

С.І. Кондратенко, кандидат біологічних наук,
К.М. Черненко, кандидат біологічних наук,
О.Ю. Гарт, молодший науковий співробітник,
О.В. Черненко, аспірант
Інститут овочівництва і баштанництва НААН

**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**

Отримано імунологічну характеристику перцю солодкого за стійкістю до фузаріозного в'янення в умовах стаціонарного провокаційного фону та комплексом інших цінних ознак на рівні спорофітного покоління (11 зразків). Разом з цим, в умовах штучного інфекційного фону досліджений рівень селективної дії на гаметофітне покоління цих зразків перцю суміші фільтратів культуральної рідини (ФКР) зонального комплексу грибів – збудників фузаріозного в'янення. Визначені статистично достовірні лінійні кореляційні взаємозв'язки між проявом фузаріозостійкості та комплексом інших корисних ознак, що дозволяє додатково контролювати ефективність добору селекційно-цінних генотипів.

Ключові слова: перець солодкий, фузаріозне в'янення, гаметофіт, спорофіт, кореляційний аналіз

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 [5].

Зміна клімату в Україні вже сьогодні негативно пливає 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'янення [14].

© Кондратенко С.І., Черненко К.М., Гарт О.Ю., Черненко О.В., 2015.

Аналіз сучасних публікацій за даним напрямом досліджень засвідчує – лише сумісні теоретичні і практичні дослідження в галузі генетики, цитології, біотехнології, імунітету цієї овочевої культури спроможні вивести вітчизняну сортову і гібридну селекцію перцю солодкого на конкурентоспроможній світовий рівень. Паралельно це дозволить більш ефективно контролювати перебіг формоутворюючих процесів у регіональному патокомплексі агрофітоценозів цієї овочевої культури [4, 7, 17].

Як показує світовий досвід, одним із дійових факторів оцінки і відбору генотипів овочевих культур пасльонової групи, стійких до фузаріозного в'янення може слугувати показник життєздатності пилку, що визначатиме стійкість зразка на рівні чоловічого гаметофіту на початкових етапах селекційного процесу [6].

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*, *F. oxysporum* f. sp. *lycopersicon* [14, 16].

Мета досліджень. Відпрацювати в культурі *in vitro* спосіб оцінки чоловічого гаметофіту перцю солодкого (*C. annuum* L.) за стійкістю до фузаріозного в'янення, встановити генетичний каркас зв'язку між основними цінними ознаками цієї овочевої культури на рівні гаметофітного і спорофітного покоління.

Методика досліджень. У дослідженнях була задіяна частина (10 ліній) вітчизняної робочої ознакової колекції перцю солодкого Національного банку генетичних ресурсів рослин України (Інститут рослинництва ім. В.Я. Юр'єва) із різною стійкістю до фузаріозного в'янення [1]. Оцінку фузаріозостійкості зразків проводили у фазу цвітіння (гаметофітне покоління) та біологічної стиглості плодів (спорофітне покоління). За стандарт порівняння був використаний районований вітчизняний сорт перцю солодкого універсального призначення Піонер (загальна вибірка – 11 зразків).

Життєздатності пилку досліджували на живильному середовищі МС із додаванням до нього 15 г сахарози, регуляторів росту (0,01 мг/л ГКЗ + 0,01 мг/л НОК) (контроль), рівень стійкості чоловічого гаметофіту – шляхом додаванням до нього селективного агенту добору 50-відсоткової суміші ФКР основних збудників фузаріозного в'янення (експериментальний варіант) [13, 18]. Констатацію зміни параметрів

життєздатності пилку проводили шляхом підрахунку у полі зору мікроскопу кількості пророслих пилкових зерен після 2-годинного культивування на контрольному та експериментальному живильних середовищах [2, 7, 8].

Загальну оцінку ліній перцю солодкого за комплексом цінних ознак провели в умовах стаціонарного провокаційного інфекційного фону (плівкова теплиця із беззмінним ґрунтом, багаторічною монокультурою, специфічним режимом зрощення) відповідно до методичних рекомендацій ВІР та РЕВ [9, 10].

