

Міністерство освіти і науки України
Харківський національний університет імені В. Н. Каразіна

Факультет (навчально-науковий інститут)
біологічний

Кафедра
фізіології і біохімії рослин та мікроорганізмів

До захисту допущено

Кафедрою фізіології і біохімії рослин та мікроорганізмів
протокол № 6 від 3.12.2025

завідувач кафедри



(підпис)

Ольга Авксентьєва

(ім'я, прізвище)

«3» грудня 2025 р.

Кваліфікаційна робота

здобувача _____ другого (магістерського) _____ рівня вищої освіти
(першого (бакалаврського) / другого (магістерського))

ВПЛИВ КУЛЬТУРАЛЬНОГО ФІЛЬТРАТУ *FUSARIUM SPP.* НА
РОСТОВІ ПРОЦЕСИ ТА ЗАХИСНІ РЕАКЦІЇ *PISUM SATIVUM L.*

(назва роботи)

Спеціальність (спеціалізація) _____ 091 Біологія та біохімія _____

(код та найменування спеціальності; спеціалізації спеціальності -
за наявності)

Освітня програма _____ Біологія _____

(назва освітньої програми)

Виконавець



Катерина Ястремська

(підпис)

(ім'я, прізвище)

Науковий керівник



(підпис)

Ольга Авксентьєва

(ім'я, прізвище)

Консультант



(підпис)

Євгенія Батуєва

(ім'я, прізвище)

Харків – 2025

АНОТАЦІЯ

Ястремська К. В. Вплив культурального фільтрату *Fusarium spp.* на ростові процеси та захисні реакції *Pisum sativum* L. – кваліфікаційна робота магістра / наук. кер. к.б.н., доц. Авксентьєва О. О. – Харківський національний університет імені В.Н. Каразіна, 2025. – 92 с., 18 рис., 4 табл., 109 джерел, 4 додатки.

Метою роботи було провести комплексне дослідження, основна частина якого полягала у визначенні показників ростової реакції, морфогенезу та антиоксидантної системи двох сортів гороху посівного під впливом культурального фільтрату *Fusarium spp.*

Дослідження складалося з трьох частин: скринінг сортів гороху посівного з метою відбору двох сортів з різною чутливістю для подальших досліджень; дослідження впливу селективного (червоного та синього) світла на ріст та нестатеве спороношення *Fusarium oxysporum*; дослідження ростової, морфогенетичної та захисної реакції гороху посівного на біотичний стрес, спричинений метаболітами *Fusarium spp.*

Об'єктами дослідження були мікроміцет *Fusarium oxysporum* та проростки гороху посівного двох сортів: Царевич (стійкий) та Оплот (умовно чутливий). В роботі використовували стандартні біотехнологічні, мікробіологічні, морфометричні, біохімічні та статистичні методи. Робота виконана на базі лабораторії кафедри фізіології, біохімії рослин та мікроорганізмів.

В результаті досліджень на основі показників проростання насіння було обрано два контрастні сорти: сорт Царевич – стійкий, сорт Оплот – умовно чутливий. Встановлено, що фотоопромінення синім світлом (450 нм) сприяє росту колоній та конідієношенню *Fusarium oxysporum*, тоді як червоне світло (660 нм), навпаки, має інгібуючий ефект. Дослідження проростків у гідропонній культурі показали, що культуральний фільтрат *Fusarium spp.* пригнічує ріст та розвиток гороху посівного, при цьому найбільше страждає коренева система. Внаслідок біохімічного аналізу

проростків виявлено, що активність ферментів та вміст сполук з антиоксидантною активністю переважно вищі у стійкого сорту порівняно з чутливим, що може свідчити про участь компонентів антиоксидантної системи у забезпеченні стійкості рослин до біотичного стресу. Аналіз вмісту калози та фотосинтетичних пігментів підтвердив більш ефективний захист та адаптивність рослин стійкого сорту, порівняно з чутливим.

Ключові слова: *Pisum sativum* L., *Fusarium spp.*, антиоксидантна система, ростова реакція, морфогенез, H_2O_2 , пероксидаза, фенольні сполуки, поліфенолоксидаза, калоза.

