної оцінки стійкості
до фузаріозного в'янення селекційно-цінних форм перцю
на рівні клітинної селекції *in vitro* та спорофітного і гаметофітного
потомства**

Прискорене створення стійкого проти фузаріозного в'янення вихідного селекційного матеріалу перцю солодкого можливе за рахунок застосування багаторазового добору в умовах *in vivo* та *in vitro* та збільшення його ефективності за рахунок збереження і розмноження виділеного матеріалу біотехнологічними методами.

Для організації та виконання дослідів з клітинної селекції *in vitro* перцю солодкого дотримувалися наступних етапів загальної методики культивування клітин і тканин овочевих видів рослин *in vitro*, а саме:

- формування робочої колекції генотипів перцю солодкого для введення в культуру *in vitro* для вирощування в асептичних умовах на штучно створених поживних середовищах у ретельно контрольованих умовах освітлення і терморегуляції;

- введення в культуру *in vitro* досліджуваних генотипів перцю солодкого шляхом поверхневої стерилізації насіння в асептичних умовах і їх висадку на агаризовані поживні середовища для пророщування в умовах термостату за відсутністю світла при температурі +25 °С;

- проведення біотехнологічних маніпуляцій з вихідним експлантом тканин (для одержання калюсних клітин – початкове ізолювання відібраних для вивчення видів тканин від інших частин донорної рослини, їх розрізання на частинки розміром 5–7 мм та висаджування на агаризовані поживні середовища для індукції росту калюсу на ділянках надрізу);

- розміщення ізолюваних рослинних об’єктів у контрольованих, ретельно підібраних умовах освітлення з фотоперіодом 16 годин і дотриманням температури культуральної кімнати +25 °С;

- збереження стерильності рослинного матеріалу протягом періоду, що вирощується, при строгому дотриманні умов трофічної і гормональної регуляції ростових процесів;

- залежно від мети досліджень проведення робіт з адаптації, сформованих *de novo* рослин-регенерантів перцю солодкого або до умов їх подальшого вирощування у культурі *in vitro*, або до умов їх росту у нестерильних, природних умовах.

Діагностику ступеню стійкості селекційно-цінних генотипів перцю солодкого з застосуванням елементів клітинної селекції *in vitro* здійснювали за наступною схемою:

- первинна оцінка рівня стійкості генотипів перцю солодкого проводилася на 30 денній розсаді;

- для введення в стерильну культуру добиралися генотипи з різним рівнем толерантності до фузаріозного в’янення, в тому числі в якості контролю зразки з визначеною за результатами польової оцінки стійкості і сприйнятливості;

- для ініціалізації проростання простерилізовані насінини відібраних генотипів розміщували на твердому безгормональному поживному середовищі за прописом МС (культивування проводили за освітлення 2000 лк та за температури + 25 °С);

- клітинну селекцію здійснювали за одноступінчастою схемою, шляхом культивування експлантів соматичних або меристематичних тканин на індукційному поживному середовищі МС з ФКР, отриманого шляхом культивування високо вірулентних штамів гриба *F. solani* Sacc (контролем слугувало базове поживне середовище без додавання ФКР);

- аналіз впливу ФКР на розвиток експлантів перцю солодкого та диференціацію зразків в культурі *in vitro* за стійкістю до селективного фактору проводили через чотири тижня культивування.

Визначення видового складу збудників хвороб в’янення перцю солодкого проводили на гербарних зразках, зібраних в полі та у плівкових теплицях Інституту овочівництва і баштанництва НААН.

Для цієї мети проводили поверхневу стерилізацію шматочків стебел перцю солодкого, які мали симптоми ураження хворобами в’янення

(потемніння судин) у три етапи. Спочатку стебла добре промивали дистильованою водою та занурювали у розчин гіпохлориду натрію з концентрацією 1:2 на 15 хв., потім їх промивали 5 разів проавтоклаваною водою.

Виділення в чисту культуру найбільш розповсюджених збудників хвороб в'янання пасльонових рослин проводили за методикою культивування грибів¹⁹. В стерильних чашках Петрі на фільтрувальному папері розміщували простерилізований гербарний матеріал, який інкубували за температури +20 °С на розсіяному світлі. Отриманий через 48 годин на межі ураженої та здорової частини тканини пухнастий, павутиноподібний світлий міцелій використовували для отримання чистої культури пересаджуючи його у чашки Петрі з твердим агаризованим картопляно-декстрозним та “голодним” агаром (рН середовища 4–4,5). Матеріал розміщували у термостаті за температури +26 °С. За допомогою мікроскопу здійснювали визначення патогенів за розміром макроконідій. Для додаткового виділення грибів в чисту культуру проводили 3 пересадки через кожні дві доби, після чого чисті культури грибів розмножували 15 діб на аналогічних середовищах. З метою зберігання чистої культури грибів, міцелій пересаджували у пробірки з твердим картопляно-декстрозним середовищем та зберігали у холодильній камері за температури + 4 °С.

Через два тижні культивування білий ватоподібний міцелій патогенів за допомогою шпателя та 5 мг автоклаваної води змивали з поверхні середовища для відокремлення макроконідій. Отриману суспензію в стерильних умовах фільтрували через фільтрувальний папір. Культуральну рідину (КР) грибів *F. oxysporum f. sp. lycopersici*, *F. oxysporum f. sp. vasinfectum*, *F. solani*, *F. culmorum* змішували у пропорції 2:1:1:1. В подальшому її використовували для підрахунку спор під мікроскопом у камері Горяєва. Визначивши необхідну концентрацію конідій ($2 \cdot 10^7$ /мл), суспензію додавали у колби об'ємом 250 мл з 200 мл рідких середовищ, приготованих за прописом Чапека та культивували 21 добу у термостаті за температури +26 °С. Як контроль використовують колби зі стерильною водою.

Отриману чисту КР для подальшого застосування у клітинній селекції відокремлювали від міцелію шляхом центрифугуванням (800 об/хв. впродовж 20 хв.). Очищували послідовним пропусканням через паперові фільтри (розмір пор до 1,2 мкм).

Токсичний вплив ФКР вивчали на розсаді рослин перцю солодкого, яка мала 2 пари справжніх листків. У досліді використовували різні за ступенем стійкості до хвороби сорти перцю солодкого. В експериментах

¹⁹ Plant pathology: Techniques and protocols / Ed. by Burns R. Edinburg: Humana press, 2009. 321 p. DOI: <http://dx.doi.org/10.1007/978-1-59745-062-1>.

були задіяні сорти-диференціатори перцю солодкого за ступенем стійкості до хвороб в'янення наведені в таблиці 1.

Повторність досліду чотириразова, у кожній повторності – по 50 шт. рослин. Розсаду виривали із ґрунту разом із корінням, яке відмивали проточною водою. Рослини занурювали разом із корінням у розчини ФКР обох варіантів середовищ у концентраціях 25, 50 та 100%. У якості контролю використовувалася дистильована вода, поживне середовище Чапека. Розсаду витримували при температурі +20–22 °С та денному освітленні протягом 48 годин. Через кожні 3 години відмічали ступінь в'янення рослин.