Фітопатологічні обліки ураження зразків перцю солодкого фузаріозним в'яненням проводили за наступною шкалою: бал 0 – симптоми в'янення відсутні; 1 – незначне ураження окремих стебел без зміни загального стану усїєї рослини, в'яненням уражено до 10 % листової поверхні; 2 – уражені окремі або усї стебла із середнім пригніченням рослини, без тургору від 10,1 до 35 % листової поверхні; 3 – рослина сильно пригнічена, товарного врожаю не формує, без тургору від 35,1 до 50 % поверхні листового апарату; 4 – без тургору більше 50 % поверхні листового апарату, рослина в'яне, усихає та гине. Згідно наведеної шкали обліку ураження групу стійкості зразка визначали за наступною шкалою: бал 9 – високо стійкий (бал 0 шкали ураження); 7 – стійкий (1); 5 – середньо стійкий (2); 3 – сприйнятливий (3); 1 – високо сприйнятливий (бал 4 шкали ураження відповідно) [12, 14, 15].

Біохімічну оцінку плодів перцю солодкого на вміст у плодах цінних хімічних компонентів (суха речовина, вітамін С, комплекс цукрів) проводили у акредитованій лабораторії інституту (ГОСТ 24556–89, ГОСТ 28561–90).

Проміжні результатів та остаточні висновки проведених досліджень підтверджені статистично [3].

Результати досліджень. Раніш ніж перейти до аналізу отриманих результатів спеціально наголосимо на факт того, що згідно з літературними даними у геномі перцю солодкого стійкість до фузаріозного та вертицильозного в'янень контролюється одним генним комплексом. Це означає, що біотиipi (лінії), стійкі до фузаріозного в'янення, апріорі матимуть стійкість до в'янення вертицильозної етіології [11].

Як засвідчили одержані нами результати, пилко, зібраний із різних за стійкістю до фузаріозного в'янення в умовах провокаційного фону генетичних біотипів (спорофітного покоління) виявив різну життєздатність (стійкість) щодо витримки патогенного навантаження

на чоловічий гаметофіт в умовах штучного інфекційного фону в культурі *in vitro*.

Отримані результати довели, що показник життєздатності гаметофітного покоління на контрольному живильному середовищі (перемінна X_1 , надалі перемінні X_i) коливався на рівні 62,7–96,7 % (лінії UL0500375 ÷ UL0500391) (табл. 1).

У експериментальних варіантах із додаванням до живильного середовища селективного агенту добору зниження показників життєздатності пилку (X_2) у різних ліній теж виявилось різним, мало амплітуду коливань на рівні 13,2 ÷ 79,9 % (стандарт ÷ лінія UL0500648). При цьому відносне відхилення показника зниження життєздатності чоловічого гаметофіту внаслідок селективної дії на нього через живильне середовище суміші ФКР (X_3) за варіантами оцінки зразків порівняно з контролем становило 7,3 ÷ 84,5 % (лінія UL0500371 ÷ стандарт).

Окремо наголосимо, що лише у лінії UL0500386 введення до живильного середовища ФКР мало зворотній ефект – стимулювало процес проростання пилкових трубок. Цьому факту ми знайшли наступне пояснення – у біохімічному складі ФКР грибів роду *Fusarium* Link. наявні не тільки токсикогенні, але й біологічно активні речовини і сполуки, які у індивідуальних генетично чутливих біотипів рослин здатні стимулювати проростання пилкових зерен [2, 6, 13].

Зведені результати оцінки інтенсивності розвитку хвороби (X_4), і як результат, діагностування рівня стійкості (X_5) селекційних ліній (спорофітного покоління) перцю солодкого до фузаріозного в'янення в умовах стаціонарного провокаційного інфекційного фону дозволили констатувати наступне.

Високо стійких до фузаріозного в'янення зразків (біотипів) у проаналізованій вибірці в умовах природного інфекційного фону не виявлено.

Стійкість на рівні балу 7 показали 4 лінії (UL0500371, UL0500373, UL0500387, UL0500648), середню стійкість виявили 5 ліній (UL0500374, UL0500386, UL0500388, UL0500389, UL0500391). Реакцію сприйнятливості до ураження фузаріозним в'яненням в умовах стаціонарного провокаційного фону показали 2 зразки із номерами каталогу НЦГРР України UL0500001 (стандарт) та UL0500375.

Обрахований за узагальненими даними коефіцієнт кореляції довів на тісну зворотну залежність ($r_{2-4} = -0,80$) життєздатності чоловічого гаметофіту на селективному живильному середовищі *in vitro* (X_2) від

наявної стійкості до фузаріозного в'янення спорофітного покоління в умовах *in vivo* (X_4) (див. табл. 1).

Узагальнений аналіз результатів досліджень вибірки із 11 зразків (спорофітне покоління) за стійкістю до в'янення, комплексом біохімічних та господарських ознак в умовах стаціонарного провокаційного інфекційного фону представлений нижче.