ABSTRACT

Yastremska K. V. The effect of *Fusarium spp.* culture filtrate on the growth processes and protection responses of *Pisum sativum* L. – master's thesis / scientific advisor:

O. O. Avksentieva, Ph.D., associate professor – V. N. Karazin Kharkiv National University, 2025. – 92 p., 18 figs., 4 tables, 110 sources, 4 appendices.

The aim of the study was to carry out a comprehensive investigation, the main part of which consisted in assessing the growth response, morphogenesis, and antioxidant system of two field pea varieties under the influence of *Fusarium spp.* culture filtrate.

The study consisted of three parts: varietal screening to select two varieties with different sensitivities for further research; investigation of the effect of selective (red and blue) light on the growth and asexual sporulation of *Fusarium oxysporum*; assessment of the growth, morphogenetic, and protective responses of field peas to biotic stress caused by metabolites of *Fusarium spp.*

The objects of the study were the micromycete *Fusarium oxysporum* and seedlings of two field pea varieties: Tsarevich (resistant) and Oplot (conditionally sensitive). Standard biotechnological, microbiological, morphometric, biochemical, and statistical methods were used in the study. The research was conducted in the laboratory of the Department of Physiology, Biochemistry of Plants and Microorganisms.

As a result of research, based on seed germination indicators, two contrasting varieties were selected: the resistant variety Tsarevich and the conditionally sensitive variety Oplot. It was found that blue light irradiation (450 nm) promotes the growth of colonies and conidiation of *Fusarium oxysporum*, while red light (660 nm) has an inhibitory effect. Studies of seedlings in hydroponic culture have shown that *Fusarium spp.* culture filtrate inhibits the growth and development of peas, with the root system being affected the most. Biochemical analysis revealed that enzyme activity and the content of compounds with antioxidant activity were predominantly higher in the resistant variety compared to the susceptible one, which may indicate the involvement of

antioxidant system components in plant resistance to biotic stress. Analysis of callose content and photosynthetic pigments confirmed the more effective protection and adaptability of the resistant variety compared to the susceptible one.

Keywords: *Pisum sativum* L., *Fusarium* spp., antioxidant system, growth response, morphogenesis, H₂O₂, peroxidase, phenolic compounds, polyphenoloxidase, callose.

ЗМІСТ

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ	8
ВСТУП	9
РОЗДІЛ 1. ОГЛЯД ТА АНАЛІЗ ЛІТЕРАТУРИ	11
1.1 Характеристика представників роду <i>FUSARIUM</i> , що викликають захворювання зернобобових (гороху посівного)	11
1.1.1. Мікотоксини грибів роду <i>Fusarium</i>	15
1.1.2. Фоторецептори та світлова регуляція розвитку грибів роду <i>Fusarium</i>	18
1.2 Фузаріоз гороху посівного	20
1.2.1 трахеомікозне в'янення	23
1.2.2 фузаріозна коренева гниль	25
1.3 Захисні реакції рослин за дії біотичного стресу	26
1.3.1 антиоксидантна система	27
1.3.2 калоза	30
1.4 Висновок	32
РОЗДІЛ 2. МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ	33
2.1 Характеристика об'єктів дослідження	33
2.1.1 <i>Fusarium spp</i>	33
2.1.2 Горох посівний	33
2.2 Дизайн дослідження	34
2.3 Методи дослідження	36
2.3.1 Стандартні біотехнологічні методи	37
2.3.2 Мікробіологічні методи	37
2.3.3 Морфометричні методи	37
2.3.4 Біохімічні методи	37
2.3.5 Статистичні методи	41
РОЗДІЛ 3. РЕЗУЛЬТАТИ ТА ОБГОВОРЕННЯ	42

3.1 Порівняльна оцінка сортів гороху посівного (<i>Pisum sativum</i> L.) за показниками проростання	42
3.2 Вплив фотоопромінення червоним ЧС (660нм) та синім СС (450 нм) світлом на ріст та нестатеве спороношення колоній <i>Fusarium spp</i>	45
3.3 Вплив культурального фільтрату <i>Fusarium spp.</i> на ростові, морфогенетичні та біохімічні показники проростків гороху	50
3.3.1 Вплив культурального фільтрату <i>Fusarium spp.</i> на ростові та морфогенетичні реакції двох сортів гороху посівного	50
3.3.2 Вплив культурального фільтрату <i>Fusarium spp.</i> на біохімічні реакції двох сортів гороху посівного	60
ВИСНОВКИ	71
СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ	73
ДОДАТКИ...	88

