



**МЕТОДИКА
СТВОРЕННЯ ПІДЩЕП ПОМІДОРА
ЗА ВИКОРИСТАННЯ
ТЕХНОЛОГІЙ *INVITRO***

**Тетяна ІВЧЕНКО
Тетяна МІРОШНІЧЕНКО
Наталя БАШТАН
Ганна МОЗГОВСЬКА
Роман КРУТЬКО**



Національна академія аграрних наук України
Інститут овочівництва і баштанництва НААН

**МЕТОДИКА
СТВОРЕННЯ ПІДЩЕП ПОМІДОРА
ЗА ВИКОРИСТАННЯ
ТЕХНОЛОГІЙ *INVITRO***

**Тетяна ІВЧЕНКО
Тетяна МІРОШНІЧЕНКО
Наталя БАШТАН
Ганна МОЗГОВСЬКА
Роман КРУТЬКО**

Селекційне – 2025

Рекомендовано до друку рішенням Вченої ради Інституту овочівництва і баштанництва НААН (протокол № 8 від 10.09.2025 р.).

Методика створення підщеп помідора за використання технологій *in vitro* (методичні рекомендації) / Т.В. Івченко, Т.М. Мірошніченко, Н.О. Баштан, Г.В. Мозговська, Р.В. Крутько. Селекційне : ІОБ НААН, 2025. 24 с.
<https://doi.org/10.32717/agroscience.metod.2025.01>

Автори: Т.В.Івченко, доктор с.-г. наук, професор; Т.М. Мірошніченко, кандидат с.-г. наук; Н.О. Баштан, кандидат с.-г. наук, старший дослідник; Г.В. Мозговська, кандидат с.-г. наук, старший дослідник; Р.В. Крутько, кандидат с.-г. наук

Рецензенти: С.І. Кондратенко, доктор с.-г. наук, с.н.с.,
О.М. Шабетя доктор с.-г. наук, с.н.с.

В методичних рекомендаціях викладено наукові підходи щодо створення підщеп помідора за використання методів культури ізольованих тканин; вимоги до проведення лабораторних робіт, приготування поживних середовищ, які використовуються для клонального розмноження, ембріокультури, зберігання колекцій *in vitro*.

Методика може бути використані фахівцями-біотехнологами під час проведення дослідницьких робіт з овочевими рослинами, селекціонерами, насіннєводами, а також студентами, викладачами, аспірантами, які займаються створенням вихідного матеріалу для селекції і насінництва.

ЗМІСТ

	стор.
ВСТУП	4
1 Вихідний матеріал для створення підщеп	5
2 Схема створення підщепи для помідора з використанням біотехнологічних методів	6
3 Гібридизація	7
4 Методи контролю гібридності насіння	7
5 Ембріокультура і клональне мікророзмноження міжвидових гібридів	10
6 Середньострокове депонування спеціальних колекцій в культурі <i>in vitro</i>	12
7 Лабораторна оцінка біотичної і абіотичної стійкості міжвидових гібридів помідора	13
8 Оцінка сумісності підщеп з культурними зразками помідора за використання технології мікрощеплення	14
9 Оцінка впливу підщеп на господарсько-цінні ознаки рослин помідора	18
10 Результати виробничого випробування перспективних підщеп	18
СПИСОК ВКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ	21
ДОДАТКИ	24

ВСТУП

Помідор (*Solanum lycopersicum* L.) – одна із найбільш розповсюджених овочевих культур, щорічне виробництво якої становить близько 15 % світового виробництва овочів [1]. Ця культура є багатим джерелом мінералів, вітамінів, органічних кислот, незамінних амінокислот, харчових волокон [2]. В Україні помідор вирощують в відкритому ґрунті і в захищеному ґрунті. Серед населення нашої країни зберігається стабільний попит як на свіжі плоди, так і на продукти їх переробки. Основними причинами втрат урожаю помідорів були і залишаються хвороби та несприятливі умови відкритого ґрунту. Також виробництво цієї культури в Україні стикається зі значними проблемами через зростання ціни на енергоносії, добрива. Одним із дієвих інструментів підвищення стресотолерантності та енергоефективності вирощування рослин помідора є щеплення. У країнах із розвиненими технологіями інтенсивного виробництва овочевої продукції (Нідерланди, Японія, Туреччина, Канада, Китай, Південна Корея) вирощування щеплених рослин помідора набуло промислових масштабів [3]. У якості підщеп найчастіше використовують інтрогресивні гібриди, які характеризуються високою стійкістю до хвороб та потужною кореневою системою. Здорова коренева система забезпечує ефективне засвоєння поживних речовин рослиною і тим самим дозволяє реалізувати її генетичний потенціал. Тому щеплення використовують насамперед для вирішення проблеми стійкості до ґрунтової та насіннєвої інфекції помідора (патогенних грибів родів *Cladosporium*, *Verticillium*, *Fusarium*, *Stemphylium*) та нематод [4–6]. В останні роки щеплення також широко застосовують для боротьби з абіотичними стресами, такими, як засолення [7–12], низькі та високі температури [13–15], посуха [16–18], важкі метали [19], а також для збільшення ефективності використання води [20] і поглинання поживних речовин [21], підвищення урожайності [22–25] і якості продукції [26, 27]. Вирощування щеплених рослин не потребує високих доз мінеральних добрив і пестицидів, тому такі рослини, як правило, використовують у технологіях органічного овочівництва [28].

Для успішного щеплення помідора насамперед необхідно визначитись із підщепою, оскільки її ефективність, у поєднанні з прищепою, в різних умовах навколишнього середовища має суттєві відмінності. Підбір енергійних і сильнорослих підщеп є дуже відповідальним етапом для досягнення високої ефективності щеплення [29, 30]. При створенні підщепи насамперед враховують генетичні особливості компонентів щеплення, оскільки від цього залежить сумісність або несумісність прищепи і підщепи.

Прискорити процес селекції сильнорослих високостійких підщеп помідора дозволяють технології *in vitro*. Вони дають можливість не тільки подолати бар'єри несхрещуваності між віддаленими видами та проводити масове мікророзмноження міжвидових гібридів, а й оцінювати та добирати в лабораторних умовах не залежно від сезону зразки за стійкістю до біотичних і абіотичних факторів, визначати та використовувати біомаркери для експрес-оцінки [31–34].

1. ВИХІДНИЙ МАТЕРІАЛ

В якості вихідного матеріалу для створення підщеп помідора використовують дикорослі і напівкультурні види, культурні сорти і лінії. З метою спрощення ідентифікації гібридності як материнську форму під час міжвидового схрещування використовують генотипи культурного помідора з низкою яскравих фенотипічних маркерних ознак, частину яких можна вже виявити на етапі пробіркової рослини – Мо 628 (гени *a*, *e*, *ful*, *hl*); La1527 (*a*, *hr-2*, *B*; CLN2070B (гени *d-2*, *c*); Мо 500 (гени *Wom*, *o*, *aw*, *d*, *r*, *c*, *m-2*), Мо 638 (гени *v-2*, *r*, *a*, *c*, *clau*, *gs*, *gf*, *u*, *v*), сорт Чайка (гени *sp*, *d*, *j-2*, *u*, *I*, *I-2*).

