УДК 635.63 : 631.527

ВИКОРИСТАННЯ КЛІТИННИХ ТЕХНОЛОГІЙ *IN VITRO* ДЛЯ ДОБОРУ СТІЙКОГО ДО ФУЗАРІОЗНОГО В'ЯНЕННЯ (*FUSARIUM OXYSPORUM*) ВИХІДНОГО МАТЕРІАЛУ ОГІРКА

Т. В. ІВЧЕНКО, кандидат сільськогосподарських наук

Т. І. ВІЦЕНЯ, науковий співробітник

О. В. СЕРГІЄНКО, кандидат сільськогосподарських наук

Інститут овочівництва і баштанництва НААН

E-mail: ovoch.iob@gmail.com

Анотація. *Ефективними шляхами створення фузаріозостійкого вихідного матеріалу огірка є лабораторні методи, застосування яких дозволяє суттєво скоротити строки селекції. Встановлено, що 40 % концентрація фільтрату культуральної рідини збудника F. oxysporum у поживному середовищі суттєво впливає на розвиток апікальних меристем огірка, що дозволяє диференціювати селекційні зразки за чутливістю до селективного середовища і шляхом цілеспрямованого індивідуального добору проводити селекцію стійких генотипів в культурі in vitro. Рекомендовано для використання у селекції перспективні форми: C.s. 22 C.s. 23, C.s. 27, C.s. 29, які за індексом резистентності перевищили еталонні генотипи з визначеною в польових умовах стійкістю до фузаріозного в'янення. Показано, що використаний методичний підхід, завдяки своїй швидкості і об'єктивності дозволяє за 9 місяців провести оцінку селекційного матеріалу на стійкість до фузаріозного в'янення, здійснити розмноження перспективних зразків, що дозволить суттєво зменшити об'єми польових досліджень і сприятиме покращенню екологічної ситуації.*

Ключові слова: *клітинна селекція, оцінка, апікальна меристема, скринінг, джерела стійкості, фільтрат культуральної рідини, поживне середовище*

В останні роки однією із найбільш шкодочинних хвороб огірка в умовах захищеного ґрунту на Україні є коренева гниль, основним збудником якої в умовах лісостепової зони є некротрофний (токсиноутворюючий) гриб роду *Fusarium* Link. (*F. oxysporum).* Поширеність цієї хвороби в останні роки в зонах вирощування гарбузових овочевих культур складає 37-69 % і призводить до істотних втрат врожаю (30-50 %)[1].

Традиційним методом селекції на стійкість до фузаріозу є добір стійких рослин із гібридів та сортів у фазі першого справжнього листка на штучному інфекційному фоні [2], який створюють методами штучного зараження сіянців 15-добовою культурою гриба *Fusarium oxysporum* та шляхом внесення інокулюму гриба у субстрат для вирощування рослин. Даний метод показав високу ефективність, але він є трудомістким і тривалим. Разом з тим зведена характеристика рівня стійкості зразка отримується лише після 2-3 років.

Високоефективними шляхами створення фузаріозостійкого вихідного матеріалу огірка є лабораторні методи оцінки матеріалу, застосування яких дозволяє суттєво скоротити строки селекції. Добір стійких (толерантних) до стресів рослин-регенерантів в лабораторних умовах має ряд переваг порівняно з добором у польових умовах: швидка і більш точна оцінка кількісних ознак полігенної стійкості; велика кількість проаналізованих генотипів за відносно короткий проміжок часу [3]. В науковій літературі опубліковано експериментальні результати, що демонструють можливість використання сомаклональних варіацій у поєднанні з культуральним фільтратом або очищеним токсином як селективним агентом для добору резистентних до грибних патогенів форм рослин. Роботи зі створення методами клітинної селекції джерел стійкості до фузаріозу були проведені на таких культурах як томат, конюшина лучна, картопля, льон, ячмінь, горох [4], пшениця [2]. Ткачова А. А. [5] та EL-Kazzaz A. A [6] провели розробку схем клітинної селекції огірка для добору толерантних біотипів із використанням в якості селективного чинника різних концентрацій фільтратів культуральної рідини (ФКР) збудників фузаріозу. Гриби роду *Fusarium* відносяться до факультативних паразитів, яким притаманні високі фітотоксичні властивості. Тому, механізми стійкості рослин до цієї хвороби повинні містити, в першу чергу, захисні реакції, які запобігатимуть згубній дії токсичних продуктів на життєздатність клітин [7]. Під час культивування грибів цього роду на рідких поживних середовищах мікроміцети виділяють в культуральне середовище