Так, діапазон коливань показника вмісту у плодах сухої речовини (X_6) становив від 5,01 до 10,72 %, Перевищення цього параметра над стандартом (8,31 %) на 22,5 % було зафіксовано у лінії UL0500388. Лінія UL0500648 із значення цієї ознаки на рівні 9,15 % визначена перспективною для селекційної роботи.

Вміст у плодах досліджуваних ліній перцю загального цукру (X_7) коливався в межах від 1,15 до 4,71 %. Всі зразки за цим показником поступалися стандарту. Лише лінії UL0500371 та UL0500648 виявили у плодах підвищений вміст цукру на рівні 4,14 %.

Значення вмісту у плодах представленої вибірки біотипів перцю вітаміну С (X_8) коливалися у діапазоні від 117,99 до 201,07 мг/100 г. Порівняно з сортом–стандартом Піонер (156,88 мг/100 г.) статистично достовірно вищим на 14,9–28,2 % цей показник виявився у лінії UL0500373, UL0500388 та UL0500389.

Крім того, стандарт порівняння виявився найкращим за такими ознаками як висота рослини (X_9 , 55,07 ÷ 71,88 см), довжина (X_{10} , 5,17 ÷ 14,52 см) і ширина листка (X_{11} , 4,29 ÷ 7,02 см), кількість плодів на рослині (X_{16} , 6 ÷ 10 шт.)

За продуктивністю (X_{17} , 217,30 ÷ 788,64 г/росл.) усі досліджені біотипи перцю солодкого, окрім лінії UL0500391, теж поступилися стандарту (776,82 г/росл.).

Отже, у проаналізованій вибірці, порівняно зі стандартом, вищими виявилися такі показники: за діаметром плоду (X_{12} , 4,18 ÷ 9,34 за вибіркою / 5,54 см – у стандарту) – UL0500371, UL0500386, UL0500391; за його довжиною (X_{13} , 5,36 ÷ 11,46 / 8,82 см) – лінії UL0500388, UL0500389; за товщиною перикарпію (X_{14} , 3,71 ÷ 6,16 / 4,32 мм) – UL0500375, UL0500386; за масою плоду (X_{15} , 49,0 ÷ 119,81 / 83,94 гр) – лінія UL0500391.

Не менш важливим для адаптивної селекції перцю солодкого є визначення структури (каркасу) кореляційних зв'язків між комплексом цінних ознак, бо саме вони дають змогу селекціонеру побічно судити про напрями та тісноту впливу однієї селективної (робочої) ознаки на інші.

Шкала, яка була використана нами для аналізу тісноти зв'язків між парами основних апробаційних та господарських ознак, була наступною: від 0 до 0,19 – зв'язок між ознаками дуже слабкий; від 0,2 до 0,39 – слабкий; від 0,40 до 0,59 – середній; від 0,60 до 0,79 – тісний; від 0,80 до 1,0 – дуже тісний [19].

Завдяки кореляційному аналізу для генетико–селекційного вжитку окреслений блок (каркас) із пар господарських ознак, взаємозв'язок між якими є різним за напрямом, але достовірно тісним або дуже тісним (табл. 2).

Отримані дані свідчать про високу інформативність застосування кореляційного аналізу для дослідження взаємозв'язку між комплексом господарських ознак при оцінках та відборах в культурах *in vitro* та *in vivo* цінних для генетично–селекційного використання генотипів перцю солодкого, які, поряд з найбільш бажаними у товарному виробництві параметрами, матимуть у своєму генотипі збалансовану стійкість до фузаріозного в'янення.

Висновки. Отримані дані послуговували достатньою підставою для ґрунтового ствердження того, що стійкість зразків перцю солодкого до фузаріозного в'янення, визначена розробленим експрес-способом оцінки життєздатності чоловічого гаметофіту на живильному середовищі із додаванням ФКР, є рівнозначним замінником щодо визначення стійкості спорофітного покоління у період вегетації в умовах провокаційного інфекційного фону. Коефіцієнт кореляції статистично підтвердив цю закономірність.

Кореляційним аналізом між 17 парами ознак встановлені пари базових показників, які рекомендовані для прогнозу на рівні гаметофіту і спорофіту у селекційно цінних генотипів перцю солодкого прояву різних ознак, у т.ч. і стійкості до фузаріозного в'янення.