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ

АОС – антиоксидантна система

АФК – активні форми кисню

ПР – пероксидаза

ПФО – поліфенолоксидаза

ЧС – червоне світло

СС – синє світло

КФ – культуральний фільтрат

ВСТУП

Горох посівний (*Pisum sativum* L.) є однією з найпоширеніших зернобобових культур, яка поєднує харчове, кормове та агротехнічне значення. Він характеризується високим вмістом білка, вітамінів, мінералів та біологічно активних сполук, а також екологічною стійкістю й модулюючим впливом на ґрунтову мікробіоту. Завдяки цьому він є не лише цінним джерелом харчової сировини, а й важливою культурою для сівозміни [1,2]. Проте, у процесі розвитку рослини піддаються впливу різних біотичних факторів, зокрема грибних патогенів роду *Fusarium*. Поширені симптоми фузаріозної інфекції у рослин включають формування некротичних плям на коренях та в прикореневій зоні, порушення провідності та потемніння судинної системи, що ускладнює нормальний водний та мінеральний обмін. Це призводить до затримки росту, появи хлорозу, в'янення та вилягання [3].

Антиоксидантна система (АОС) є одним з ключових елементів захисту рослин у відповідь на дію біотичного стресу. Вона забезпечує нейтралізацію активних форм кисню (АФК), підтримку клітинного гомеостазу та регуляцію сигнальних каскадів, пов'язаних із розвитком імунної відповіді [4]. Було продемонстровано, що у стійких та чутливих сортів антиоксидантна система активується з різною швидкістю та інтенсивністю, що може свідчити про її роль у визначенні толерантності до патогенів [5].

Вивчення особливостей функціонування антиоксидантної системи як інтегрованої ланки захисту рослин у сортів гороху з різною стійкістю є важливим для глибшого розуміння механізмів резистентності та може мати практичне застосування в селекції.

Тому метою роботи було провести комплексне дослідження, основна частина якого полягала в аналізі показників ростової реакції, морфогенезу та антиоксидантної системи двох сортів гороху посівного під впливом культурального фільтрату *Fusarium spp.*

Завдання:

- Провести скринінг районованих сортів гороху *Pisum sativum* L. на чутливість до дії фунгіцидних та рістстимулюючих комерційних препаратів.
- Дослідити вплив селективного світла червоного ЧС (660 нм) та синього СС (450 нм) спектрів на ріст *Fusarium oxysporum*.
- Дослідити вплив культурального фільтрату *Fusarium spp.* на ростову (лінійний ріст, сира та суха біомаса) та морфогенетичну (кількість та довжина бічних коренів першого порядку, кількість вузлів, листків та вусиків, ступінь закрученості вусиків) реакції проростків сортів Оплот та Царевич.
- Оцінити вплив культурального фільтрату *Fusarium spp.* на показники антиоксидантної системи (вміст перекису водню, фенолів та флаваноїдів, активність ферментів пероксидази (ПР) і поліфенолоксидази (ПФО)) проростків сортів Оплот та Царевич.
- Визначити вплив культурального фільтрату *Fusarium spp.* на системні зміни пігментного складу та накопичення калози у проростків сортів Оплот та Царевич.

РОЗДІЛ 1. ОГЛЯД ТА АНАЛІЗ ЛІТЕРАТУРИ

1.1 Характеристика представників роду *FUSARIUM*, що викликають захворювання зернобобових (гороху посівного)

Переважаюча частина хвороб рослин виникає в результаті інфікування грибами та грибоподібними організмами. Фузаріоз, спричинений патогенами роду *Fusarium* є однією з найбільш розповсюджених та економічно шкідливих хвороб, що інфікує широке коло видів по всьому світу, включаючи майже всі основні сільськогосподарські культури. Два представники роду *Fusarium*, а саме *F. graminearum* та *F. oxysporum*, увійшли до десятки найбільш науково досліджуваних та економічно шкідливих грибкових патогенів. [6,7].