Для проведення досліджень з клітинної селекції *in vitro* використовували тканини експлантів гіпокотилів та сім'ядолей ювенільних етіологованих пробіркових рослиннок від кожного з досліджених генотипів перцю солодкого. Калюсну культуру *in vitro* одержували шляхом відокремлення та розрізання на сегменти довжиною 5–7 мм кожного з видів тканини, які висаджували на модифікований варіант індукційного поживного середовища МС, до складу якого додавали 100 мг/л гідролізату казеїну, 2 мг/л НОК і 2 мг/л БАП²⁰.

Дослідні варіанти поживного середовища МС містили 30% і 50% ФКР від об'єму індукційного поживного середовища МС. Контроль – поживне середовище без додавання ФКР. На один варіант досліду закладали 50 експлантів певного виду тканин кожного з генотипів перцю солодкого. Оцінку росту калюсу проводили після 4 тижнів після культивування. Культивування вищезазначених експлантів тканин проводили в умовах 16-годинного фотоперіоду на розсіяному світлі з низькою інтенсивністю (500 люкс) і при постійній температурі повітря +25 °С.

Вплив різних концентрацій ФКР на ріст і розвиток калюсів оцінювали двома способами. Перший спосіб за візуальними симптомами за наступною оригінальною шкалою:

- бал 0 – високо стійкий, розвиток тканин не відрізняється від культивування на контрольному варіанті;
- бал 1 – стійкий, до 25% хлорозних тканин, наростання калюсів інтенсивне;
- бал 2 – середньо стійкий, до 50% хлорозних тканин, наростання калюсів середнє;
- бал 3 – сприйнятливий, до 75% хлорозних тканин, наростання калюсів уповільнене;

²⁰ Murashige T., Skoog F. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue culture. *Physiologia Plantarum*. 1962. № 15. P. 473–497. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1399-3054.1962.tb08052.x>

– бал 4 – високо сприйнятливий, більше 75% хлорозних тканин, відсутнє наростання калюсів.

Другий спосіб за рахунок підрахунку об'єму нарощеного калюсу на висаджених експлантат індукційного середовища після 4 тижнів культивування. Розрахунок об'єму нарощеного калюсу проводили за формулою еліпса:

$$4/3 * \pi * (a*a)*b \text{ (1),}$$

де а – довжина калюсу, см, b – висота калюсу, см, які сформувалися на певному зрізі тканини експланту.

Обчислення результатів експерименту проводили методами варіаційної статистики²¹.

Незважаючи на те, що добір гамет, стійких до екстремального фактору, може забезпечити появу спорофітного покоління за аналогічною стійкістю, немає повної впевненості в тому, що експресія ряду ознак у гаметофіті аналогічна спорофіту. Крім того, було показано, що умови вирощування рослин можуть помітно впливати на чутливість пилку до досліджуваного фактору²². Виявлення експресії спорофіту за гаметофітом ускладнено ще й через те, що значна частина матричної РНК пилку запасена в інфрасомах, що накопичуються в період мікроспорогенеза²³. Тому за кожною конкретною ознакою необхідно попереднє тестування на предмет:

- 1) стандартизації випробування;
- 2) експресії досліджуваних генів на фазі гаметофіту;
- 3) критеріїв добору за пилком.

У зв'язку з цим пилкова селекція на стійкість до грибкових збудників буде успішною за умови:

- наявності очищеного специфічного токсину збудника захворювання;
- еквівалентності стійкості до живого збудника його специфічному очищеному токсину;
- доказі експресії генів стійкості до збудника на рівні гаметофіту;
- виявлення критеріїв оцінки стійкості гаметофіту до чинника патогенності.

²¹ Васильковський О.М., Лещенко С.М., Васильковська К.В., Петренко Д.І. Підручник дослідника. Навчальний посібник для студентів агротехнічних спеціальностей. Кіровоград: КНТУ, 2016. 204 с.

²² Lyakh, V., Soroka, A. & Mishchenko, L. Flowering time in oil flax can be influenced by microgametophytic selection. *Euphytica*. 2001. Vol. 118. P. 237–242. DOI: <https://doi.org/10.1023/A:1017516532724>.

²³ Lobaton J., Andrew R., Duitama J., Kirkland L., Macfadyen S., Rader R. Using RNA-seq to characterize pollen–stigma interactions for pollination studies. *Scientific Reports*. 2021. Vol. 11. 6635. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41598-021-85887-y>

Отримані численні позитивні результати по використанню чоловічого гаметофіту в селекції на імунітет для багатьох видів сільськогосподарських видів рослин²⁴. У цих дослідженнях було встановлено, що пилок стійких генотипів *in vitro* зберігає життєздатність при концентрації токсину в 3–4 рази вище, ніж пилок сприйнятливих, що свідчить про експресію генів стійкості на рівні гаметофіту і можливості аналогічного скринінгу генофонду перцю солодкого за ознакою стійкості до токсинів збудника на рівні пилку^{25,26,27}.

У програмі досліджень з гаметної селекції було передбачено проведення досліджень з вивчення впливу токсину грибка на життєздатність пилку контрастних по стійкості зразків перцю солодкого. Мета досліду – виявити експресію генів стійкості до очищеного токсину збудника в'янення на рівні гаметофіту на селекційно-цінних генотипах перцю солодкого.

На першому етапі виконання досліду було проведено скринінг поживних середовищ для пророщування пилку селекційно-цінних генотипів перцю солодкого в лабораторних умовах. Всього було випробувано 6 варіантів поживних середовищ. За контроль було прийнято рідке поживне середовище, яке містило макро- і мікроелементи середовища МС з додаванням сахарози (контрольний варіант). Перелік рідких поживних середовищ, які використовувалися в роботі наведено в табл. 2.

Як об'єкти досліджень використовувалися 11 генотипів перцю солодкого, які вирощувалися на штучному провокаційному фоні (табл. 1).

²⁴ Beaudry F.E.G., Rifkin J.L., Barrett S.C.H., Wright S.I. Evolutionary genomics of plant gametophytic selection. *Plant Communications*, 2020. Vol. 1, Iss. 6. P. 1–16.

²⁵ Pontaroli A.C., Camadro, E.L. Increasing resistance to *Fusarium* crown and root rot in asparagus by gametophyte selection. *Euphytica*. 2001. Vol. 122. P. 343–350. DOI: <https://doi.org/10.1023/A:1012983123410>

²⁶ Purnachandra G. G., Dhananjaya M. V., Devappa V., Fakrudin B., Ashwath C., Sriram S., Kumar R. Prospecting male gametophytic selection for fusarium wilt resistance in carnation (*Dianthus caryophyllus* L.). *Green Farming*. 2018. Vol. 9. №. 5. P. 792–799.