токсичні метаболіти, які надалі можливо використовувати в якості селективного агента під час добору джерел стійкості до фузаріозної інфекції.

Мета дослідження – оцінити ефективність культивування апікальних меристем огірка на селективних середовищах із різною концентрацією ФКР *F. oxysporum* для скринінгу генотипів і добору в культурі ізольованих тканин *in vitro* фузаріозостійкого вихідного селекційного матеріалу.

Матеріали і методи досліджень. Дослідження проводили в 2014 – 2015 рр. в лабораторії теоретичних основ селекції, генетичних ресурсів і біотехнології Інституту овочівництва і баштанництва НААН. Досліди виконували за загальноприйнятими біотехнологічними методами за використання стандартного обладнання [8]. Вихідним матеріалом слугувало насіння 17 генотипів огірка (колекційні зразки та селекційні лінії). В якості еталонних зразків використовували два гібриди з визначеною високою польовою стійкістю до фузаріозного в'янення: вітчизняний гібрид Каміла F_1 (еталон № 1), створений в 2013 році селекціонерами ІОБ НААН та гібрид закордонної селекції Amant F_1 (еталон № 2), створений у Нідерландах селекціонерами фірми Bejo. Стерилізацію насіння проводили у розчині гіпохлориду натрію у концентрації 2:1, час експозиції – 15 хв. Після стерилізації насіння промивали 5 разів стерильною водою. Ізольовані із стерильних паростків апікальні меристеми для добору джерел стійкості розміщували на поверхні твердих селективних середовищ MS [9], модифікованих в якості селективного чинника ФКР *F. oxysporum* (20, 40 та 60 % від об'єму середовища). Чисті культури збудників хвороб отримували за стандартною методикою В. І. Білай [10]. Контрольним варіантом в досліді слугувало середовище без додавання ФКР. Оцінку рівня селективної дії ФКР на розвиток експлантатів в культурі *in vitro* проводили на 28 добу культивування. Вплив комплексу токсинів ФКР на ріст і розвиток апікальних меристем здійснювали шляхом визначення індексу резистентності (RI), який обраховували як відношення довжини пагона (кореня) після 4 тижнів культивування на селективному середовищі до довжини пагона (кореня) на контрольному варіанті, виражене у відсотках.

Культивування експлантатів проводили за оптимальними для культури температурними умовами (22-24 ºС за 16-годинного фотоперіоду і освітлення 5 тис люкс). Аналіз дії селективного фактору на розвиток експлантатів в культурі *in vitro* проводили на 28 добу культивування. Отримані рослини-регенеранти розмножували, підрощували, укорінювали і адаптували до нестерильних умов за загальноприйнятими методиками.

Результати досліджень та їх обговорення. Під час розробки схеми клітинної селекції ми враховували той факт, що збудник фузаріозного в'янення огірка є некротрофним факультативним паразитом, який уражує судинну систему рослини. Тому, для добору стійких до фузаріозу форм огірка були використані диференційовані експлантати. На першому етапі досліджень було визначено чутливість апікальних меристем огірка до різних концентрацій селективного агента в поживному середовищі (табл. 1).

1. Вплив концентрації ФКР грибів роду *Fusarium oxysporum* у селективному середовищі на ріст апікальних меристем огірка, 2014 – 2015 рр.