Сучасна систематика грибів роду *Fusarium* виглядає наступним чином: домен – *Eucaryota*, царство - *Fungi*, підцарство - *Dikarya*, відділ - *Ascomycota*, підвідділ - *Pezizomycotina*, клас - *Sordariomycetes*, підклас - *Hypocreomycetidae*, порядок - *Hypocreales*, родина - *Nectriaceae*, рід – *Fusarium* [8]. Рід *Fusarium* налічує понад 300 видів, серед яких наявні як сапротрофи, так і патогени рослин та тварин. З розвитком молекулярно-генетичних методів було виявлено велику кількість морфологічно нерозрізнених видів і наразі клада *Fusarium* включає щонайменше 20 чітко підтверджених видових комплексів. Найбільш чисельними та економічно шкідливими вважаються комплекси *F. oxysporum*, *F. solani*, *F. fujikuroi*. До їх складу входять численні патогенні види, часто поділені на спеціалізовані форми (*formae speciales*), що зазвичай інфікують лише один вид рослин-господарів, хоча здатні ендofітно колонізувати ряд вторинних господарів. Велика кількість *formae speciales* серед представників роду *Fusarium* зумовлює їхню здатність інфікувати більшість сільськогосподарських культур, включаючи не лише більшість зернобобових, але й численні злакові, овочеві, плодово-ягідні, олійні та технічні види [9,10].

Під час ураження рослин гриби роду *Fusarium* часто колонізують судинну систему, порушуючи нормальний обмін речовин, що призводить

до сильного в'янення та смерті. Більшість патогенних видів здатні синтезувати мікотоксини, які накопичуються в інфікованих тканинах і роблять урожай непридатними для споживання [9]. Саме мікотоксини становлять найбільшу загрозу здоров'ю тварин, зокрема людини, оскільки при потраплянні в організм вони можуть спричиняти дисбаланс кишкового мікробіому, рідше - гострі отруєння. При цьому деякі види, такі як *F. oxysporum* та *F. Solani* є умовно-патогенними і здатні викликати місцеві інфекції шкіри, очей, нігтьових пластин тощо. Особливу небезпеку фузаріоз становить для осіб зі зниженим імунітетом, оскільки за таких умов збудник часто поширюється гематогенним шляхом в різні органи, викликаючи системну інфекцію [11].

Ідентифікацію грибів традиційно проводять за морфологічними ознаками. *Fusarium spp.* представляють собою нитчасті гриби, що формують бавовнистий, повітряний міцелій, колір якого варіюється від білого до різних відтінків рожевого, жовтого та фіолетового. Найважливішими культурними характеристиками роду є ріст, пігментація міцелію, а також утворення структур нестатевого розмноження - хламідоспор, макро- та мікроконідій [6].

Забарвлення міцелію вважається найбільш діагностично значущою ознакою оскільки його можна бачити в польових умовах без додаткового обладнання. Більшість представників, залежно від виду та умов культивування, здатні набувати відповідного забарвлення [6].

Не менш важливими є мікроскопічні ознаки. Макроконідії формуються у всіх видів роду, вони септовані, зазвичай містять 3-5 септ. У більшості *Fusarium spp.* мають характерну серпоподібну форму, хоча у деяких видів вона варіює – наприклад, у *F. avenaceum* макроконідії можуть бути тонкими, майже голкоподібними. Довжина та ширина також можуть коливатись, проте здебільшого розмір є відносно постійною характеристикою [6]. Мікроконідії утворюються не всіма видами, вони менші за макроконідії, як правило одноклітинні, кулястої, еліптичної, ниркоподібної або

веретеноподібної форми. Хламідоспори є структурами спокою для переживання несприятливих умов. Вони товстостінні, всередині заповнені ліпідоподібною речовиною, ззовні можуть бути шорсткі або гладенькі. Хламідоспори утворюються рідше та розвиваються довше, ніж макро- та мікроконідії. Деякі види здатні формувати й інші структури спокою – склероції. Вони являють собою щільні сплетіння міцелію, який всередині складається з безбарвних тонкостінних клітин і містить запаси поживних речовин, а ззовні формує стінку з темних товстостінних клітин. Така будова дозволяє їм зберігати життєздатність до декількох років [6,12].