Бібліографія

1. Авторське свідоцтво Національного банку генетичних ресурсів рослин України про реєстрацію колекції генофонду перцю солодкого № 77 із різною стійкістю до альтернаріозу, фузаріозу та комплексом цінних ознак (20 зразків) / Куракса Н. П., Склярєвська В. В., Черненко В. Л., Черненко К. М. (Україна). – № 000192; Заявл. 25.05.2010 р.; Опубл. 02.06.2010 р.

2. Голубинский И. Н. Биология прорастания пыльцы / И. Н. Голубинский– К. : Наукова думка, 1974. – 362 с.

3. Доспехов Б. А. Методика полевого опыта (с основами статистической обработки результатов исследований) / Б. А. Доспехов. – М. : Агропромиздат, 1985. – 351 с.
4. Жученко А. А. Адаптивный потенциал культурных растений (экологические основы) / А. А. Жученко. – Кишинев : Штиинца, 1988. – 767 с.
5. Основи селекції польових культур на стійкість до шкідливих організмів: навчальний посібник, за ред. В. В. Кириченка та В. П. Петренкої, Ін-т рослинництва ім. В. Я. Юр'єва НААН. – Х. : Ін-т рослинництва ім. В. Я. Юр'єва, 2012. – 320 с.
6. Поликсенова В. Д. Микозы томата: Возбудители заболеваний, устойчивость растений / В. Д. Поликсенова – Минск : БГУ, 2008. – 159 с.
7. Максимова Н. И. Культура клеток и тканей в изучении взаимоотношений патогенна и растения – хозяина / Н. И. Максимова, М. Н. Мерзляк, М. В. Гусев // Биол. науки. – 1990. – № 2. – С. 6–21.
8. Методические указания по гаметной селекции сельскохозяйственных растений (методология, результаты и перспективы) / Под ред. В. Ф. Пивоварова. – М. : РАСХН, ВНИИССОК, 2001. – 386 с.
9. Методические указания по изучению и поддержанию мировой коллекции овощных пасленовых культур (томаты, перцы, баклажаны). – Л., 1977. – 24 с.
10. Международный классификатор СЭВ вида *Capsicum annuum* L. – Л., 1986. – 40 с.
11. Мороз И. В. Исходный материал для селекции перца сладкого (*Capsicum annuum* L.) на устойчивость к болезням увядания и качество плодов в условиях Северного Кавказа: дис.... кандидата с. – х. наук: 06.01.05 / Мороз Ирина Вячеславовна. – С.–Пб., 2004. – 126 с.
12. Харькова А. П. Селекция овощных пасленовых культур на устойчивость к болезням / А. П. Харькова. – Кишинев : Штиница, 1994. – 182 с.
13. Чекалин Н. М. Генетические основы селекции зернобобовых культур на устойчивость к патогенам / Н. М. Чекалин – Полтава : Интерграфіка, 2003. – С. 72–91 (Способы заражения растений).
14. Черненко К. М. Патогенез перцю солодкого *Capsicum annuum* L. / Черненко К. М. Склярєвська В. В., Черненко В. Л., Куракса Н. П. // Овочівництво і баштанництво. – 2005. – Т.50. – С. 198–205.
15. Черненко Е. М. Особенности проявления устойчивости к фузариозному увяданию у гибридов F1 перца сладкого (*Capsicum annuum* Linneus) / Черненко Е. М., Куракса Н. П., Черненко В. Л. // Овощеводство. – Минск, 2013. – Т. 21. – С. 309 – 318.

16. Booth C. (Ed.) The Genus *Fusarium* / C. Booth – Messiaen&Cassini, 1971. – 155 p.

17. Bosland P. W. Peppers: vegetable and spice *Capsicum* / P.W. Bosland, E.J. Votava– CABI Publishing, 2000. – 199 p.

18. Murashige T. A revised medium for rapid growth and bioassay with tobacco tissue cultures / Murashige T., Skoog F. // Plant Physiology. – 1962. – № 15. – P. 473–497.

19. Pearsons correlation [Электронный ресурс]. – Режим доступа до ресурсу: <http://www.statstutor.as.uk/resources/uploaded/pearsons.pdf>

С.И. Кондратенко, К.М. Черненко, О.Ю. Гарт, А.В. Черненко

Использование инфекционных фонов для оценки перца сладкого (*Capsicum annuum* L.) в культурах *in vitro* и *in vivo* на устойчивость к фузариозному увяданию и комплексу других признаков.