№ каталогу	Вміст ФКР							
	0 % (контроль)		20 %		40 %		60 %	
	довжина пагона, мм	довжина кореня, мм	довжина пагона, мм	довжина кореня, мм	довжина пагона, мм	довжина кореня, мм	довжина пагона, мм	довжина кореня, мм
C.s. 2 (еталон 1)	98,0±4,2	84,9±3,2	95,9±3,5	82,5±4,0	55,4±5,3	57,4±5,2	22,3±2,1	21,6±3,6
% до контролю	-	-	97,8	97,1	56,5	67,6	22,7	25,4
C.s. 30 (еталон 2)	63,8±3,2	66,8±1,1	62,0±4,1	64,5±4,0	38,6±4,3	45,8±3,9	17,8±3,4	29,7±2,5
% до контролю	-	-	97,1	95,6	60,5	68,6	27,9	44,6
C.s. 25	62,4±3,5	73,7±4,2	58,9±4,1	71,2±3,9	23,5±1,4	31,5±3,6	12,3±2,7	11,6±3,1
% до контролю	-	-	93,7	96,6	37,7	42,7	19,7	15,7
C.s. 26	67,2±4,7	72,3±1,5	65,2±3,9	70,3±2,5	27,1±3,2	41,9±3,9	15,3±1,5	18,6±1,1
% до контролю	-	-	97,0	97,2	40,3	57,9	22,7	25,7

Примітка: * – НІР $_{0,05}$ для порівняння довжини пагона - 10,4
** – НІР $_{0,05}$ для порівняння довжини кореня - 11,6

Виявлено, що 20 %-а концентрація ФКР в селективному середовищі не дозволяла диференціювати зразки за ростовими показниками, оскільки її вплив на ріст рослин був не суттєвим Висока концентрація ФКР 60 % навпаки мала досить високий токсичний ефект на розвиток меристем, який проявлявся у пригніченні росту стебла і кореня у більш, ніж у 90 % рослин.

Використання 40 %-ї ФКР *F. oxysporum* виявилась найбільш ефективною концентрацією для проведення клітинної селекції, оскільки вона у досліді забезпечувала зниження морфологічних параметрів регенерантів не менше, як на 50 % відносно контролю. Підтвердженням даного висновку були наступні результати, отримані під час проведення клітинної селекції огірка (табл. 2).

За розвитком апікальних меристем огірка генотипи можна розділити на три групи за реакцією на культивування на селективних середовищах з ФКР: 1 група – зниження ростових параметрів; 2 група – розвиток на рівні контролю; 3 група – перевищення параметрів росту регенерантів відносно контролю.

За результатами аналізу найбільш чисельною була 1 група (C.s. 1, C.s. 6, C.s. 14, C.s. 15, C.s. 20, C.s. 21, C.s. 24, C.s. 25, C.s. 26), в яку входили 9 сприйнятливих до дії ФКР генотипів, серед яких були гібриди італійської селекції та нові гібридні комбінації першого покоління селекції ІОБ НААН.

Всі рослини-регенеранти даної групи на момент обліку характеризувались значно нижчими, ніж у еталонних зразків параметрами розвитку пагонів і коренів. За розрахованим нами для рослин даної групи індексом резистентності (RI), цей показник для ознаки «довжина пагона» знаходився в межах 29,7-53,5 %, тоді як у еталонних генотипів він був на рівні 56,5-60,5 %. Для ознаки «довжина кореня» рослини даної групи мали RI на рівні 42,7-65,2 %, тоді як у еталонних зразків він мав значення 67,6-68,6 %. На рівні еталонних зразків, стійких до фузаріозного в’янення, за результатами попередніх імунологічних досліджень, знаходились три зразки – C.s 2, C.s 22 і C.s.7. Найвищу стійкість на середовищі із 40 % ФКР *F. oxysporum* виявили зразки C.s. 23, C.s. 27 і C.s. 29, у яких індекс резистентності розвитку пагона становив від 60,0 до 84,2 %, а індекс резистентності розвитку кореня був у межах 80,0-94,5 %.

2. Оцінка впливу селективного середовища із 40 % ФКР грибів роду *Fusarium oxysporum* на біометричі показники пробіркових рослин огірка на 28 добу культивування, 2014 – 2015 рр.