²⁷ D. Lal, D. Dev, S. Kumari, S. Pandey, Aparna T., Sharma N., Nandni S., Jha R.K., Singh A. *Fusarium* wilt pandemic: current understanding and molecular perspectives. *Functional & Integrative Genomics*. 2024. Vol. 24. 41. DOI: <https://doi.org/10.1007/s10142-024-01319-w>

Таблиця 2

**Поживні рідкі середовища для пророщування пилку перцю
солодкого, які випробувалися у дослідженнях**

№ вар.	Компоненти:		Концентрація на 100 мл дистильованої води
1.	контрольний варіант	1) розчин макроелементів МС* 2) розчин мікроелементів МС 3) сахароза	15,0 мл 0,10 мл 15,0 г
2.	дослідні варіанти	Вар. 1 з додаванням: НОК	0,01 мг
3.		Вар. 1 з додаванням: НОК	0,1 мг
4.		Вар. 1 з додаванням: ГК ₃	0,01 мг
5.		Вар. 1 з додаванням: ГК ₃ , НОК	0,01 мг 0,1 мг
6.		Вар. 1 з додаванням: ГК ₃ , НОК	0,01 мг 0,01 мг

Примітка. * – Для приготування поживного середовища використовували 20-кратний розчин макроелементів і 100-кратний розчин мікроелементів середовища МС.

В результаті проведеної експериментальної роботи з 6 досліджених варіантів середовищ відібране одне найкраще (вар. 6 таблиці 2), яке забезпечувало проростання пилку у 11 відібраних генотипів перцю солодкого на рівні 68,7–78,5%.

Для визначення експресії генів стійкості перцю солодкого до очищеного токсину збудника фузаріозного в'янення на рівні гаметофіту дотримувалися наступного порядку проведення робіт.

1. Готували рідкі поживні середовища для пророщування пилку.

2. Збирали пилки генотипів перцю солодкого з різним ступенем сприйнятливості до досліджуваного біотичного стресового фактору виросування.

3. Пилки розміщували на предметне скло у краплю випробуваного поживного середовища.

4. Предметне скло з пилком розміщували у чашках Петрі у вологій камері. Пилки пророщували на світлі протягом 2 годин при температурі +25 °С.

5. Після закінчення пророщування додавали кілька крапель фіксатора (оцтовий спирт).

6. Підраховували кількість пророслих пилкових зерен у досліді та визначали відсоток проростання для кожної з повторень.

7. Для визначення середнього значення проростання в середовищі визначали до 100 пилкових зерен у полі зору мікроскопа у 5-ти кратній повторності. Пророслим вважали пилки, довжина паросткової трубки, якого перевищувала діаметр пилкового зерна.

8. Отримані результати оформляли за формою, наведеною в таблиці 3.

Таблиця 3

Групування первинних даних з оцінки реакції пилку на присутність ФКР

Генотип	Варіант середовища	Спостереження за ростом пилкових зерен на рідкому поживному середовищі							
		частотний розподіл пророслого пилку за довжиною пилкових трубок, відносно діаметру пилкових зерен, D							відсоток пророслого пилку, %
		0<D<1D	1D<D<2D	2D<D<3D	3D<D<4D	4D<D<5D	5D<D<6D	6D<D<7D	
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10

В досліді використовували два варіанти рідких поживних середовищ: контрольне і дослідне. У дослідний варіант додавали 50% ФКР патогенних грибів роду *Fusarium*, контрольний варіант – рідке середовище без додавання ФКР.

3. Результати комплексної оцінки до фузаріозного в'янення селекційно-цінних форм перцю солодкого

У кожного виду рослин в онтогенезі відмічені критичні фази, для яких характерна підвищена чутливість до збудника²⁸. Для культури перцю солодкого однією з таких фаз є період формування гаметофіту. Критерієм добору генотипів, стійких до фузаріозу є не тільки кількість фертильного пилку, але й його життєздатність, яка визначається за відсотком пророслого пилку на поживному середовищі у присутності ФКР. Іншим критерієм добору, стійких до фузаріозу форм перцю солодкого є використання методу клітинної селекції *in vitro*, який передбачає вивчення у стерильній культурі реакції соматичних та меристематичних клітин на присутність ФКР збудника хвороби у складі поживного середовища.

Як свідчать усереднені дворічні дані, пилкок усіх зразків перцю солодкого витримував патогенне навантаження культурального фільтрату, зберігаючи свою життєздатність на рівні 62,69–96,83% (табл. 4). При цьому слід відзначати навпаки не пригнічуючий, а стимулюючий вплив ФКР на проростання пилкових трубок. Цей експериментальний факт можна пояснити тим, що у складі культурального фільтрату, виділеного з міцелію фітопатогенного грибка є присутніми не тільки токсичні речовини, а й регулятори росту, які діють позитивно на збільшення частки пророслого пилку по відношенню

²⁸ Приседський Ю. Г. Стійкість рослин (підручник для студентів спеціальності “Біологія” вищих навчальних закладів). Вінниця: ТОВ “Нілан-ЛТД”, 2017. 252 с.

до контрольного варіанту досліду. Майже всі проаналізовані лінії перцю солодкого на рівні гаметофіту виявили однотипну реакцію на дію ФКР, лише за винятком зразку UL0500386, у якого процент фертильного пилку у дослідному і контрольному варіанті практично співпадають (82,14% проти 83,87%). Для 9 інших ліній перцю солодкого процент фертильності пилку у контрольному варіанті досліду коливався в межах 14,38–83,55%, що було менше, ніж у дослідному варіанті у 1,06–4,36 рази. Найбільшу різницю між процентом проростання пилку зафіксовано у зразку UL0500375, найменшу – у зразку UL0500386. У сорту Піонер у контрольному варіанті фертильність пилку складала 16,49%, а за наявності ФКР у рідкому середовищі для пророщування – 74,51%.

Таблиця 4

Вплив ФКР збудника фузаріозу у складі поживного середовища для пророщування пилку на життєздатність чоловічого гаметофіту перцю солодкого, середнє за 2018–2020 рр.