В якості чоловічої форми-запилювача найбільш перспективним є використання наступних видів роду:

S. pimpinellifolium – джерело посухостійкості і стійкості до засолення;

S. habrochaites – джерело стійкості до хвороб, в т.ч. до фузаріозу;

S. melongena – джерело стійкості до підвищених і знижених температур;

S. integrifolium – джерело покращена якість плодів;

S. torvum – джерело стійкості до хвороб і нематод;

S. laciniatum – джерело стійкості до дефіциту вологи у ґрунті;

S. toxicarium – джерело стійкості до хвороб;

S. chilense – джерело соле та посухостійкості, стійкості до таких вірусів, як вірус жовтої кучерявості листя томату (TYLCV) та вірус бронзовості томату (TSWV);

S. cheesmanii var. *minor* – забезпечує захист від комах, зокрема від білокрилки та томатної мінуючої молі (*Tuta absoluta*) та хвороб (*Phytophthora infestans*);

S. chmielewski – стійкість до вірусу мозаїки томату (ToMV) та вірусу огіркової мозаїки (CMV), його гени покращують поглинання фосфору з ґрунту,);

Solanum neorickii – джерело стійкості до вірусу жовтої кучерявості листя томату (TYLCV) та вірусу плямистості томату (ToSV), борошнистої роси (*Oidium neolycopersici*) та стійкості до низьких температур.

При доборі компонентів схрещування враховують той факт, що деякі комбінації щеп мають позитивний вплив на вегетативний ріст і розвиток щеплених рослин, тоді як інші негативно впливають на їх морфологічні показники, урожайність і якість плодів. Фізіологічна несумісність компонентів щеплення може бути зумовлена відсутністю механізму розпізнавання клітин щепами, ефектом різних регуляторів росту, ушкодженням клітин під час трансплантації або утворенням токсинів несумісності на етапі приживлення. Таксономічно близькі прищепи і підщепи мають більш високу сумісність.

2. СХЕМА СТВОРЕННЯ ПІДЩЕПИ ДЛЯ ПОМІДОРА З ВИКОРИСТАННЯМ БІОТЕХНОЛОГІЧНИХ МЕТОДІВ

Створення підщеп помідора за використання біотехнологічних методів здійснюється за наступною методичною схемою (рис.1).



Рис. 1. Основні етапи селекції підщеп помідора за використання біотехнологічних методів

3. ГІБРИДИЗАЦІЯ

Для схрещувань використовують здорові, добре розвинені рослини, типові для даного виду / сорту. Батьківські компоненти схрещувань висаджують в умовах захищеного ґрунту. Площа під кожною лінією має складати 10 м². Для отримання інтрогресивних гібридів необхідно синхронізувати періоди цвітіння батьківських компонентів. Враховують той факт, що такі дикорослі види, як *S. habrochaites*, *S. neorickii* та *S. chmielewski*, відрізняються більш пізніми строками цвітіння та сильнішою реакцією на довжину дня, ніж культурні помідори. Гібридизацію проводять методом ручних схрещувань у вранішні години за використання стандартної технології, викладеної у посібнику «Методики і техніки селекційної роботи з томатом» [35].

Для підвищення ефективності гібридизації контролюють такі умови навколишнього середовища як температура і вологість, оскільки підвищення або зниження температури в період запилення може впливати на життєздатність пилку і зростання пилкових трубок. Висока вологість іноді покращує проростання пилку. Для покращення зав'язуваності гібридного насіння ефективними також є попередня обробка пилку або приймочки цукровим розчином та гормонами (обприскування приймочки або зав'язі за 1–2 день до запилення гібереліном (GA₃) в концентрації 10–50 мг/л, застосовувати електростимуляції або ультразвуку, або індукція розвитку зародка без повноцінного запліднення, або за допомогою слабоактивного пилку (наприклад, радіаційно-інактивованого).

4. МЕТОДИ КОНТРОЛЮ ГІБРИДНОСТІ НАСІННЯ

Оскільки біотехнологічні роботи є досить енерго- та трудомісткими, великого значення набуває рання діагностика гібридності одержаного пробіркового матеріалу передусім за допомогою маркерних ознак. У фазі проростка ідентифіковано гібридність таких проростків за антоціановим забарвленням сім'ядоль і гіпокотилу. Виявлено також відмінність в динаміці проростання зародків, висаджених на живильне середовище. Гібридні зародки вирізняються тривалішим періодом спокою. Висаджене на штучне живильне середовище гібридне насіння *S. lycopersicum* L. (Мо 638) / *L. chilense* діаметром 3,5 мм проросло лише через 2,5 міс.

У умовах захищеного ґрунту проводять морфологічний аналіз сіянців. Спостерігають за такими фенотиповими ознаками, які відрізняються у батьків: форма листка, колір стебла, опушення, антоціанове забарвлення; форма/колір/розмір плоду; наявність шипів на чашолистках (у диких видів). Їх проводять як у умовах захищеного ґрунту, так і в лабораторних умовах. Ґрунтовий (ділянковий) контроль: висівають партію насіння та вирощують рослини до стадії, коли стають чітко помітними їх сортові ознаки. У випадку міжвидових гібридів, це можуть бути відмінності в будові листя, формі та розмірі плодів, стійкості до хвороб, термінах дозрівання тощо (рис. 2). Наявність рослин, що не відповідають цим ознакам свідчить про домішки.



A

B

C



A

B

C



A



B



C

Рис. 2. Морфологічні відмінності між батьківськими формами роду *Solanum* створеними на їх основі міжвидовими гібридами

Примітка: А – *Solanum lycopersicum* L (К-7311); В - *S. habrochaites* (Л);
С – F₁ *S. lycopersicum* / *S. habrochaites*

Лабораторний сортовий контроль: Цей метод передбачає вивчення ознак проростків або молодих рослин у контрольованих лабораторних умовах. Наприклад, можуть оцінюватися особливості кореневої системи, форма сім'ядоліх листків, колір та форма гіпокотилі. Ґрунтовий контроль застосовується на перших етапах перевірки. Оскільки гібриди можуть фенотипово бути подібними до одного з батьків, додатково використовують молекулярно-генетичні методи, які є більш точними та швидкими, оскільки дозволяють визначити гібридність на рівні ДНК. Вони особливо корисні для виявлення гібридів на ранніх стадіях, ще до прояву фенотипічних ознак. При аналізі ДНК насіння гібрида, у ньому повинні бути присутні маркери обох батьків. Найчастіше використовують полімеразну ланцюгову реакцію (ПЛР) для ампліфікації та аналізу цих маркерів:

SSR-маркери (Simple Sequence Repeats): Ці маркери являють собою короткі повторювані послідовності ДНК. Вони є високополіморфними, що дозволяє легко відрізнити генотипи.

SNP-маркери (Single Nucleotide Polymorphisms): Це одонуклеотидні заміни в ДНК. Вони дуже поширені в геномах і можуть бути використані для високоточної ідентифікації.

Молекулярні методи дозволяють не тільки підтвердити гібридність, але й визначити відсоток чистоти гібридного насіння в партії, що є критично важливим для виробників. У табл. 1 наведено порівняльну характеристику різних методів контролю гібридності насіння.