№ каталогу	Генотип	Середовище MS (контроль, без ФКР)		Селективне середовище MS (40 % ФКР)			
		довжина пагона	довжина кореня	довжина пагона		довжина кореня	
		мм, $\overline{X} \pm S_{\overline{X}}$	мм, $\overline{X} \pm S_{\overline{X}}$	мм, $\overline{X} \pm S_{\overline{X}}$	RI,* %	мм, $\overline{X} \pm S_{\overline{X}}$	RI*, %
C.s. 28	Каміла F_1 (еталон № 1)	98,0±4,2	84,9±3,2	55,4±5,3	56,5	57,4±5,2	67,6
C.s. 30	Amant F_1 (еталон № 2)	63,8±3,2	66,8±1,1	38,6±4,3	60,5	45,8±3,9	68,6
C.s. 1	CU-SAT-20 F_1	65,0±6,8	54,7±1,2	19,3±1,2	29,7	28,1±6,0	43,2
C.s. 6	New mona F_1	66,2±4,9	76,8±5,9	24,5±1,8	37,0	46,0±8,5	59,9
C.s. 24	F_1 (Л Голуб х Л Фан)	50,8±4,8	68,6±2,0	27,2±1,7	53,5	31,4±4,3	45,7
C.s. 25	F_1 (Л Ана х Л 11)	62,4±3,5	73,7±4,2	23,5±1,4	37,7	31,5±3,6	42,7
C.s. 26	F_1 (Л Кузя х Л Голуб)	67,2±4,7	72,3±1,5	27,1±3,2	40,3	41,9±3,9	57,9
C.s. 14	Надія F_1	61,3±2,5	61,5±0,8	26,5±3,6	43,2	36,0±4,6	58,5
C.s. 15	Л F_5I_1 Кузя	49,2±1,7	64,6±1,8	22,2±1,1	45,1	40,8±3,8	63,2
C.s. 20	F_1 (Л 11х Л Голуб)	66,8±2,3	76,2±1,1	25,2±2,2	37,7	35,6±5,9	46,7
C.s. 21	F_1 (Л Мари х Л 11)	79,6±2,6	68,3±2,7	38,3±0,6	48,1	44,5±4,9	65,2
C.s. 2	Accent F_1	61,2±2,9	86,0±6,4	38,6±2,8	63,0	48,8±2,6	56,7
C.s. 22	F_1 (Л Голуб х Л 11)	82,0±4,3	74,7±2,8	52,7±6,2	64,3	51,3±3,1	68,7
C.s. 7	Pioner F_1	66,7±1,2	59,7±3,6	40,2±2,7	58,8	39,0±6,7	65,3
C.s. 23	F_1 (Л Голуб х Л Кузя)	83,3±3,4	82,3±3,8	59,5±8,2	71,4	71,0±6,5	86,3
C.s. 27	F_1 (Л Мари х Л Кузя)	77,4±3,3	73,7±2,4	46,6±4,8	60,2	59,3±4,0	80,5
C.s. 29	AX 0339 F_1	71,0±1,8	73,5±6,7	59,8±4,6	84,2	69,5±6,7	94,5
	Середнє	65,2	71,7	36,1	51,7	45,7	62,9

Примітка: RI* – індекс резистентності

Отже, за результатами досліджень виділено форми огірка з підвищеною толерантністю до ФКР *F. oxysporum*: C.s. 23 (гібрид F_1 (Л Голуб х Л Кузя)),

C.s. 27 (гібрид F_1 (Л Мари х Л Кузя)), C.s. 29 (гібрид F_1 АХ 0339), які за індексом резистентності (RI) перевищували еталонні зразки. Отримані результати дозволяють зробити висновок, що під час культивування апікальних меристем на селективному середовищі із 40 %-м ФКР можливо провести диференціацію зразків за чутливістю на дію токсичних метаболітів грибів роду *Fusarium* і виділити перспективні джерела для селекції. Крім того, можливо надати рекомендації стосовно доцільності використання у складі гібридів певних ліній. У нашому досліді найбільш високий RI було встановлено у трьох генотипів, два з яких були складними гібридами, у яких в якості батьківської лінії була використана лінія Л Кузя, яка виділена шляхом ресинтезу з гібрида F_1 Кузнєчик. Отримані результати дозволяють зробити висновок, що дана лінія є джерелом стійкості до фузаріозного в'янення, яка здатна передавати цю властивість створеним за її участю гібридам, і її використання в селекції є перспективним.