№ з/п	Назва зразка	Життєздатність пилку, %					
		без ФКР (контроль)			50% ФКР		
		2018 р.	2020 р.	X_{med}	2018 р.	2020 р.	X_{med}
1.	UL0500001 (сорт Піонер, st)	16,21	16,72	16,49	74,55	74,37	74,51
2.	UL0500388	48,13	48,69	48,41	89,24	90,34	89,74
3.	UL0500375	14,63	14,19	14,38	62,47	62,95	62,69
4.	UL0500648	29,62	30,22	29,89	92,87	92,53	92,68
5.	UL0500374	68,61	69,43	69,07	95,92	97,72	96,83
6.	UL0500389	79,14	80,04	79,63	84,09	84,54	84,31
7.	UL0500391	22,82	24,39	23,60	95,96	97,31	96,67
8.	UL0500373	45,23	49,24	47,21	93,0	94,10	93,51
9	UL0500387	53,13	53,64	53,41	78,38	79,10	78,77
10.	UL0500371	79,36	79,94	79,64	85,35	86,51	85,90
11.	UL0500386	83,55	84,22	83,87	81,63	82,74	82,14
	X_{min}	14,63	14,19	14,38	62,47	62,95	62,69
	X_{max}	83,55	84,22	83,87	95,96	97,72	96,83
	$A_m = X_{max} - X_{min}$	68,92	70,03	69,49	33,49	34,77	34,14
	$HP_{0,05}$	4,43	4,84	2,24	3,96	3,94	2,98

Для більш детального вивчення реакції генотипів перцю солодкого на ФКР патогенного грибку був закладений додатковий дослід в культурі тканин *in vitro* з клітинної селекції, де об'єктом досліджень були калюсні клітини, одержані від вирощуваних у стерильних умовах експлантів сім'ядолей і гіпокотилів, відібраних генотипів перцю солодкого. Для одержання калюсної культури, як індукційне використовувалося агаризоване поживне середовище МС, до складу якого додавали 100 мг/л гідролізату казеїну, 2 мг/л НОК + 2 мг/л БАП.

Для одержання калусної культури у стерильних умовах на безгормональному поживному середовищі МС проводилося попереднє пророщування розсади перцю солодкого в умовах темряви протягом тижня. Після цього в умовах ламінарного боксу проводилося живцювання етіюльованих пробіркових рослин перцю солодкого і висадка експлантів тканин на індукційне поживне середовище. Всього у досліді вивчалось 2 виду експлантів тканин, одержаних від сім'ядолей і гіпокотилів. Вивчення впливу ФКР гриба на індукцію калусогенезу проводилося за умов його присутності у складі поживного середовища у діючих концентраціях 30% і 50% (контроль – поживне середовище без вмісту ФКР). Після одного місяця культивування проводився підрахунок об'єму нарощених калусів, який утворювався на поверхні двох видів експлантів тканин, залучених до досліді. Для одного варіанту досліді використовувалося 20 експлантів певного виду тканин.

Дослідження з реакції калусних клітин ліній перцю солодкого, похідних від експлантів гіпокотилів та сім'ядолей на присутність ФКР збудника фузаріозу у концентрації 30% і 50% у поживному середовищі узагальнені у таблиці 5. За рівнем життєздатності калусні культури усіх відібраних ліній перцю солодкого мали чітку тенденцію до зменшення її рівня залежно від концентрації ФКР у поживному середовищі. Але, що стосується об'єму нарощеного калусу, що вижив, то у даному випадку існувала певна залежність ініціації росту калусних клітин як від виду первинного експланту, так і концентрації ФКР у складі поживного середовища.

Як засвідчили результати експериментів, об'єм нарощування калусних клітин напряму залежав від таких чинників як рівень стійкості конкретного генотипу перцю солодкого, походження первинних експлантів, введених в культуру *in vitro*, концентрації ФКР у складі поживного середовища.

З'ясовано, що у культурі *in vitro* найбільше пригнічення росту калусу зафіксоване при застосуванні у складі поживного середовища 30% ФКР. Це дозволило використовувати саме цю концентрацію для розробки методу добору цінних вихідних селекційних форм перцю солодкого у культурі *in vitro*. Насамперед, саме у культурі експлантів гіпокотилів варіант досліді з додавання 30% ФКР у поживне середовище довів, що вони мають найбільш контрастну (селективну) реакцію калусних клітин досліджуваних генотипів перцю солодкого за стійкістю до фузаріозного в'янення. На противагу, застосування 50% розчину ФКР у поживному середовищі супроводжувалося активним збільшенням інтенсивності нарощування калусу по відношенню до контролю.

За інтенсивністю росту калусних клітин різного тканинного походження лінії UL0500373 і UL0500386 за роками досліджень

стабільно перевищували контрольний варіант. Тобто, особливістю даних ліній була специфічна реакція калюсних клітин в культурі *in vitro* на присутність ФКР у поживному середовищі, яка позначалася у зростанні об'єму нарощеного калюсу пропорційно із зростанням у поживному середовищі концентрації ФКР.

Певні лінійні генотипи виявили другий тип реакції на наявність у поживному середовищі ФКР. Зокрема, калюсні клітини, отримані від сорту Піонер (UL0500001) та ліній UL0500388 і UL0500391, мали максимальний рівень пригнічення розвитку із зростанням концентрації ФКР.

Таблиця 5

Вплив різних концентрацій ФКР на процес калюсогенезу перцю солодкого у культурі *in vitro*, середнє за 2018–2020 рр.

№ з/п	Ліній перцю солодкого, згідно каталогу НЦГРРУ	Середній об'єм калюсу, см ³ (контроль)		Середній об'єм калюсу, см ³ , (30% ФКР), (± до контролю,%)		Середній об'єм калюсу, см ³ , (50% ФКР), (± до контролю,%)	
		сім'ядол і	гіпокотилі	сім'ядол і	гіпокотилі	сім'ядол і	гіпокотилі
1.	UL0500001, (сорт Піонер, st)	6,3	4,4	4,1 (-34)	4,0 (-10)	3,3 (-48)	5,3 (+20)
2.	UL0500388	7,1	4,7	5,4 (-24)	5,2 (+11)	4,0 (-44)	6,4 (+35)
3.	UL0500375	13,4	3,6	11,4 (-15)	5,8 (+59)	25,5 (+90)	9,4 (+157)
4.	UL0500648	6,2	7,0	4,0 (-35)	1,3 (-82)	13,8 (+123)	6,3 (-10)
5.	UL0500374	5,6	10,2	3,5 (-37)	5,5 (-47)	10,4 (+86)	4,8 (-53)
6.	UL0500389	11,3	12,3	10,3 (-9)	4,6 (-62)	28,8 (+154)	7,9 (-36)
7.	UL0500391	8,1	6,8	6,7 (-17)	10,0 (+48)	7,1 (-12)	8,6 (+28)
8.	UL0500373	4,1	4,3	9,0 (+119)	9,4 (+116)	10,5 (+156)	12,4 (+188)
9	UL0500387	6,7	9,1	4,5 (-33)	4,9 (-45)	8,2 (+21)	16,6 (+83)
10.	UL0500371	7,0	5,1	7,4 (+6)	0,6 (-88)	14,6 (+108)	14,7 (+192)
11.	UL0500386	3,9	5,5	13,5 (+249)	15,5 (+184)	22,9 (+493)	18,1 (+233)
X_{min}		3,90	3,60	3,50	0,60	3,30	4,80
X_{max}		13,40	12,30	13,50	15,50	28,80	18,10
$A_m = X_{max} - X_{min}$		9,50	8,70	10,0	14,90	25,50	13,30
HIP _{0,05}		0,3	0,2	0,3	0,2	0,2	0,4

Одночасно, у ліній UL0500648, UL0500374, UL0500389, UL0500387, UL0500371 та сорту Піонер (UL0500001) зафіксоване стабільне пригнічення росту калюсної маси відносно контролю. У певних ліній

інтенсивність росту калусної маси перевищувало значення контрольного варіанту.