Таблиця 1. Порівняльна характеристика різних методів контролю гібридності насіння.

Метод	Точність	Складність	Характеристика
Морфологічний аналіз	★ ★	Низька	Підходить для попередньої оцінки
Цитологія	★ ★ ★	Середня	Підтвердження міжвидової природи
SSR/ISSR/PCR-маркери	★ ★ ★ ★	Висока	Найнадійніші для селекції
SCAR або SNP-маркери	★ ★ ★ ★	Висока	Дуже точні
Ізозими	★ ★ ★	Середня	Менш популярний зараз
Фенотипові маркери	★ ★	Низька	У комбінації з іншими методами
Тест на стійкість	★ ★ — ★ ★ ★	Низька	Якщо є відповідні гени
Цитофлуориметрія	★ ★ ★ ★	Висока	Потрібна спецтехніка

5. ЕМБРІОКУЛЬТУРА І КЛОНАЛЬНЕ МІКРОРОЗМНОЖЕННЯ МІЖВИДОВИХ ГІБРИДІВ

Маніпуляції із рослинними клітинами і тканинами виконують в лабораторних і польових умовах з дотриманням вимог ISO 17025 [36] та ДСТУ 7645:2014 «Культури овочеві. Метод вегетативного розмноження» [37], з використанням методичних підходів, які використовуються в міжнародній практиці, зокрема згідно з науковими виданнями: «Сучасні методи селекції в овочівництві і баштанництві» [38]; «Клітинні технології створення вихідного селекційного матеріалу основних овочевих рослин в культурі *in vitro*» [39].

Для подолання бар'єрів несхрещуваності між різними видами, які ускладнюють отримання фертильних міжвидових гібридів застосовують методи біотехнології, а саме культивування гібридних зародків на поживних середовищах. Ефективність розмноження гібридів несумісних видів родини *Solanaceae* L. на поживних середовищах у культурі *in vitro* залежить від генотипу та стадії розвитку гібридного зародка на момент його виділення з плода. Для подолання постгамної несумісності і одержання фертильних міжвидових гібридів помідора використовують недозрілі гібридні зародки, які знаходяться у стадії сердечка або торпеди. На цій стадії вони вже не залежать від екзогенного запасу регуляторів росту, що робить їх більш адаптованими до розвитку на штучних середовищах. Усі культуральні роботи проводять у спеціальній біотехнологічній лабораторії, обладнаній відповідно до ДСТУ 7645/2014 [37]. Повітря маніпуляційної кімнати, де знаходиться ламінарний бокс, і поверхні боксу знезаражують за допомогою бактерицидних ламп протягом 30 хвилин. Інструменти і лабораторний посуд дезинфікують у сушильній шафі за температури 140–150 °C протягом 2 годин або автоклавують протягом 50 хвилин під тиском 1 атм. Перед початком роботи ламінарний бокс і руки експериментатора дезинфікують 70 % розчином етилового спирту.

Для введення гібридних зародків і насіння у стерильну культуру через 21–24 доби після запилення плоди помідора поверхнево стерилізують. Їх ретельно промивають проточною водою з миючим засобом, в умовах ламінарного боксу витримують у 70% етиловому спирті протягом 2 хвилин, а потім обпалюють у полум'ї спиртівки. Після цього їх розміщують у стерильні чашки Петрі, розтинають за допомогою скальпелю, вилучають зародки або насіння з використанням зручного для виконавця інструменту – скальпелю, голки або вузького пінцету – і переносять їх у відповідний посуд з живильним середовищем для культивування. При введенні у стерильну культуру насіння з достиглих плодів первинною ознакою гібридності є його низька кількість у плоді (1–2), великий розмір (Ø3,5 мм) і тривалий період спокою насінини, пов'язаний, як правило, з недорозвитком ендосперму.

Простерилізовані насінини для ініціації їх проростання розміщують на твердому на поживному середовищі за прописом MS, доповненому 0,1 мг/л

ГКЗ+0,1 мг/л НОцК. Культивування проводять за освітлення 2000 лк при температурі 23–25 °С протягом 4–8 тижнів.

При одержанні проростків найважливішою маркерною ознакою є наявність або відсутність антоціанового забарвлення, обумовлена генами *a* та *aw 8* (відсутність антоціанового забарвлення). Оскільки усі проростки диких видів помідора усі мають антоціанове забарвлення, а у використаних нами материнських форм воно відсутнє, наявність його у проростка міжвидових гібридів свідчить про гібридність. У подальшому розвитку пробіркової рослини яскравою маркерною ознакою є форма листової пластинки дикого типу і відповідного забарвлення. Істотною маркерною ознакою може бути характерне опушення, його підвищення або, навпаки, повна відсутність. Як правило, цих маркерних ознак достатньо, щоб ідентифікувати одержаний матеріал як гібридний. Таким чином, для ідентифікації гібридності в умовах *in vitro* важливими є ознаки, обумовлені мутантними генами, що відносяться до груп А (модифікації антоціану – інтенсифікація, зменшення, повна відсутність), J (форма і розмір листя, наприклад ген *c* – «картопляний» лист), С, D, Е, F (хлорофільні модифікації, наприклад, ген *m-2* – хлоротичні плями на листі), І – модифікація волосків: підвищення, зменшення, деформація, повна відсутність.

Висаджений на середовища матеріал культивують у спеціально обладнаній люмінесцентними або світлодіодними лампами кімнаті за температури 22–25 °С. Фотоперіод – 16 годин освітлення + 8 годин темноти, інтенсивність освітлення – 2000 лк. Температурний режим у світловій кімнаті регулюють за допомогою кондиціонера і контролюють термометром, інтенсивність освітлення контролюється люксометром.

Для збереження життєздатності висаджених експлантатів в культурі *in vitro* їх необхідно регулярно пересаджувати на свіже поживне середовище. Тривалість одного пасажу становить 20–30 діб. Отримані проростки міжвидових гібридів розмножують мікроживцюванням на безгормональному середовищі MS. Пробіркові рослини довжиною стебла 60–100 мм з п'ятьма і більше справжніми листками у подальшому розмножують мікроживцюванням. Пагін ділять на сегменти з 1 справжнім листком і поміщують по одному у пробірки з рідким безгормональним середовищем MS. Формування кореневої системи у рослин-регенерантів роду *Solanum* зазвичай відбувається навіть на безгормональному середовищі MS; завдяки чому потреби у приготуванні спеціалізованих поживних середовищ для укорінення немає. Перевага даного методу полягає в мінімізації вірогідності виникнення соматичних варіацій під час процесу мікроклонування, що дозволяє розмножувати генетично ідентичні генотипи. У такий спосіб можна із одного проростка за 3–5 місяців одержати до кількох десятків і навіть сотень гібридних пробіркових рослин

Для подолання стерильності у рослин віддалених гібридів і одержання фертильних рослин проводять поліплоїдизацію одержаного пробіркового матеріалу. З цією метою проводять обробку рослин-регенерантів 0,15%

розчином колхіцину у 4% диметилсульфоксиді (ДМСО), які вводять у рослини методом вакуум-фільтрації. Розчин застосовують перед висаджуванням з пробірок у ґрунтосуміш, триразово занурюючи в нього рослини з подальшим ретельним промивання у проточній воді.