Статева стадія розмноження присутня не у всіх представників роду. Плодові тіла представлені перитеціями - конусоподібними структурами, зануреними в субстрат. Всередині перитецію аскоспори формуються в булавоподібних асках групами по 8 клітин [12].

Розвинена ферментна система *Fusarium spp.* забезпечує здатність грибів колонізувати різноманітні субстрати, що обумовлює їх широку розповсюдженість і високу патогенність. До переліку основних ферментів, що продукують фузарії відносять ксилінази, протеази, ліпази, полігалактуронази, β -глюкозидази та целюлази [12]. Також вони синтезують ряд вторинних метаболітів, зокрема велику кількість мікотоксинів, що налічують сотні сполук. Найпоширенішими є трихотецени, фумонізени та зеараленон. Один вид може продукувати декілька мікотоксинів, при цьому їх кількість та якісний склад значно варіюються [11].

На рослинах гороху посівного (*Pisum sativum*) зустрічається широкий спектр видів роду *Fusarium*. Можуть траплятися слабопатогенні сапрототрофні представники, здатні формувати мутуалістичні асоціації з господарями. Наприклад *F. equiseti* може пригнічувати розвиток патогенів *F. avenaceum* та *Peyronellaea pinodella* і полегшувати симптоми хвороб [13]. Однак зазвичай виділяють сильнопатогенні види, з яких найбільш поширеними та агресивними є *F. oxysporum*, *F. avenaceum* та *F. solani*, при

цьому тести на патогенність у тепличних умовах показали, що *F. avenaceum* спричиняє найсильніші симптоми кореневої гнилі на гороху [14–16].