У варіанті досліду з додаванням до поживного середовища 50% ФКР у більшості досліджуваних генотипів, а саме ліній UL0500388, UL0500375, UL0500391, UL0500373, UL0500387, UL0500371, UL0500386 і сорту Піонер (UL0500001) інтенсивність нарощування калусних культур за рівнем прояву ознаки “Середній об’єм калусу” достовірно збільшувалась. Приклади таких калусних культур *in vitro* наведено на рис. 1. Лише дві лінії (UL0500648 та UL0500389) при цій концентрації ФКР зменшили інтенсивність наростання калусної маси. Тільки одна лінія (UL0500374), навіть при різних концентраціях ФКР у поживному середовищі, показала стабільне пригнічення росту калусу, отриманого від тканин гіпокотилів.

Одночасно в умовах стаціонарного провокаційного фону (багаторічна беззмінна монокультура пасльонових) у плівковій теплиці у продовж 2018–2020 років визначений рівень реакції означеної ознакової робочої колекції генотипів перцю солодкого за показником ступеня їх ураження фузаріозним в’янення згідно модифікованої бальної шкали оцінки. Узагальнення даних дозволило констатувати факт того, що статистично достовірно (на рівні $p \geq 0,05$) досліджувана вибірка за цією ознакою розподілилась наступним чином: зразки UL0500371, UL0500387, UL0500373, UL0500648 були стабільними у балі 7 шкали РЕВ (до 10,1% уражених рослин), зразки UL0500388, UL0500386, UL0500374, UL0500389, UL0500391 були стабільними у балі 5 (до 35,1% уражених рослин), зразки UL0500375 та сорт-стандарт Піонер (UL0500001) були стабільними у балах 3 і 1 (понад 35,1% уражених рослин).



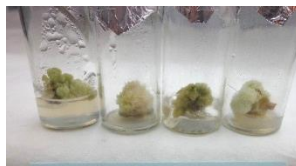
1



2



3



4

Рис. 1. Культура експлантів гіпокотилів *in vitro* ліній перцю солодкого, які зреагували інтенсивним ростом калюсних клітин на присутність 50% ФКР до складу поживного середовища:

- 1 – лінія UL0500371 (контрольний варіант);**
- 2 – лінія UL0500371 (50% ФКР у складі поживного середовища);**
- 3 – лінія UL0500373 (контрольний варіант);**
- 4 – лінія UL0500373 (50% ФКР у складі поживного середовища)**

Крім того, у досліджуваних ліній був оцінений цілий комплекс різних господарсько-цінних компонентів (фаза біологічної стиглості плодів). За усередненими даними 2018–2020 років за проявом ознаки “*Продуктивність однієї рослини*”, майже усі досліджені лінії поступалися нестійкому сорту-стандарту Піонер, окрім лінії UL0500391, яка була на рівні стандарту (788,6 г/роsl. проти 776,8 г/роsl. у сорту Піонер). У досліджених ліній перцю солодкого розмах варіювання кількісних ознак був наступним: “*Висота рослин*” – 53,6–71,9 см; “*Довжина листка*” – 5,2–11,0 см; “*Ширина листка*” – 4,2–5,5 см; “*Діаметр плоду*” – 4,2–9,3 см; “*Довжина плоду*” – 5,4–11,5 см; “*Товщина перикарпю*” – 3,7–6,2 мм; “*Маса плоду*” – 49,0–119,8 г; “*Кількість плодів на одній рослині*” – 5,4–9,6 шт.; “*Продуктивність однієї рослини*” – 217,3–788,6 г/роsl.

Сорт-стандарт Піонер виявився кращим за такими кількісними ознаками як “*Висота рослин*”, “*Довжина листка*”, “*Ширина листка*”, “*Кількість плодів на одній рослині*”, лінія UL0500388 була кращою за ознакою “*Довжина плоду*”, лінія UL0500375 – за ознакою “*Товщина перикарпю*”, лінія UL0500391 – за ознакою “*Маса плоду*”.

Вміст біологічно-цінних компонентів у плодах перцю солодкого наведено у таблиці 6. Отже, вміст вітаміну С у плодах коливався в межах 118,0-201,1 мг/100 г, у сорту-стандарту Піонер він становив 156,9 мг/100 г. Статистично достовірно перевищили цей показник лінії UL0500388 (201,1 мг/100 г), UL0500373 (197,5 мг/ 100 г), UL0500389 (180,3 мг/100 г) на 28,2%, 25,7% та 14,9% відповідно. Вміст сухої речовини у досліджених ліній коливався у межах 4,6-10,7%, сорту-стандарту Піонер (UL0500001) – 8,3%. Статистично достовірно на 22,5% перевищила цей показник лінія UL0500388 (10,7%). Вміст загального цукру у плодах досліджених зразків сягав рівня від 1,2% до 4,1%, для сорту-стандарту Піонер (UL0500001) – 4,7%. Лише лінії UL0500648 та UL0500371 стабільно мали відносно високий вміст цукру у плодах (на рівні 4,1%).

Таблиця 6

**Біохімічні показники плодів ліній перцю солодкого,
середнє за 2018–2020 рр.**

№ з/п	Назва зразка	Вміст у плодах:		
		сухої речовини, %	загального цукру, %	вітаміну С, мг/100 г
1.	UL0500001, (сорт Піонер, st)	8,3	4,7	156,9
2.	UL0500375	5,1	2,4	118,0
3.	UL0500648	9,2	4,1	171,0
4.	UL0500388	10,7	3,0	201,1
5.	UL0500374	7,1	3,0	161,3
6.	UL0500389	7,3	2,1	180,3
7.	UL0500391	4,6	2,4	166,2
8.	UL0500373	6,2	2,2	197,5
9.	UL0500387	6,3	1,2	172,2
10.	UL0500371	6,0	4,1	138,5
11.	UL0500386	5,0	3,4	173,3
$Lim = X_{min} \div X_{max}$		4,6 ÷ 10,7	1,2 ÷ 4,7	118 ÷ 201,1
HIP _{0,05}		0,9	0,5	15,9

Згідно, програми досліджень було заплановано проведення комплексного кореляційного аналізу між кількісними ознаками рослин як *in vitro*, так і *in vivo*, а саме, між ознаками, що визначають стійкість до фузаріозного в'янення та біометричними показниками рослин і плодів ліній перцю солодкого. Всього в обчисленнях була задіяна 21 кількісна ознака: 1) “Висота рослин”; 2) “Довжина листка” 3) “Ширина листка”; 4) “Діаметр плоду”; 5) “Довжина плоду”; 6) “Товщина перикарпію”; 7) “Маса плоду”; 8) “Кількість плодів на одній рослині”; 9) “Продуктивність однієї рослини”; 10) “Життєздатність пилку (контроль)”; 11) “Життєздатність пилку (50% ФКР)”; 12) “Об’єм нарощеного калюсу в культурі експлантів сім’ядолей *in vitro*, що