За рахунок подолання постгамної несумісності в культурі *in vitro* у 2021 р. одержано міжвидові гібриди помідора у наступних комбінаціях: *S. lycopersicum* L. (Mo 628) / *S. pimpinellifolium* f. *Galapagos*; *S. pimpinellifolium* (БК-109) / *S. esculentum* var. *cerasiforme*; *S. pimpinellifolium* (БК-108) / *S. esculentum* var. *cerasiforme*; *S. lycopersicum* L. (La 1527) / *S. chilense*; *S. lycopersicum* L. (La 1527) / *S. pimpinellifolium* (БК-108); *S. lycopersicum* L. (La 1527) / *S. pimpinellifolium* (БК-109); *S. lycopersicum* L. (Т-5) / *S. neorickii* (БК-117); *S. lycopersicum* / *S. habrochaites*; *S. lycopersicum* L. (CLN 2070В) / *S. chilense*.

6. СЕРЕДНЬОСТРОКОВЕ ДЕПОНУВАННЯ СПЕЦІАЛЬНИХ КОЛЕКЦІЙ В КУЛЬТУРІ *IN VITRO*

Джерелами багатьох цінних генів, здатних вирішити проблеми «генетичної ерозії» і вичерпаності рекомбінаційних можливостей культурного виду помідора *S. lycopersicum* L., є дикорослі види та створені на їх основі міжвидові гібриди. На сьогоднішній день їх насіннєве розмноження на території України ускладнюється внаслідок екстремально високих температур повітря влітку (понад 30–40 °С), які провокують опадання квіток і зав'язей. Таким чином втрачається перспективний селекційний матеріал, в тому числі виділені із природної популяції лінії з рідкісними поєднаннями цінних ознак. Збереження подібних унікальних генотипів має першочергове значення як для селекції, так і для охорони біорізноманіття рослин в цілому. Дієвим підходом до вирішення зазначеної проблеми є створення *in vitro*-колекцій, зокрема депонування в умовах повільного росту культур, яке дозволяє тривалий час підтримувати рослини у життєздатному стані в лабораторних умовах, за необхідності їх розмножувати і надавати для селекційної практики. Суть методу зберігання в умовах повільного росту полягає у збільшенні інтервалів між субкультивуваннями за рахунок зниження швидкості росту і розвитку експлантатів [40]. За рахунок цього можна підтримувати тканини рослин у життєздатному стані без пересаджувань від декількох місяців до декількох років [41]. Він дозволяє підвищити ступінь безпеки зберігання культур внаслідок зменшення кількості фізичних втручань у систему, зменшити можливість виникнення соматональних варіантів і знизити витрати ресурсів на підтримання пробіркового матеріалу.

Депонування в умовах повільного росту широко використовують для коротко- та середньострокового безпересадкового зберігання (зазвичай до 1 року) пробіркових колекцій цінних форм рослин [42]. За використання цього підходу намагаються підібрати такі умови культивування колекційних зразків, які максимально уповільнюють процеси морфогенезу за нормальних

параметрів розвитку культури і сприяють збереженню ознак об'єкта, його життєздатності й цілісності геному.

Факторами, які впливають на інтенсивність росту пробіркових рослин в культурі *in vitro*, є тип експлантату, режими температури та освітлення, склад поживного середовища, тип посуду для культивування, його об'єм, а також об'єм культурального середовища, що використовується для зберігання. Для середньотривалого зберігання колекційних зразків помідора в культурі *in vitro* з метою уповільнення росту рослини-регенеранти рекомендується культивувати на агаризованому поживному середовищі MS з вмістом сахарози 120 г/л. Такі умови зберігання сприяють мінімальному росту і призупиняють процеси старіння. Після закінчення зберігання або у випадку, якщо зразок необхідний в селекційних дослідженнях, пробіркові рослини переводять в умови *in vivo*.

7. ЛАБОРАТОРНА ОЦІНКА БІОТИЧНОЇ І АБІОТИЧНОЇ СТІЙКОСТІ МІЖВИДОВИХ ГІБРИДІВ ПОМІДОРА

Для виділення перспективних генотипів для використання у якості підщеп проводять оцінку стійкості міжвидових гібридів помідора F₁ до засолення, посухи, некротрофних патогенів та зміненого балансу поживних речовин у субстраті проводять скринінг рослин регенерантів міжвидових гібридів помідора F₁ на селективних середовищах в умовах *in vitro*. Застосування лабораторної оцінки рівня стійкості перспективних генотипів помідора в культурі *in vitro* проводять шляхом багаторазової комплексної експрес-оцінки на селективних середовищах MS (Мурасіге і Скута) [43] показників життєздатності і біометричних параметрів калюсів і рослин-регенерантів. Селективні агенти: NaCl 10 г/л (засолення), гідроксипролін 0,1 г/л (посуха), ФКР *Fusarium* spp. 40% (некротрофний патоген). Зміна балансу поживних речовин досягається зміною співвідношення основних компонентів поживного середовища MS (концентрація основних елементів живлення збільшена у 1,5 рази). Контрольний варіант – безгормональне середовище MS без додавання селективних агентів. Експлантати – мікроживці довжиною 10 мм.

У якості тест-систем для оцінки біотичної стійкості генотипів використовують селективне середовище MS, доповнене 40% фільтрату культуральної рідини (ФКР) *Fusarium* spp. від об'єму живильного середовища. Виділення грибів роду *Fusarium* spp. проводять на гербарних зразках помідора, зібраних в полі та у плівкових теплицях Інституту овочівництва і баштанництва НААН за методикою Білай В.І. [44]. В стерильних чашках Петрі на фільтрувальному папері розміщують простерилізований гербарний матеріал, який інкубують за температури 20 °C при розсіяному світлі. Отриманий через 48 годин на межі ураженої та здорової частини тканини пухнастий, павутиноподібний міцелій для отримання чистої культури пересаджують у чашки Петрі з агаризованим

середовищем Чапека, рН середовища – 4–4,5. Матеріал розміщують у термостаті за температури 26 °С. За допомогою мікроскопу здійснюють визначення патогенів за розміром макроконідій. Для додаткового виділення грибів в чисту культуру проводять 3 пересадки через кожні дві доби, після чого чисті культури грибів розмножують 15 діб на аналогічних середовищах. Через два тижні культивування міцелій патогенів *Fusarium* spp. за допомогою шпателя та 5 мг автоклавованої води змивають з поверхні середовища для відокремлення макроконідій. Отриману суспензію в стерильних умовах фільтрують через фільтрувальний папір. Для підрахунку кількості конідій у ФКР, використовують камеру Горяєва. Визначивши необхідну концентрацію конідій ($2 \cdot 10^7$ /мг), суспензію додають у колби в 200 мг рідких середовищ приготованих за прописом Чапека, які витримують 21 день у термостаті за температури 26 °С. Отриману чисту культуральну рідину для подальшого застосування відокремлюють від міцелію центрифугуванням (800 об/хв. впродовж 20 хв), після чого додатково очищують послідовним пропусканням через паперові фільтри (розмір пор до 1,2 мкм).