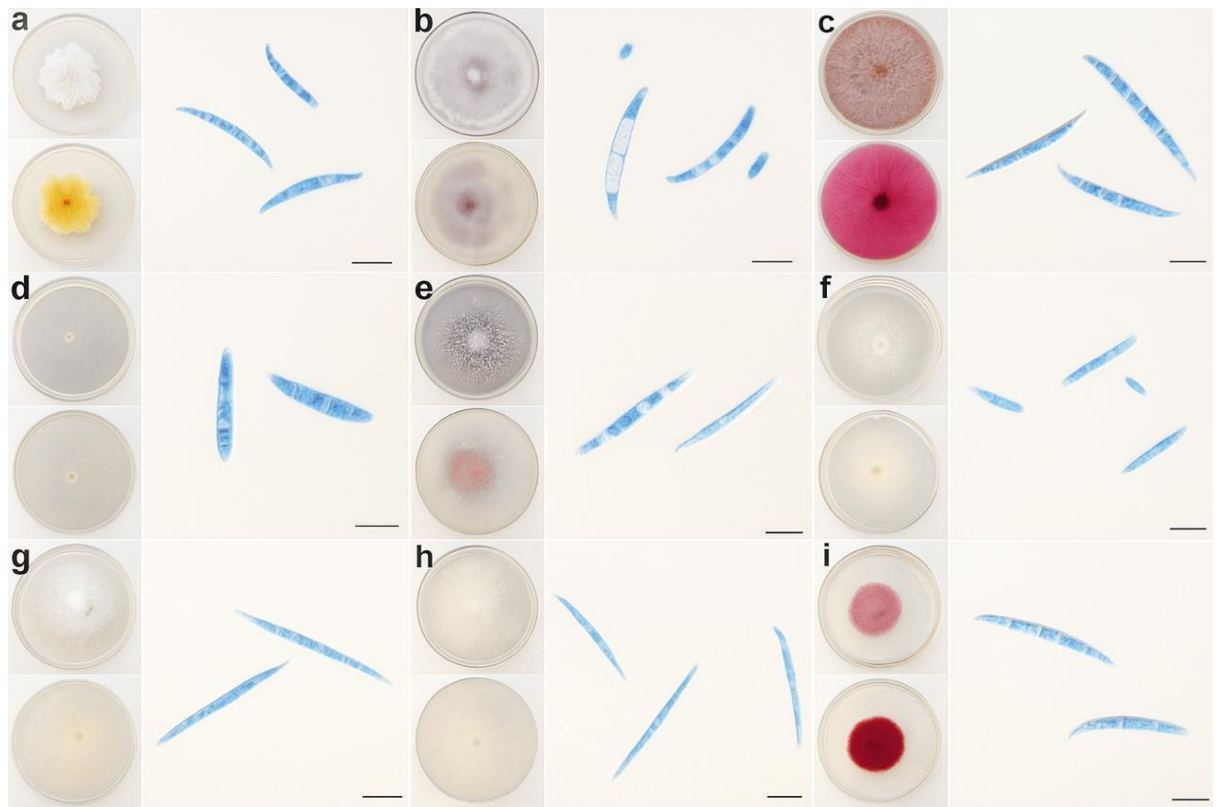


Рис 1. Типові колонії та макроконідії ізолятів, виділених з коренів сої в провінції Сичуань, Китай. Колонії репрезентативних ізолятів *Fusarium* спостерігалися на PDA через 5 днів, а макроконідії – у карбоксиметилцелюлозному середовищі через 5 днів вирощування. а *F. equiseti*; б *F. oxysporum*; в *F. graminearum*; д *F. solani*; е *F. commune*; ф *F. verticillioides*; г *F. proliferatum*; х *F. fujikuroi*; і *F. avenaceum*. Масштабна лінійка = 20 μm . [17].

F. oxysporum – космополітний ґрунтовий сапротроф і патоген багатьох видів рослин. Налічує понад 100 рас та спеціалізованих форм, зокрема *Fusarium oxysporum f. sp. pisi* – форма, що уражає горох. Гриб часто викликає судинне в'янення, прикореневу та кореневу гниль. Більшість штамів не здатні вироблять трихотецени, зеараленони чи фумонізиди, але вони продукують ряд інших, менш токсичних сполук, серед яких основною є фузарова кислота – менш шкідлива для людини, але дуже токсична для рослин, працює як фактор вірулентності. Крім цього продукуються

боверицин, моніліформін, фузарин С, самбутоксин, бікаверин, нафтохінонові пігменти та ін. [18].

F. avenaceum поширений в помірних регіонах як ґрунтовий сапротроф і патоген зернобобових та багатьох злаків. Спричиняє стеблову та кореневу гниль. Зазвичай не утворює хламідоспор на відміну від багатьох інших видів. Більшість штамів *F. avenaceum* здатні продукувати мікотоксини моніліформін, фузарин С, боверицин, 2-аміно-14,16 Диметилоктадекан-3-ол, акумінатопірон, ауурофузарин, хламідоспорол, хризогін та еніатини [12,18].

F. solani є космополітом та патогеном широкого кола рослин, в тому числі дерев. Крім цього він є одним з найчастіших збудників фузаріозних інфекцій у людей і стійкий до більшості клінічних протигрибкових препаратів. Токсичні сполуки, що синтезуються *F. solani*, включають фузарову кислоту, моніліформін, нафтохінонові пігменти, а також низку хімічно неідентифікованих токсичних сполук [18].

1.1.1 Мікотоксини грибів роду *Fusarium*

Мікотоксини – це біологічно активні низькомолекулярні вторинні метаболіти, що виробляються грибами і є фітотоксичними, або шкідливими для здоров'я людини та тварин. Представники роду *Fusarium* здатні виробляти широкий спектр мікотоксинів, які варіюють за частотою виявлення та ступенем токсичності. В загальній кількості трихотецени, фумонізину та зеараленону зустрічаються найчастіше [19].