Перевагою методу клітинної селекції в культурі *in vitro* є можливість не тільки оцінити реакцію генотипів, а також провести розмноження кращих пробіркових клонів для їх залучення в селекцію. Користуючись цією можливістю, пробіркові клони зразків з підвищеною толерантністю до 40 % ФКР *F. oxysporum* та рослини-регенеранти аналогічних зразків із контрольного середовища були розмножені, після чого адаптовані до нестерильних умов і висаджені в умови захищеного ґрунту. В теплиці було проведено інбредне запилення кожного зразка й отримано насіннєве покоління R_1, яке передано для використання селекції в ІОБ НААН.

Таким чином, використаний в дослідженнях методичний підхід завдяки своїй швидкості і об'єктивності дозволяє за 9 місяців провести оцінку селекційного матеріалу на стійкість до фузаріозного в'янення та здійснити розмноження перспективних зразків. Також, він дозволяє зберігати цінний селекційний матеріал, отримувати з нього насіння, що, відповідно, сприяє прискоренню процесу добору лабораторними методами в культурі *in vitro* та *in vivo*.

Крім того, застосування лабораторних методів оцінки дозволить суттєво зменшити об'єми польових досліджень і сприятиме покращенню екологічної ситуації завдяки виключення необхідності проводити обробку рослин живими фітопатогенами роду *Fusarium.*

Висновки

1. Встановлено, що 40 % концентрація ФКР збудника *F. oxysporum* у поживному середовищі MS суттєво впливала на розвиток апікальних меристем огірка, що дозволило диференціювати селекційні зразки за чутливістю до селективного середовища і шляхом цілеспрямованого індивідуального добору провести селекцію стійких генотипів в культурі *in vitro*.

2. Рекомендовано для використання у селекції перспективні форми: C.s. 22 (вихідна форма F_1 (Л Голуб х Л 11)), C.s. 23 (вихідна форма F_1 (Л Голуб х Л Кузя)), C.s. 27 (вихідна форма F_1 (Л Мари х Л Кузя)), C.s. 29 (вихідна форма F_1 АХ 0339), які індексом резистентності перевищили еталонні генотипи з визначеною в польових умовах стійкістю до фузаріозного в'янення.

Враховуючи, що оцінка матеріалу проводилась в лабораторних умовах в культурі ізольованих тканин *in vitro*, заплановано проведення оцінки основних господарських ознак і стійкості до *F. oxysporum* створених форм в умовах природного інфекційного фону.

Список використаних джерел

1. Налобова В. Л. Селекция огурца на устойчивость к болезням / В. Л. Налобова. – Минск: «Белпринт», 2005. – 198 с.

2. Игнатова С. А. Биотехнологические основы получения гаплоидов, отдаленных гибридов и соматических регенерантов зерновых и бобовых культур в различных системах *in vitro* : автореф. дис. на соискание учёной степени доктора биол. наук: спец. 03.00.20 «Биотехнология» / Светлана Александровна Игнатова. – Ялта, 2004. – 48 с.

3. Шаяхметов И. Ф. Клеточная селекция яровой пшеницы на устойчивость к корневым гнилям / И. Ф. Шаяхметов, О. В. Сурина, Г. А. Мулюкова // Генетика. – 1994. – № 30. – С. 181.

4. Lebeda A. Variation in response of several wild *Pisum spp. to Fusarium solani and Fusarium oxysporum* / A. Lebeda, L. Svabova // Cereal Res Commun. – 1997. – V. 25. – P. 845-846.