Стерильні мікроживці довжиною 10 мм висаджують на селективні середовища для оцінки біо- та абіотичного стресу. Культивування рослин-регенерантів проводили за освітлення 1000 лк, температура 23–25 °С. Вплив селективних факторів на біометричні показники пробіркових рослин – відсоток життєздатності і укоріненості експлантів, висоту рослин-регенерантів і довжину їх кореневої системи проводять через 4 тижні культивування на селективних середовищах.

Для порівняння впливу на фенотип живців помідора селективних середовищ в культурі *in vitro* використовують вирощування рослин досліджуваних генотипів на контрольному варіанті, на якому живці вирощують на стандартному складі поживного середовища за прописом MS.

За комплексом ознак в умовах ізольованої культури найбільш стійкими до біотичного та абіотичного стресів виявились гібриди з *S. habrochaites* (БК-88 і БК-91 – Т-5 / *S. habrochaites*, БК-96 – К-7311 / *S. habrochaites*) і *S. pimpinellifolium* / *S. lycopersicum* var. *cerasiforme* (БК-156). Дані зразки відзначаються високою силою росту, активним коренеутворенням на різних селективних середовищах та розвиненою кореневою системою, що робить їх перспективними для використання у якості підщеп помідора.

8. ОЦІНКА СУМІСНОСТІ ПІДЩЕП З КУЛЬТУРНИМИ ЗРАЗКАМИ ПОМІДОРА ЗА ТЕХНОЛОГІЇ МІКРОЩЕПЛЕННЯ

Для успішного щеплення помідора насамперед необхідно визначитись із підщепою, оскільки її ефективність, у поєднанні з прищепою, в різних умовах навколишнього середовища, має суттєві відмінності. Тому підбір енергійних і сильнорослих підщеп є дуже відповідальним етапом для досягнення високої ефективності щеплення. При створенні підщепи

насамперед враховують генетичні особливості компонентів щеплення, оскільки від цього залежить сумісність або несумісність прищепи і підщепи.

Для швидкої оцінки сумісності великої кількості щеп із різним вегетативно-генеративним балансом проводять мікрощеплення пробіркових рослин щеп підщеп (міжвидових гібридів F₁) та прищеп (районованих сортів і гібридів F₁). Оцінку проводять за розробленим патентом на корисну модель «Спосіб мікрощеплення рослин помідора в культурі *in vitro*» [45].

Спосіб здійснюється за наступною методичною схемою.

I ЕТАП:

Для отримання стерильних експлантатів насіння сортів помідора (прищеп) та міжвидових гібридів F₁ *Solanum lycopersicum* L (T-5) / *S. habrochaites* (підщеп) стерилізують у 30% розчині гіпохлориту натрію у концентрації 30 % з експозицією обробки 25 хвилин, після чого промивають 5 разів стерильною дистильованою водою. Простерилізовані насінини для ініціації проростання розміщують на агаризованому або рідкому безгормональному поживному середовищі за прописом MS [9], доповненому 3% сахарози та вітамінами (тіамін 1 мг/л, піридоксин 1 мг/л, нікотинова кислота 1 мг/л), рН – 6,0. Культивування проводять за освітлення 2000 лк при температурі 23–25 °С. Подальші маніпуляції з рослинним матеріалом здійснюються із дотримуються стандартизованих методик [10] в культурі *in vitro*.

II ЕТАП:

Через 14 діб у пробіркових експлантатів-підщеп діаметром мікопагонів 2 мм у фазі першої пари справжніх листків відрізають скальпелем верхівку, залишив у поживному середовищі кореневу систему і гіпокотель довжиною 30 мм. Їх щеплять з видаленими верхівками пробіркових експлантатів-прищеп, які мають діаметр міко пагонів 2 мм і довжину 20–25 мм. У якості фіксатора щеп використовують сегменти розрізаної по твірній стерильної силіконової трубки довжиною 20 мм, із внутрішнім діаметром 3,0 мм і товщиною стінки 1,0 мм.

III ЕТАП:

Фіксація прищепи з підщепою проводиться за використання простерилізованої за використання ультрафіолету силіконової трубочки, яка попередньо розрізається по твірній. Вона одним кінцем надівається на підщепу, надалі в інший вільний отвір вставляється прищеп. Для щільного прилягання компонентів щеплення один до одного силіконову трубку фіксують стрейч-плівкою. Для цього попередньо харчову плівку товщиною 8–30 мкм нарізають смужками завширшки 15 мм. Процес фіксації розпочинають знизу до гори за спіральним напрямом із нахльстом країв плівки один на один з обов'язковим натягуванням плівки. Під час обмотки слідкують аби не змістились підщепи та прищепи і забезпечують їх щільне прилягання один до одного.

IV ЕТАП:

Для зростання щеплені пробіркові рослини висаджують у банки об'ємом 250 мл з додаванням 35 мл стерильного рідкого поживного середовища

½ MS, доповненого 3% сахарози та вітамінами (тіамін 1 мг/л, піридоксин 1 мг/л, нікотинова кислота 1 мг/л), рН – 6,0. Для фіксації рослин у рідкому поживному середовищі в нього додають перед автоклавуванням 10 г/л перліту. Стерильність поживного середовища забезпечували за рахунок додавання 5 мл/л розчину РРМ™, який додавали у стерильне середовище через мікрофільт Millipore з порами 0,20 мм [10]. Після висаджування регенерантів у банки їх закривають стрейч-плівкою. Процедура зрощування і підрощування щеплених рослин проводять впродовж 10-ти діб за 16-годинного фотоперіоду за температури +20...+22 °С при освітленні у 1 тис. люкс.

V ЕТАП:

Адаптацію мікрощеп до нестерильних умов проводять без виймання із культуральних ємностей, в яких вони вирощувались. Банки із щепленими рослинами встановлюють у плівковий тунелі, у якому забезпечують рівень вологості 90–95%, температури: вдень 20–22 °С, вночі 18–20 °С, освітленість – від 1 до 2 клк. Для загартування рослин до умов *ex vitro* протягом наступного тижня поступово збільшують кількість отворів у стрейч-плівці, якою закриті банки із рослинами та підвищують інтенсивність освітлення. Через 10–14 діб за використання встановлених біомаркерів (висоти щеплених пробіркових рослин і показників розвитку їх кореневої системи) серед великої кількості комбінацій щеп відбирають перспективні підщепи, які у подальшому оцінюють вмовах захищеного ґрунту. Для цього пересаджені у горщики із субстратом для розсади адаптовані рослини переносять у розсадне відділення теплиці, у якому вони впродовж 5–6 тижнів підрощують і надалі висаджують в плівкову теплицю вже для подальшої селекційної оцінки.

За рекомендованого способу адаптації зростання щеп відбувається на 5 днів раніше і становить 85,0–90,0 %, завдяки чому за використання встановлених біомаркерів проводиться експрес-оцінка перспективних в селекції підщеп помідора, що дозволяє в лабораторних умовах прискорювати селекцію і відібрати перспективні підщепи помідора.