Родина трихотеценів налічує понад 200 різних типів мікотоксинів. Найбільше значення мають токсин Т-2, його деацетильована форма НТ-2, діацетоксисцирпенол, неосоланіол, а також дезоксиніваленол, ніваленол і їхні ацетильовані похідні. Дезоксиніваленол виробляється переважно видами *Fusarium graminearum* та *Fusarium culmorum*, які зазвичай уражають дрібні зернові культури, але періодично також зустрічаються на бобових [20]. Контамінація насіння *Arabidopsis* дезоксиніваленолом в лабораторних

умовах призвела до пригнічення росту, аномальної морфології кореня та зменшення довжини кореневих волосків [21]. Також було виявлено здатність дезоксиніваленолу та діацетоксісцирпенолу порушувати клітинний цикл перешкоджаючи мітотичному діленню [22]. Т-2 та НТ-2 токсини вважаються одними з найтоксичніших. Вони відносяться до токсинів типу А у системі класифікації від А до D, де А та В є найбільш токсичними [20]. У рослин ці токсини проявляють мутагенну дію. Таким чином у *Allium sativum* спостерігалось пригнічення поділу клітин та виникнення аномалій у апікальних меристематичних клітинах кореня [23].

Фумонізени, що є одними з найбільш фітотоксичних та канцерогенних мікотоксинів, поділяються на 4 типи (А, В, С та Р). Найважливішим та найпоширенішим є фумонізин В1, що переважно зустрічається на кукурудзі [20]. Фумонізени сприяли пригніченню росту підземної та надземної частини проростків кукурудзи й томату, а також зменшенню його сухої маси, крім цього обробка листків спричинила виражені некрози [24]. В експерименті з *Vigna unguiculata* спостерігалось зниження схожості насіння та пригнічення подовження коренів і пагонів, внаслідок обробки фумонізином В1, також його дія спричинила ущільнення протоплазми, відділення плазмалеми від клітинної стінки та накопичення ліпідних тілець біля клітинної стінки в ембріональних тканинах [25].

Зеараленон міститься в різних зернових культурах, здебільшого в кукурудзі, і проявляє меншу токсичність у порівнянні з попередніми. Зеараленон, як естрогеноподібний мікотоксин здебільшого вивчався за впливом на тваринний організм, тоді як його дія на рослин була менш досліджена [26]. Загалом у рослин він працює як аналог фітогормонів, порушуючи нормальну регуляцію росту та поділу клітин, при цьому в малих кількостях і в регульованих умовах він може викликати позитивні ефекти. Таким чином було показано, що зеараленон має деякі властивості аналога ауксину - у кукурудзи він сприяв індукції набряку зав'язі [27]. Замочування насіння ярої пшениці та сої в розчині зеараленону сприяло збільшенню

швидкості фотосинтезу та покращенню врожайності у обох культур [28]. Також його екзогенне застосування сприяло зменшенню стресу від посухи у гороху та люпину, обумовлене підвищенням стабільності клітинних мембран та активністю антиоксидантних ферментів [29].

Більшість патогенів гороху, які належать до роду *Fusarium*, не здатні синтезувати класичні фузарові мікотоксини. Натомість основними для них є фузарова кислота, а також допоміжні токсини боверицин, фузарин С, моніліформін, та еніатини, які підсилюють дію фузарової кислоти, але самостійно викликають менш виражені ефекти [12].

Фузарова кислота виробляється різними видами *Fusarium* та характеризується високою фітотоксичною. Вона викликає сильне в'янення у рослин, зокрема через вплив на процеси клітинного метаболізму та фотосинтезу [19]. Фузарова кислота є похідною піколінової кислоти, відомої як хелатуючий агент з металами. Завдяки цій здатності вони зв'язуються з іншими двовалентними катіонами і викликають кон'югацію заліза, марганцю, міді та цинку, перешкоджаючи їм у виконанні нормальних біологічних функцій, що виявляється у порушенні ферментативних процесів, сигнальних шляхів, дефіциті відповідних мікроелементів, ослабленні мембран. Завдяки наявності карбоксильної кислотної групи, яка діє у якості донора протонів, вона має кислотні властивості в різних реакціях [30]. Було виявлено, що фузарова кислота може підвищувати рівень активних форм кисню, знижувати активність антиоксидантної системи та спричиняти некроз клітин листя томату [31]. Інше дослідження на листі томату показало збільшення активності протеази та зниження вмісту фотосинтетичних пігментів, що також посприяло розвитку некрозу та в'яненню [32]. Фузарова кислота демонструвала вирішальну роль у патогенезі фузаріозного в'янення бананів, спричиняючи неконтрольовану втрату води та електролітів внаслідок пошкодження мембран, при цьому концентрація мікотоксину в тканинах позитивно корелювала з інтенсивністю хвороби [33].