вирощувалися на середовищі МС + 30% ФКР”; 13) “Об’єм нарощеного калюсу в культурі експлантів сім’ядолей *in vitro*, що вирощувалися на середовищі 50% ФКР”; 14) “Об’єм нарощеного калюсу в культурі *in vitro* експлантів сім’ядолей, що вирощувалися на середовищі МС (контроль)””; 15) “Об’єм нарощеного калюсу в культурі експлантів гіпокотилів *in vitro*, що вирощувалися на середовищі МС + 30% ФКР”; 16) “Об’єм нарощеного калюсу в культурі експлантів гіпокотилів *in vitro*, що вирощувалися на середовищі МС + 50% ФКР”; 17) “Об’єм нарощеного калюсу в культурі експлантів гіпокотилів *in vitro*, що вирощувалися на середовищі МС (контроль)””; 18) “Вміст сухої речовини”; 19) “Вміст загального цукру”; 20) “Вміст вітаміну С”; 21) “Ступінь ураження фузаріозним в’яненням” (на рівні спорофітного потомства). Статистично достовірними (на рівні $p < 0,05$) виявилися 18 коефіцієнтів лінійної кореляції за наступними парами ознак:

1) “Висота рослин” і “Життєздатність пилку (контроль)” ($r_p = -0,76$);

2) “Довжина листка” і “Об’єм нарощеного калюсу в культурі експлантів сім’ядолей *in vitro*, що вирощувалися на середовищі МС+30% ФКР” ($r_p = -0,69$);

3) “Довжина листка” і “Об’єм нарощеного калюсу в культурі експлантів гіпокотилів *in vitro*, що вирощувалися на середовищі МС+30% ФКР” ($r_p = -0,56$);

4) “Довжина листка” і “Об’єм нарощеного калюсу в культурі експлантів гіпокотилів *in vitro*, що вирощувалися на середовищі МС+50% ФКР” ($r_p = -0,59$);

5) “Довжина плоду” і “Суха речовина” ($r_p = 0,61$);

6) “Товщина перикарпії” і “Ступінь ураження фузаріозним в’яненням” ($r_p = 0,71$);

7) “Маса плоду” і “Життєздатність пилку (50% ФКР)” ($r_p = 0,71$);

8) “Кількість плодів на рослині” і “Ступінь ураження фузаріозним в’яненням” ($r_p = 0,62$);

9) “Продуктивність однієї рослини” і “Життєздатність пилку (50% ФКР)” ($r_p = 0,74$);

10) “Життєздатність пилку (50% ФКР)” і “Об’єм нарощеного калюсу в культурі експлантів сім’ядолей *in vitro*, що вирощувалися на середовищі МС+30% ФКР” ($r_p = -0,54$);

11) “Життєздатність пилку (50% ФКР)” і “Об’єм нарощеного калюсу в культурі експлантів сім’ядолей *in vitro*, що вирощувалися на середовищі МС+50% ФКР” ($r_p = -0,56$);

12) “Життєздатність пилку (50% ФКР)” і “Об’єм нарощеного калюсу в культурі експлантів гіпокотилів *in vitro*, що вирощувалися на середовищі МС (контроль)” ($r_p = -0,63$);

13) “Життєздатність пилку (50% ФКР)” і “Ступінь ураження фузаріозним в’яненням” ($r_p = 0,56$);

14) “Об’єм нарощеного калюсу в культурі експлантів сім’ядолей *in vitro*, що вирощувалися на середовищі МС+30% ФКР” і “Об’єм нарощеного калюсу в культурі експлантів сім’ядолей *in vitro*, що вирощувалися на середовищі МС+50% ФКР” ($r_p = -0,75$);

15) “Об’єм нарощеного калюсу в культурі експлантів сім’ядолей *in vitro*, що вирощувалися на середовищі МС+30% ФКР” і “Об’єм нарощеного калюсу в культурі експлантів гіпокотилів *in vitro*, що вирощувалися на середовищі МС+50% ФКР” ($r_p = -0,58$);

16) “Об’єм нарощеного калюсу в культурі експлантів гіпокотилів *in vitro*, що вирощувалися на середовищі МС+50% ФКР” і “Об’єм нарощеного калюсу в культурі експлантів гіпокотилів *in vitro*, що вирощувалися на середовищі МС (контроль)” ($r_p = -0,51$);

17) “Об’єм нарощеного калюсу в культурі експлантів гіпокотилів *in vitro*, що вирощувалися на середовищі МС+30% ФКР” і “Суха речовина” ($r_p = -0,54$);

18) “Об’єм нарощеного калюсу в культурі експлантів гіпокотилів *in vitro*, що вирощувалися на середовищі МС+50% ФКР” і “Ступінь ураження фузаріозним в’яненням” ($r_p = -0,57$).

Серед встановлених, статистично достовірних, кореляційних зв’язків мали місце 9 позитивних (прямих) і 9 від’ємних. Проведений кореляційний аналіз підтвердив можливість проведення добору стійких до фузаріозного в’янення лінійних генотипів перцю солодкого на рівні гаметофітного, спорофітного потомства та клітинної селекції *in vitro*. Особливо слід відмітити від’ємний кореляційний зв’язок середньої сили ($r_p = -0,57$) між динамікою наростання отриманого від експлантів гіпокотилів калюсу за вирощування на поживному середовищі з 50% ФКР та ступенем ураження зразка фузаріозним в’яненням на рівні спорофітного потомства. Іншою вагомою кореляційною залежністю є прямий зв’язок між життєздатністю пилку у присутності 50% ФКР у рідкому середовищі для пророщування і аналогічним показником попереднього порівняння ($r_p = -0,56$). Встановлені залежності можна використовувати як критерії прискореного добору стійких генотипів перцю солодкого у лабораторних умовах і тим самим оптимізувати методику ведення селекційного процесу. Встановлені прямі кореляційні зв’язки ($r_p = 0,62...0,71$) між проявом таких ознак лінійних зразків як “Товщина перикарпію”, “Кількість плодів на одній рослині” та “Ступінь ураження фузаріозним в’яненням” дають можливість прогнозувати рівень стійкості вихідного матеріалу перцю солодкого до фузаріозу на рівні спорофітного потомства.