За використання розробленого фіксатора і пробіркових експлантатів у фазі першої пари справжніх листків довжиною 30 мм і діаметром мікропагонів 2 мм, патент на корисну модель № 158632 МПК А01Н 1/04 (2006.01), А01Н 5/10 (2018.01), «Спосіб мікрощеплення рослин помідора в культурі *in vitro*» на 5 діб прискорює швидкість і підвищує результативність зростання щеп до 85,0–90,0% у поєднанні з високою силою росту щеплених рослин, а також продуктивністю, стійкістю до біотичних і абіотичних факторів за вирощування в умовах захищеного ґрунту.

Як біомаркери для експрес-оцінки ефективності підщеп в культурі *in vitro* оцінюють наступні показники: частка мікрощеп, що зросли; швидкості їх зростання між собою; біометричних параметрів (висота пробіркових рослин, довжина кореневої системи, діаметр пагона) щеплених пробіркових рослин у порівнянні з нещепленими та самощепленими (щепленими на

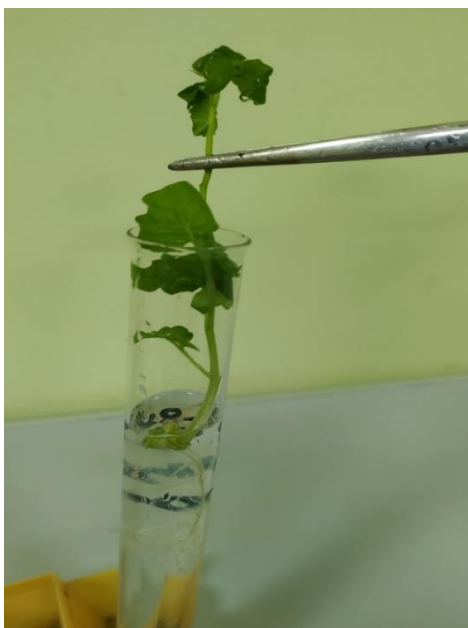
власний корінь) рослинами відповідного сорту/гібриду. Ефективність щеплення на досліджувані підщепи складала у середньому від 93 (Роялпінк F₁ / БК-96) до 99% (Арон F₁ / БК-88, Арон F₁ / Кайзер F₁).



А



В



С



Д

Рис. 2. – Елементи способів адаптації щеплених пробіркових рослин помідора: А) щеплена рослина у банці із середовищем $\frac{1}{2}$ MS з додаванням перліту; В) адаптація без пересаджування; С) підрощена для адаптації щеплена рослина помідора; Д) пересаджений у торф'яну таблетку регенерант

9. ОЦІНКА ВПЛИВУ ПІДЩЕП НА ГОСПОДАРСЬКО-ЦІННІ ОЗНАКИ РОСЛИН ПОМІДОРА

Адаптовані щеплені рослини помідорів досліджуваних комбінацій вирощують у неопалюваній скляній теплиці на краплинному зрошенні для оцінки їх господарських характеристик. Схема посадки: ширина міжрядь 0,9 м та 0,5 м, відстань між рослинами в рядку 0,35 м. Досліджують вплив щеплення на біометричні параметри рослин, рівень їх біотичної стійкості, урожайність і хімічний склад плодів. Біометричні вимірювання та морфологічну оцінку рослин помідора здійснюють згідно методики проведення експертизи сортів на відмітність, однорідність та стабільність [46]. Фітопатологічну оцінку проводять за «Методикою проведення фітопатологічних досліджень за штучного зараження рослин». [58]. Біомаркерами ефективності підщеп в ґрунтових умовах є параметри розвитку листка, габітус рослини, % зав'язуваності плодів за екстремальних температурних умов.

Для встановлення впливу підщепи на якість отриманих плодів у рослин помідора проводять дослідження з визначення хімічного складу плодів щеплених та нещеплених рослин. Оцінюють такі показники як масова частка розчинних сухих речовин (РСР) та загального цукру, вміст аскорбінової кислоти.

10. РЕЗУЛЬТАТИ ВИРОБНИЧОГО ВИПРОБУВАННЯ ПЕРСПЕКТИВНИХ ПІДЩЕП

Випробували три варіанти підщеп: перспективні гібриди F₁ БК-88 (Т-5 / *S. habrochaites*), БК-96 (F₁ К-7311 / *S. habrochaites*) та районована підщепа Kaiser F₁ компанії Rijk Zwaan (контроль), на які прищеплювались районовані гібриди з генеративним типом розвитку: F₁ Наргіза (Rijk Zwaan), Арон і Роял Пинк (Enza Zaden).

Отримання щеплених рослин проведено в ІОБ НААН в період з січня по березень 2024 року за використання класичної схеми щеплення помідорів для зимових теплиць. При появі 20% сходів касети з сіянцями підрощувалися в контрольованих умовах температури і освітлення. Щеплення проводили на 14 добу від отримання масових сходів. З'єднання компонентів схрещування проводили за допомогою силіконових кліпсів діаметром від 1,6 до 2,3 мм. За прищепу було використано верхівки розсади із двома справжніми листками. Зрощування компонентів щеплення відбувалося впродовж 10 діб в контрольованих умовах освітлення, температури і вологості повітря. На одинадцяту добу щеплені рослини були пікіровані в горщики об'ємом 1000 см³ та через два тижня підрощування передавались для випробування їх господарських характеристик у виробничих умовах в плівковій теплиці без обігріву.

Таблиця 2. Результати аналізу продуктивності і урожайності щеплених рослин помідора, 2024 р.

Назва гібрида	Продуктивність, кг/1 рослину	Загальна урожайність, кг/м ²
Наргіза F ₁ , контроль	9,32	23,3
Наргіза F ₁ / БК-88	8,56	21,4
Наргіза F ₁ / БК-96	9	22,0
Наргіза F ₁ / Кайзер F ₁	10	25,0
Арон F ₁ , контроль	9,9	24,7
Арон F ₁ / БК-88	11,5	28,7
Арон F ₁ / БК-96	12,1	30,2
Арон F ₁ / Кайзер F ₁	10,8	27,0
Роял Пінк F ₁ , контроль	1,2	5,8
Роял Пінк F ₁ / БК-88	2,5	12,3
Роял Пінк F ₁ / БК-96	2,7	11,4
Роял Пінк F ₁ / Кайзер F ₁	2,2	10,9

Оцінка результатів випробування. За вирощування щеплених помідорів у плівковій теплиці без обігріву за пізньовесняного строку висадки розсади впродовж всього сезону вирощування рослин, і особливо в кінці сезону, спостерігалось підвищення сили росту рослин, обумовлене одержанням прищепою завдяки підщепі необхідної стійкості та розвитку потужнішої кореневої системи. Здорова коренева система забезпечує ефективне засвоєння поживних речовин рослиною, тим самим забезпечуючи підвищення урожайності і якості продукції. Основна перевага вирощування щепленого помідора полягала насамперед у зниженні витрат на проведення обробок рослин проти хвороб і шкідників. Завдяки високому імунітету рослин кількість обробок зменшена з десяти до трьох. Рослини щепленого помідора за екстремальної температури повітря в липні місяці (вище 35 °С) формували зав'язі, тоді як у не щеплених рослин постерігалась висока стерильність пилку, через що не відбувалось запліднення і формування плодів.