5. Ткачева А. А. Усовершенствованный метод оценки селекционного материла огурца на устойчивость к фузариозному увяданию / А. А. Ткачева, А. В. Поляков, Н. К. Бирюкова // Проблемы научного обеспечения овощеводства юга России: материалы Междун. научно-практической конференции КНИИОКХ РАСХН. – Краснодар, 2004. – С. 70-75.

6. EL-Kazzaz A. A. Inheritance of disease resistance in cucumber plants to root rot caused by *Fusarium solani* using tissue culture techniques / A. A. EL-Kazzaz, EL-Mougy, S. Nehal // Egypt. J. Phytopathol. – 2001. – № 29 (2). – P. 57-68.

7. Рубин Б. А. Биохимия и физиология иммунитета растений / Б. А. Рубин, Е. В. Арциховская, В. А. Аксенов. – М.: Высшая школа, 1975. – 320 с.

8. Клітинні технології створення вихідного селекційного матеріалу основних овочевих рослин в культурі *in vitro* (методичні рекомендації) / Т. В. Івченко, С. І. Корнієнко, С. І. Кондратенко [та ін.]. – Х. : Плеяда, 2013. – 47 с.

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

10. Билай В. И. Фузарии / В. И. Билай. – К.: Наукова думка, 1977. – 443 с.

Reference

1. Nalobova, V. L. (2005). Selektsiya ogurtsa na ustoychivost k boleznyam [Selection of cucumber on disease resistance]. Minsk: «Belprint», 198.

2. Ignatova, S. A. (2004). Biotekhnologicheskie osnovy polucheniya gaploidov, otdalennykh gibridov i somaticheskikh regenerantov zernovykh i bobovykh kultur v razlichnykh sistemakh in vitro [Biotechnological bases of reception haploids and wide hybrids somatic regenerants cereals and legumes in different in vitro systems]. Yalta, 48.

3. Shayakhmetov, I. F., Surina, O. V., Mulyukova, G. A. (1994). Kletochnaya selektsiya yarovoy pshenitsy na ustoychivost k kornevym gnilyam [Cellular selection of spring wheat for resistance to root rot]. Genetika, 30, 181.

4. Lebeda, A., Svabova, L. (1997). Variation in response of several wild *Pisum spp. to Fusarium solani and Fusarium oxysporum.* Cereal Res Commun, 25, 845-846.

5. Tkacheva, A. A., Polyakov, A. B., Biryukova, N. K. (2004). Usovershenstvovannyy metod otsenki selektsionnogo materila ogurtsa na ustoychivost k fuzarioznomu uvyadaniyu [An improved method for evaluation of cucumber breeding material for resistance to Fusarium wilt]. Problems of scientific support for vegetable growing south of Russia: Materials of the International scientific-practical conference KNIIOKH RAAS, Krasnodar, 70-75.

6. EL-Kazzaz, A. A. EL-Mougy, Nehal, S. (2001). Inheritance of disease resistance in cucumber plants to root rot caused by *Fusarium solani* using tissue culture techniques. Egypt. J. Phytopathol, 29 (2), 57-68.

7. Rubin, B. A., Artsikhovskaya, Ye. V., Aksenov, V. A. (1975). Biokhimiya i fiziologiya immuniteta rasteniy [Biochemistry and physiology of plant immunity]. Moscow: Vysshaya shkola, 320.

8. Ivchenko, T. V., Korniienko, S. I., Kondratenko, S. I. et al. (2013). Klitynni tekhnolohii stvorennia vykhidnoho selektsiinoho materialu osnovnykh ovochevykh roslyn v kulturi in vitro (metodychni rekomendatsii) [Cellular technology of initial breeding material basic vegetables in culture in vitro (guidelines)]. Kharkiv: Pleiada, 47.

9. Murashige, T. F., Skoog, A. (1962). Revised medium for rapid growth and bioassay with tobacco tissue cultures. Plant Physiology, 15, 473-497.