Резюме. В условиях стационарного провокационного фона на уровне спорофитного поколения (11 образцов) получена иммунологическая характеристика перца сладкого по устойчивости к фузариозному увяданию и комплексу других ценных признаков. В условиях искусственного инфекционного фона на уровне гаметофитного поколения параллельно изучен уровень селективного действия на пыльцу образцов смеси фильтратов культуральной жидкости (ФКР) зонального комплекса грибов – возбудителей этой болезни. Определенные статистически достоверные линейные корреляционные взаимосвязи между проявлением фузариозоустойчивости и комплексом других полезных признаков, которые позволяют дополнительно контролировать эффективность отбора селекционно ценных генотипов.

S.I. Kondratenko, K.M. Chernenko, O. Gart, O.V. Chernenko

The use of infectious backdrops for evaluation of sweet pepper (*Capsicum annuum* L.) crops *in vitro* and *in vivo* for resistance to Fusarium wilt and other complex traits.

Summary. In the stationary provocative background level sporophytes generation (11 samples) obtained immunological characteristics of sweet pepper for resistance to Fusarium wilt and other valuable traits. In conditions of artificial infectious background at the level of the gametophytes generation in parallel, we investigated the level of a selective effect on pollen samples of the mixture of the effluent cultural fluid (FCR) zonal complex of fungi causing this disease. Certain statistically significant linear correlations between the expression of fusariotoxins

and other useful features that allow additional control to measure the effectiveness of the selection of selection of valuable genotypes.

1. – Залежність вияву реакції стійкості до фузаріозного в'янення у гаметофітного та спорофітного поколінь перцю солодкого в умовах різних інфекційних фонів

№ з/п	Зразок, номер каталогу НЦГРР України	Штучний фон			Провокаційний фон	
		Життєздатність пилку		відхилення за варіантами від контролів	Розподіл зразків перцю солодкого за:	
		без ФКР (контроль)	із додаванням розчину ФКР		Інтенсивністю розвитку хвороби	групою стійкості
		%	%	%	%	бал
		X ₁	X ₂	X ₃	X ₄	X ₅
1	UL0500001 (сорт Піонер) стандарт	85,4	13,2	-84,5	44,8	3
2	UL0500375	62,7	14,4	-77,0	36,8	
3	UL0500391	96,7	53,6	-44,6	30,1	5
4	UL0500388	89,7	48,4	-46,0	29,5	
5	UL0500389	84,3	49,6	-41,2	28,9	
6	UL0500386	82,1	83,9	+2,2	27,3	
7	UL0500374	96,8	59,1	-38,9	25,7	
8	UL0500648	92,6	79,9	-13,7	8,9	7
9	UL0500373	93,5	77,2	-17,4	7,1	
10	UL0500387	78,8	63,4	-19,5	6,9	
11	UL0500371	85,9	79,6	-7,3	4,3	
Lim X _{min-max}		62,7÷96,7	13,2÷79,9	7,3÷84,5	4,3÷44,8	3÷7
Коефіцієнти кореляції:						
r₂₋₄ = -0,80			r₃₋₄ = -0,80			
N = 11; K = N - 2 = 9; r _{min} = 0,602, α = 0,05 [3]						

2. – Кореляційні зв'язки гаметофітного та спорофітного покоління перцю солодкого за комплексом основних ознак в культурах *in vivo* та *in vitro*

Характеристика зв'язку	Пари ознак, X _i , (за ревалентністю зростання коефіцієнту кореляції)
зворотній	
сильний (r = 0,6–0,79)	10 ÷ 12 (-0,61); 12 ÷ 13 (-0,62); 1 ÷ 16 (-0,69); 3 ÷ 7 (-0,70); 1 ÷ 9 (-0,71); 1 ÷ 10 (-0,71); 2 ÷ 7 (-0,71)
дуже сильний (r = 0,8–1,0)	2 ÷ 4 (-0,80); 3 ÷ 4 (-0,80); 1 ÷ 11 (-0,81); 4 ÷ 5 (-0,98)
прямий	
сильний (r = 0,6–0,79)	6 ÷ 13 (0,62); 16 ÷ 17 (0,64); 10 ÷ 16 (0,67)
дуже сильний (r = 0,8–1,0)	10 ÷ 11 (0,76); 9 ÷ 11 (0,79); 3 ÷ 5 (0,84); 2 ÷ 5 (0,85); 15 ÷ 17 (0,89); 11 ÷ 16 (0,90); 2 ÷ 3 (0,98)
N = 11; K = N - 2 = 9; r _{min} = 0,602, α = 0,05 [3]	