При щепленні рослин гібрида Наргіза F₁ підвищення врожайності спостерігалось лише за використання у якості підщепи гібрида Кайзер F₁, але воно було не суттєвим. Також щеплення не дозволило подолати ураження рослин цього гібрида бактеріальною інфекцією. Поєднання досліджуваних підщеп з гібридом Арон F₁ сприяло значному підвищенню врожайності, порівняно з контролем (без щеплення). Максимальна урожайність цього гібрида отримана при використанні у якості підщепи гібрида БК-96. За цієї комбінації отримано врожай помідора 30,2 кг/м², що на 22% вище контролю і

на 13% вище за щеплення на гібрид Кайзер F₁ 27,0 кг/м². Найвища ефективність щеплення спостерігалась при щепленні гібрида Роял Пінк F₁. Всі три досліджені підщепи забезпечили суттєве підвищення врожайності плодів. Так, в варіанті щеплення на гібрид Кайзер F₁ урожайність підвищувалась на 87% порівняно з контролем, а у варіантах щеплення на експериментальні зразки селекції ІОБ НААН врожайність підвищувалась від 96% (БК-96) до 112% (БК-88). Підвищення врожайності щепленого помідора відбувалось за рахунок збільшення маси товарного плоду та відсотка зав'язування плодів.

Рекомендації виробництву. Рекомендується вирощувати щеплену розсаду помідора для підвищення врожайності і якості культури за вирощування в плівкових теплицях без обігріву. При підборі оптимальної підщепи необхідно враховувати агротехніку вирощування рослин, та сортові особливості прищепи. Створені в Інституті овочівництва і баштанництва підщепи БК-96 та БК-88 є перспективними для впровадження у виробництво.

СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. FAO, (2020). Statistical Database. Food and agricultural organization of the united nations. Available at <http://www.faostat.fao.org>
2. Agarwal S., Rao, A.V. (2000) Tomato *Lycopene* and Its Role in Human Health and Chronic Diseases. *Canadian Medical Association Journal*, 163, 739–744.
3. Flores B.F., Sanchez-Bel P., Estan M.T., Martinez Rodriguez M.M., Moyano E., Morales B., Campos J.F., Garcia-Abellan J.O., Egea M.I., Fernandez-Garcia N., Romojaro F., Bolarin M.C. (2010). The effectiveness of grafting to improve tomato fruit quality. *Scientia Horticulturae*, 126: 211–217.
4. Rivard C., Louws F. (2006). Grafting for disease resistance in heirloom tomatoes. North Carolina Coop. Ext. Serv. Bul. Ag-675.
5. Lo´pez-Pe´rez, J.A., M. LeStrange, I. Kaloshian, and A.T. Ploeg. (2006). Differential response of Mi gene-resistant tomato rootstocks to root-knot nematodes (*Meloidogyne incognita*). *Crop Protection* 25:382–388.
6. Kumar, P., Y. Roupahel, M. Cardarelli, and G. Colla. (2017). Vegetable grafting as a tool to improve drought resistance and water use efficiency. *Front. Plant Sci.*, Vol. 8, P. 1130.
7. Colla G., Roupahel Y., Jawad R., Kumar P., Rea E., Cardarelli M. (2013). The effectiveness of grafting to improve NaCl and CaCl₂ tolerance in cucumber. *Sci. Hort.* 164:380–391.
8. Santa-Cruz A., Martinez-Rodriguez M.M., Perez-Alfocea F., Romero-Aranda R., Bolarin M.C. (2002). The rootstock effect on the tomato salinity response depends on the shoot genotype. *Plant Sci.* 162:825–831.
9. Colla, G., Roupahel Y., Leonardi C., Bie Z.. (2010). Role of grafting in vegetable crops grown under saline conditions. *Sci. Hort.* 127:147–155.
10. Cuartero J., Bolarin M.C., Asins M.J. Moreno V. (2006). Increasing salt tolerance in the tomato. *J. Expt. Biol.* 57:1045–1058.
11. Estan M.T., Villalta I., Bolarin M.C., Carbonell E.A., Asins M.J. (2009). Identification of fruit yield loci controlling the salt tolerance conferred by solanum rootstocks. *Theor. Appl. Genet.* 118:305–312.
12. Santa-Cruz, A., Martinez-Rodriguez M.M., Cuartero J., Bolarin M.C. (2001). Response of plant yield and ion contents to salinity in grafted tomato plants. *Acta Hort.* 559:413–417.
13. Venema, J.H., Dijk B.E., Bax J.M., Hasselt P.R., Elzenga J.T.M. (2008). Grafting tomato (*Solanum lycopersicum*) onto the rootstock of a high-altitude accession of *Solanum habrochaites* improves suboptimal temperature tolerance. *Environ. Expt. Bot.* 63:359–367.
14. Abdelmageed A.H.A., N. Gruda. (2009). Influence of grafting on growth, development and some physiological parameters of tomatoes under controlled heat stress conditions. *Eur. J. Hort. Sci.* 74:16–20
15. Rivero R.M., Ruiz J.M., Romero L. (2003). Can grafting in tomato plants strengthen resistance to thermal stress? *J. Sci. Food Agr.* 83:1315–1319.