ВИСНОВКИ

В результаті проведених досліджень виявлено реакцію десяти селекційно-цінних ліній перцю солодкого (*C. annuum* L.) на ураження збудником фузаріозу (*F. oxysporum* f. sp. *capsici*) на рівні гаметофітного і спорофітного потомства та росту калюсних клітин в культурі *in vitro*, похідних від експлантів сім'ядолей і гіпокотилів. Зокрема, визначено динаміку росту калюсних клітин перцю солодкого залежно від двох концентрацій, 30% і 50%, ФКР збудника фузаріозу у складі індукційного поживного середовища в культурі *in vitro*. Встановлено, що інтенсивність росту калюсних клітин мала чітку залежність від генотипу лінії, виду первинного експланту тканин (сім'ядолі та гіпокотилі) і концентрації ФКР у складі середовища. Пилок усіх зразків перцю солодкого витримував патогенне навантаження культурального фільтрату, зберігаючи свою життєздатність на рівні 63–97%. При цьому слід відзначити навпаки не пригнічуючий, а стимулюючий вплив ФКР на проростання пилових трубок. На рівні спорофітного потомства в умовах штучного провокаційного фону стійкими до фузаріозу за шкалою РЕВ виділено чотири лінії (7 балів), середньо стійкими п'ять ліній (5 балів) та одну сприйнятливую лінію (3 бали). Виділені кращі лінії, що поєднують високу продуктивність, якість плодів та стійкість до фузаріозу.

В результаті проведеного комплексного кореляційного аналізу виділено два статистично достовірних лінійних кореляційних зв'язки середньої і сильної сили ($\pm 0,3 < r_p < \pm 0,99$), які поєднують реакцію генотипу перцю солодкого на ураження збудником фузаріозу на рівні гаметофітного, спорофітного потомства та клітинної селекції *in vitro*, що дає можливість проводити прискорений прогноз рівня стійкості дослідженого генотипу перцю солодкого до фузаріозу. А саме, прояв ступеню ураження зразка фузаріозним в'яненням на рівні спорофітного потомства кореляційно пов'язаний як із ростом калюсу на середовищі МС з додаванням 50% ФКР від експлантів гіпокотилів, так і рівнем життєздатності пилку у присутності 50% ФКР у рідкому середовищі для пророщування.

АНОТАЦІЯ

В останні роки однією з найбільш шкідливих хвороб перцю солодкого в Україні є хвороба в'янення, основними збудниками якої в умовах Лісостепової зони є некротрофні (токсинуотворюючі) патогени – гриби роду *Fusarium* Link (*F. solani*, *F. oxysporum* f. sp. *capsici*, *F. oxysporum* f. sp. *lycopersicon*). На теперішній час генетичні та фізіологічні механізми стійкості рослин перцю солодкого до збудника фузаріозу ще недостатньо вивчені. Існуючий спосіб польової оцінки

стійкості проти фітофагів має ряд недоліків, оскільки потребує значної тривалості у часі з-за нерегулярності прояву хвороби у польових умовах за різних погодних умов у роки досліджень і високої імовірності загибелі сприйнятливого до хвороби цінного селекційного матеріалу. Досить інформативним критерієм добору, стійких до фузаріозу форм перцю солодкого, є використання методу клітинної селекції *in vitro*, який передбачає вивчення в стерильній культурі реакції соматичних і меристематичних клітин на присутність фільтрату культуральної рідини (ФКР) збудника хвороби у складі поживного середовища. Іншим дійовим способом оцінки та добору генотипів овочевих культур пасльонові групи за стійкістю до фузаріозного в'янення може слугувати показник життєздатності пилку, який дозволяє визначати стійкість зразка на рівні чоловічого гаметофіту вже на початкових етапах селекційного процесу. В результаті проведених досліджень проаналізовано реакцію десяти селекційно-цінних ліній перцю солодкого (*C. annuum* L.) української селекції на ураження збудником фузаріозу (*F. oxysporum* f. sp. *capsici*) на рівні гаметофітного і спорофітного потомства та росту калюсних клітин в культурі *in vitro*, похідних від експлантів сім'ядолей і гіпокотилів. Встановлено, що ступінь ураження селекційно-цінних зразків перцю солодкого фузаріозним в'яненням на рівні спорофітного потомства кореляційно пов'язаний як із ростом калюсу на середовищі МС з додаванням 50% ФКР від експлантів гіпокотилів ($r_p = -0,57$), так і рівнем життєздатності пилку у присутності 50% ФКР у рідкому середовищі для пророщування ($r_p = 0,56$). Встановлені кореляційні залежності можна використовувати як критерії прискореного добору стійких генотипів перцю солодкого у лабораторних умовах і тим самим оптимізувати методику ведення селекційного процесу.

Література

1. Петренкова В.П., Боровська І.Ю., Лучна І.С., Сокол Т.В., Ниска І.М., Кучеренко Є.Ю., Компанець К.В. Методологія виділення форм польових культур за стійкістю до комплексу біо– та абіотичних чинників. Харків: ФОП Бровін О.В., 2018. 242 с.
2. Стасюк М., Полянська Х., Вересюк Ю. Найпоширеніші хвороби перцю солодкого (*Capsicum annuum* L.) та методи боротьби з ними. *Магістерський науковий вісник Тернопільського національного педагогічного університету імені Володимира Гнатюка*. 2023. Вип. 41. С. 140-143.
3. Ro N., Lee G.-A., Ko H.-C., Oh H., Lee S., Haile M., Lee J. Exploring disease resistance in pepper (*Capsicum* spp.) germplasm collection using

fluidigm SNP genotyping. *Plants*. 2024. Vol. 13. P. 1344. DOI: <https://doi.org/10.3390/plants13101344>

4. Kondratenko S. Chapter 6. Application of methods of interspecies hybridization, biotechnology and induced apomixis in the context of accelerated creation of multigenome forms of pepper adapted to organic growing technologies. *Biological sciences and education in the context of European integration. Scientific monograph* / R. Krutko, L. Pylypenko. Riga, Latvia: “Baltija Publishing”, 2024. P. 114–132. DOI: <https://doi.org/10.30525/978-9934-26-443-6-6>

5. Черненко О.В. Діагностика видового складу та вірулентний потенціал хвороб перцю солодкого *Capsicum annuum* L. *Овочівництво і багданництво*. 2016. Т.62. С. 317–326.

6. Яровий Г.І., Черненко В.Л., Черненко О.В. Критичні для розвитку перцю солодкого фази вегетаційного періоду у Лісостеповій зоні України. *Овочівництво і багданництво*. 2017. Вип. 63. С. 381–387.

7. Ranjit S., Deblais L., Poelstra J.W., Bhandari M., Rotondo F., Scaria J., Miller S.A., Rajashekara, G. *In vitro*, *in planta*, and comparative genomic analyses of *Pseudomonas syringa* pv. *syringae* strains of pepper (*Capsicum annuum* var. *annuum*). *Microbiology spectrum*. 2024. Vol. 12. № 6. e0006424. DOI: <https://doi.org/10.1128/spectrum.00064-24>

8. Кондратенко С.І., Черненко К.М., Гарт О.Ю., Черненко О.В. Використання інфекційних фонів для оцінки перцю солодкого (*Capsicum annuum* L.) в культурах *in vitro* та *in vivo* за стійкістю до фузаріозного в'янення та комплексом інших ознак. *Овочівництво і багданництво*. 2015. Вип. 61. С. 115–123.