10. Bilay, V. I. (1977). Fuzarii [Fusarium]. Kyiv: Naukova dumka, 443.

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ КЛЕТОЧНЫХ ТЕХНОЛОГИЙ *IN VITRO* ДЛЯ ОТБОРА УСТОЙЧИВОГО К ФУЗАРИОЗНОМУ УВЯДАНИЮ (*FUSARIUM OXYSPORUM*) ИСХОДНОГО МАТЕРИАЛА ОГУРЦА

Т. В. Ивченко, Т. И. Виценя, О. В. Сергиенко

Аннотация. *Эффективными способами создания устойчивого к фузариозу исходного материала огурца являются лабораторные методы, использование которых позволяет существенно сократить сроки селекции. Установлено, что использование 40 % культурального фильтрата F. oxysporum в питательной среде оказывает существенное влияние на развитие апикальных меристем огурца, благодаря чему удается дифференцировать селекционные образцы по реакции на селективную среду и путем целенаправленного индивидуального отбора осуществлять селекцию устойчивых генотипов в культуре in vitro. Рекомендованы для использования в селекции перспективные формы: C.s. 22, C.s. 23, C.s. 27, C.s. 29, которые по индексу резистентности превысили эталонные генотипы с подтвержденной в условиях природного инфекционного фона устойчивостью к фузариозному увяданию. Экспериментально установлено, что использованный методический подход позволяет за 9 месяцев провести оценку селекционного материала на устойчивость к фузариозному увяданию, размножить перспективные клоны растений-регенерантов и значительно уменьшить объемы полевых исследований.*

Ключевые слова: *клеточная селекция, оценка, апикальная меристема, источники устойчивости, культуральный фильтрат, питательная среда*

THE USAGE OF CELL TECHNOLOGI *IN VITRO* FOR THE CREATION OF CUCUMBER SOURCE MATERIAL WITH RESISTANCE TO FUSARIUM *(FUZARIUM OXYSPORUM)*

T. V. Ivchenko, T. I. Vitsenya, O. V. Sergienko

Abstract . *The effective ways of creating a Fusarium resistant source material of cucumber are the laboratory methods, using of which allows to reduce the breeding terms significantly. The studies were carried out according to the standard biotechnological methods and using the standard equipment. The studies used the hybrid seeds of cucumber genotypes of* F_1 – F_6 *breeds with different tolerance to Fusarium. Cell selection was carried out in the media with different content of selective agent (20, 40 and 60 % of the total medium's volume). It was determined that using of culture medium containing 40% of F. oxysporum fungal culture filtrate (FCF) influenced considerably at the growth of the apical meristems of cucumber. The impact of toxin FCR complex on the growth and development of the apical meristem was carried out by determining the resistance index – RI. That make possible to differentiate the breeding samples by the reaction to the selective medium and to breed resistant genotypes by the way of purposeful individual selection in vitro. The perspective forms of cucumber C.s. 22 (the initial form* F_1 *(* F_6I_4 *Golubchic x* F_8I_1 *№ 11)), C.s. 23 (the initial form* F_1 *(*F_5I_5 *Golub x* F_1I_3 *Kuzsia)), C.s. 23 (the initial form* F_1 *(*F_5I_5 *Golub x* F_1I_3 *Kuzia))), C.s. 27 (the initial form* F_1 *(*F_1I_4 *Mari x* F_3I_4 *Kuzia))), C.s. 29 (the initial form AX 0339,* F_1*), that exceeded the reference genotypes by the resistance index to Fusarium wilt, are recommended for using in breeding. It was developed experimentally that used methodical approach enables to measure the resistance of breeding material to Fusarium wilt and to propagate perspective clones of the regenerated plants during 9 months, and significantly reduce the scope of field researches. It's also possible to give recommendations regarding the feasibility of using a hybrid a linear material. The use of laboratory evaluation methods allow to significantly reduce the volume of field research and will improve the environmental situation by eliminating the necessity to conduct processing plant necrotroph fungo of the genus Fusarium.*

Key words: *cell selection, evaluation, apical meristem, sources of resistance, fungal culture filtrate, culture medium*