16. Altunlu H., Gul A. (2012). Increasing drought tolerance of tomato plants by grafting. Fifth Balkan Symposium on Vegetables and Potatoes 960:183–190.
17. Bhatt R.M., Upreti K.K., Divya M.H., Bhat S., Pavithra C.B., Sadashiva A.T. (2015). Interspecific grafting to enhance physiological resilience to flooding stress in tomato (*Solanum lycopersicum* L.). *Sci. Hort.* 182:8–17.
18. Sanchez-Rodríguez, E., L. Romero, and M.J. Ruiz. (2013). Role of grafting in resistance to water stress in tomato plants: Ammonia production and assimilation. *J. Plant Growth Regul.* 32:831–842.
19. Singh H., Kumar P. (2017). Tomato Grafting: A Global Perspective ICAR – HORTSCIENCE 52 (10) : 1328–1336. <https://doi.org/10.21273/HORTSCI11996-17>
20. Cohen, S. and A. Naor. (2002). The effect of three rootstocks on water use, canopy conductance and hydraulic parameters of apple trees and predicting canopy from hydraulic conductance. *Plant Cell Environ.* 25:17–28.
21. Goto R., Miguel J., Ignacio Marsal., Gorbe E., Calatayud A. (2013). Effect of different rootstocks on growth, chlorophyll a fluorescence and mineral composition of two grafted scions of tomato. *J. Plant Nutr.* 36:825–835.
22. Kacjan-Marsic N., Osvald J. (2004). The influence of grafting on yield of two tomato cultivars (*Lycopersicon esculentum* Mill.) grown in a plastic house. *Acta Agr. Slov.* 83:243–249.
23. Khah E.M., Kakava E., Mavromatis A., Chachalis D., Goulas C. (2006). Effect of grafting on growth and yield of tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill.) in greenhouse and open-field. *J. Appl. Hort.* 8:3–7.
24. Pogonyi A., Pek Z., Helyes L., Lugasi A. (2005). Effect of grafting on the tomato's yield, quality and main fruit components in spring forcing. *Acta Aliment.* 34:453–462.
25. Turhan A., Ozmen N., Serbeci M.S., Seniz V. (2011). Effects of grafting on different rootstocks on tomato fruit yield and quality. *Hort. Sci. (Prague)* 38:142–149.
26. Lee J.M., C. Kubota, S.J. Tsao, Z. Bie, P. Hoyos Echevarria, L. Morra, M. Oda. (2010). Current status of vegetable grafting: Diffusion, grafting techniques, automation. *Sci. Hort.*, 127, P. 93–105.
27. Hussain G., Raja N., Wani Z., Mirl M., Rather Z., Bhat K. (2014). Micrografting for fruit crop improvement. *African Journal of Biotechnology* 13(25): 2472-2483p. <https://doi.org/10.5897/AJB2013.13602>
28. Wang M. R., Bettoni J.C., Zhang A. L., Lu X., Zhang D., Wang, Q. C. (2022). In vitro micrografting of horticultural plants: Method Development and the Use for Micropropagation. *Horticulturae*, № 8, P. 576–592.
29. Guan W., Zhao X., Hassell R., Thies J. (2012). Defense mechanisms involved in disease resistance of grafted vegetables. *Hort. Science* 47:164–170.
30. Lee J.M. (2003). Advances in vegetable grafting. *Chron. Hort.* 43:13–19.
31. Taşkın H., Baktemur G., Kurul M., Büyükalaca S. (2013). Use of tissue culture techniques for producing virus-free plant in garlic and their identification through real-time PCR. *Sci World J* 13:5.
32. Triganio R. N., Windham M. T., Windham A. S. (2004). Concepts and Laboratory Exercises. *Plant Pathology: CRC Press*. 413 p.

33. Emilio A., Cano F., Vicente M. (2005). Evaluation of salt tolerance in cultivated and wild tomato species through in vitro shoot apex culture. *Plant cell, tissue and organ culture*. 53:19–26.
34. Gaspar T., Franck T., Bisbis B. et al. (2002). Concepts in plant stress physiology. Application to plant tissue cultures. *Plant Growth Regul.* 37:263–285.
35. Кравченко В. А., Приліпко О. В. (2001). Методики і техніки селекційної роботи з томатом. *Аграрна наука*. 84 с.
36. ДСТУ ISO/IEC 17025:2017 МІЖНАРОДНИЙ СТАНДАРТ ISO/IEC 17025:2017 року «Загальні вимоги до компетентності випробувальних та калібрувальних лабораторій» <https://www.iso.org/standard/66912.html>
37. ДСТУ 7645:2014 Культури овочеві. Метод вегетативного розмноження *in vitro*/ Т. В. Івченко, В. Ю. Гончаренко, О. М. Гончаров, Г. І. Яровий, Т. І. Віценя. [Чинний від 2015–01–01]. Київ : Держспоживстандарт України, 2014. 21 с.
38. Сучасні методи селекції овочевих і баштанних культур (2001). За ред. Т. К. Горової, К. І. Яковенка. Х. 644 с.
39. Івченко Т. В. (2013). Клітинні технології створення вихідного селекційного матеріалу основних овочевих рослин в культурі *in vitro*: методичні рекомендації; підгот. : Т. В. Івченко, С. І. Корнієнко, С. І. Кондратенко та ін. / НААН. Інститут овочівництва і баштанництва. Харків : Плеяда, 47 с.
40. Chauhan, R., Singh, V., Quraishi, A. (2019). *In vitro* conservation through slow-growth storage. In Faisal, M., Alatar, A. A. (Eds.), *Synthetic seeds* (397–416). Springer Nature Switzerland AG. https://doi.org/10.1007/978-3-030-24631-0_19
41. Kulus, D. (2018). Genetic resources and selected conservation methods of tomato. *Journal of Applied Botany and Food Quality*, 91: 135–144. <https://doi.org/10.5073/JABFQ.2018.091.019>
42. Ivchenko, T., Miroshnichenko, T., Bashtan, N., Mozgovska A., Krutko, R., & Shabetya, O. (2023). Добір *in vitro* міжвидових гібридів помідора F1 , придатних для використання в якості підщеп. *Овочівництво і баштанництво*, (72), 6–14. <https://doi.org/10.32717/0131-0062-2022-72-6-14>
43. Murashige T. (1962). A revised medium for rapid growth and bioassay with tobacco tissue cultures. *Plant Physiology*. № 15. P. 473–497.
44. Билай В. И. (1977). Фузариин / В. И. Билай. Київ : Наукова думка, 443 с.
45. Патент на корисну модель № 158632 МПК А01Н 1/04 (2006.01), А01Н 5/10 (2018.01), Спосіб мікрощеплення рослин помідора в культурі *in vitro*, винахідники: Івченко Т. В., Мірошніченко Т. М., Баштан Н. О., номер заявки у 2024 00462 від 29.01.2024, чинний з 06.03.2025, бюл. №10.
46. Методика експертизи сортів на відмінність, однорідність та стабільність (ВОС). Овочеві, баштанні культури та картопля (2004). Охорона прав на сорти рослин. Офіційний бюлетень. Мінагрополітики України, Держслужба з охорони прав на сорти рослин. 1, ч. 2. 252 с.
47. Методика проведення фітопатологічних досліджень за штучного зараження рослин. Український інститут експертизи сортів рослин. 2016. 73 с. <https://sops.gov.ua/uploads/page/5a5f418eb746e.pdf>

Додаток А. Склад спеціальної колекції зразків роду *Solanum* для створення підщеп помідора

№	Зразок	№ біотехнологічного каталогу	Маркерні гени	Рік урожаю
Зразки культурного помідора з маркерними ознаками				
1	Мо 628	БК-110	a, e, ful, hl	2017
2	CLN 2070B	БК-111	a, hp-2, B	2017
3	La 1527	БК-112	d-2, c	2019
4	Чайка	БК-113	d	2018
5	Роса	БК-114	c	2018
Дикорослі види і напівкультурні різновиди помідора				
1	<i>S. pimpinellifolium</i> (д. 371)	БК-108		2022
2	<i>S. pimpinellifolium</i> (д. 372)	БК-109		2022
3	<i>S. pimpinellifolium</i>	БК-82		2022
4	<i>S.habrochaites</i>	БК-78		2022
5	<i>S. habrochaites</i> var. <i>glabratum</i>	БК-79		2022
6	<i>S. chilense</i>	БК-80		2022
7	<i>S. cheesmanii</i> var. <i>minor</i>	БК-83		2022
8	<i>S. pimpinellifolium</i> f. <i>Galapagos</i> Rick.	БК-84		2022
9	<i>S. esculentum</i> var. <i>cerasiforme</i>	БК-81		2022
10	<i>S. chmielewski</i>	БК-115		2022
11	<i>S. neorickii</i>	БК-116		2022
12	<i>S. neorickii</i>	БК-117		2022
13	<i>S. neorickii</i>	БК-118		2022