9. Tejaswini. An innovative technique for disease resistance breeding: gametophytic approach. *Elegant Science in Floriculture: XXVI International Horticultural Congress*. Toronto. 2003. DOI: <https://doi.org/10.17660/ActaHortic.2003.624.68>

10. Черненко К.М., Складєвська В.В., Черненко В.Л., Куракса Н.П. Патогенез перцю солодкого *Capsicum annuum* L. *Овочівництво і багданництво*. 2005. Т.50. С. 198–205.

11. Sargsyan G.J., Vardanian I.V., Harutynyan, Z.E. Usage of callus culture in selection of pepper and tomato. *Acta Horticulturae*. 2014. Vol. 1033. P. 77–84. DOI: <https://doi.org/10.17660/ActaHortic.2014.1033.10>

12. Kondratenko S.I., Lancaster Y.M. Section 7. Methodological aspects of assessing the response of courgette plants to artificial contamination of Zucchini yellow mosaic virus (ZYMV). *Achievements of Ukraine and the EU in ecology, biology, chemistry, geography and agricultural sciences: Collective monograph*. Riga, Latvia: “Baltija Publishing”, 2021. Vol. 2. P. 115–134. DOI: <https://doi.org/10.30525/978-9934-26-086-5-20>

13. Gurung S., Short D.P.G., Hu X., Sandoya G.V., Hayes R.J., Subbarao K.V. Screening of wild and cultivated *Capsicum* germplasm reveals new sources of *Verticillium* Wilt resistance. *Plant Disease*. 2015 Vol. 99. № 10. P. 1404–1409. DOI: <https://doi.org/10.1094/pdis-01-15-0113-re>
14. Кириченко В.В., Петренкова В.П. Основи селекції польових культур на стійкість до шкідливих організмів. Харків: Ін-т рослинництва ім. В.Я. Юр'єва. 2012. 320 с.
15. Purnachandra G.G., Dhananjaya M.V., Devappa V., Fakrudin B., Ashwath C., Sriram S., Kumar R. Prospecting male gametophytic selection for *Fusarium* wilt resistance in carnation (*Dianthus caryophyllus* L.). *Green Farming*. 2018. Vol. 9. No. 5. P. 792–799.
16. Gajanayake B., Trader B.W., Reddy K.R., Harkess R.L. Screening ornamental pepper cultivars for temperature tolerance using pollen and physiological parameters. *Hort Science horts*. 2011. Vol. 46. Iss. 6. P. 878–884. DOI: <https://doi.org/10.21273/HORTSCI.46.6.878>
17. Методика проведення експертизи сортів рослин групи овочевих, картоплі та грибів на відмінність, однорідність і стабільність. Вінниця: ФОП Корзун Д.Ю., 2016. С. 536–558.
18. Методика проведення фітопатологічних досліджень за штучного зараження рослин. Затверджено Наказом Міністерства аграрної політики та продовольства України 12 грудня 2016 року № 540. 76 с. URL: <https://sops.gov.ua/uploads/page/5a5f418eb746e.pdf>
19. Plant pathology: Techniques and protocols / Ed. by Burns R. Edinburg: Humana press, 2009. 321 p. DOI: <http://dx.doi.org/10.1007/978-1-59745-062-1>
20. Murashige T., Skoog F. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue culture. *Physiologia Plantarum*. 1962. № 15. P. 473–497. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1399-3054.1962.tb08052.x>
21. Васильковський О.М., Лещенко С.М., Васильковська К.В., Петренко Д.І. Підручник дослідника. Навчальний посібник для студентів агротехнічних спеціальностей. Кіровоград: КНТУ, 2016. 204 с.
22. Lyakh, V., Soroka, A. & Mishchenko, L. Flowering time in oil flax can be influenced by microgametophytic selection. *Euphytica*. 2001. Vol. 118. P. 237–242. DOI: <https://doi.org/10.1023/A:1017516532724>
23. Lobaton J., Andrew R., Duitama J., Kirkland L., Macfadyen S., Rader R. Using RNA-seq to characterize pollen–stigma interactions for pollination studies. *Scientific Reports*. 2021. Vol. 11. 6635. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41598-021-85887-y>
24. Beaudry F.E.G., Rifkin J.L., Barrett S.C.H., Wright S.I. Evolutionary genomics of plant gametophytic selection. *Plant Communications*, 2020. Vol. 1, Iss. 6. P. 1–16.

25. Pontaroli A.C., Camadro, E.L. Increasing resistance to *Fusarium* crown and root rot in asparagus by gametophyte selection. *Euphytica*. 2001. Vol. 122. P. 343–350. DOI: <https://doi.org/10.1023/A:1012983123410>
26. Purnachandra G. G., Dhananjaya M. V., Devappa V., Fakrudin B., Ashwath C., Sriram S., Kumar R. Prospecting male gametophytic selection for *fusarium* wilt resistance in carnation (*Dianthus caryophyllus* L.). *Green Farming*. 2018. Vol. 9. №. 5. P. 792–799.
27. D. Lal, D. Dev, S. Kumari, S. Pandey, Aparna T., Sharma N., Nandni S., Jha R.K., Singh A. *Fusarium* wilt pandemic: current understanding and molecular perspectives. *Functional & Integrative Genomics*. 2024. Vol. 24. 41. DOI: <https://doi.org/10.1007/s10142-024-01319-w>
28. Приседський Ю. Г. Стійкість рослин (підручник для студентів спеціальності “Біологія” вищих навчальних закладів). Вінниця: ТОВ “Нілан-ЛТД”, 2017. 252 с.

Information about the authors:

Kondratenko Serhii Ivanovych,

Doctor of Agricultural Sciences,

Head of the Department of breeding and seed production
of vegetables and melons,

Institute of Vegetable Growing and Melon Growing of the National
Academy of Agrarian Sciences of Ukraine

1, Institutskaya str., Seleksiynе village, Kharkiv region, 62478, Ukraine

Pylypenko Liubov Vasylivna,

Doctor of Philosophy in specialty 201 “Agronomy”,

Senior Researcher at the Laboratory of Solanaceae
and Cucurbitaceae crops,

Institute of Vegetable Growing and Melon Growing of the National
Academy of Agrarian Sciences of Ukraine

1, Institutskaya str., Seleksiynе village, Kharkiv region, 62478, Ukraine

Tkalych Yurii Vadymovych,

Candidate of Agricultural Sciences, Director,

Chernihiv branch of the Ukrainian Institute
of Plant Varieties Examination

103, Shevchenko str., Khalyavyn village, Chernihiv region,
15524, Ukraine