Зернобобові загалом не так часто уражуються високотоксичними видами роду *Fusarium* у порівнянні зі злаковими культурами. У них можуть зустрічатися продуценти сильнотоксичних сполук, такі як *F. graminearum* чи *F. culmorum*, однак навіть при зараженні спостерігаються легші симптоми з меншим накопиченням мікотоксинів [34]. Це може бути частково пов'язано з відносно вищою концентрацією фенольних сполук. Було продемонстровано значне зменшення накопичення мікотоксинів аурофузарину та зеараленону у трьох видів *Fusarium* на середовищах з додаванням фенольних сполук таких як ферулова кислота, п-гідроксибензойна кислота та ванілова кислота [35]. В свою чергу елагова кислота та карвакрол пригнічували ріст колоній ізолятів *F. verticillioides* та знижували концентрацію фумонізину [36], також у *F. proliferatum* обробка фенілпропаноїдами демонструвала зниження рівня боверицину на 100% [37].

1.1.2 Фоторецептори та світлова регуляція розвитку грибів роду

Fusarium

Світло є важливим чинником навколишнього середовища і ключовим для розвитку певних організмів. Фотоморфогенез представляє собою сукупність морфологічних та фізіологічних змін, викликаних впливом світла. Цей процес традиційно розглядають у контексті рослинного розвитку, але він також характерний для грибів, водоростей, ціанобактерій, та деяких протистів. Світло регулює більшість основних процесів життєдіяльності грибів, зокрема проростання, нестатеве спороутворення, формування статевих плодових тіл, виробництво пігментів та вторинних метаболітів, а також патогенність [38,39].

Фоторецептори – це білкові молекули, які захоплюють фотони за допомогою невеликих світлопоглинаючих хромофорів і запускають сигнальні каскади в клітині [40]. У геномі *Fusarium* наразі знайдено гени десяти фоторецепторів. Фоторецептори синього світла представлені двома групами: флавопротеїни LovA-B, VvdA, WCC (WcoA, WcoB) та сімейство

криптохромних фотоліаз CryD, CryP, PhrA. Фоторецептор червоного світла – фітохром FphA, зеленого – родопсини CarO та OpsA [41]. Найбільш дослідженими є фоторецептори синього світла - білки комплексу White Collar Complex (WCC), вперше виявлені у *Neurospora crassa* як WC-1 та WC-2 [41–43]. *Fusarium spp.* містять білки WcoA та WcoB - ортологи до WC-1 та WC-2 у *N. crassa*. Поглинання світла флавопротеїнами здійснюється за допомогою флавінунуклеотиду в якості хромофору [41].

Ефекти внаслідок впливу синього світла можуть відрізнятись залежно від виду гриба, але у більшості досліджених видів доведено його важливе значення для вторинного метаболізму, процесів каротиногенезу та утворення конідій. Так досліди з використанням мутантів *F. oxysporum* та *F. graminearum*, у яких видалені ортологи генів WC-1 та WC-2, показали порушення статевого розмноження, вторинного метаболізму та фотореактивації після УФ-випромінювання [44,45]. Мутанти *F. fujikuroi* демонстрували зменшення конідієношення на агарі та в рідких культурах порівняно зі штамом дикого типу, їхній міцелій був менш гідрофобним, а також спостерігалось зменшення синтезу фузаринів та гіберелінів з одночасним збільшенням синтезу бікаверинів [46].

Білки родини криптохромних фотоліаз поглинають випромінювання в діапазоні синього та ультрафіолетового світла типу А за допомогою хромофорів флавіннуклеотиду та 5,10-метенілтетрагідрофолату [41].

Експресія cryD стимулюється світлом через WcoA, що було доведено виникненням фенотипових змін у мутантів *F. fujikuroi* з видаленим cryD виключно під впливом синього світла. Зміни пігментації були зумовлені підвищеним синтезом бікаверинів, також, на відміну від вихідного штаму

F. fujikuroi, спостерігалось утворення макроконідій, що демонструє негативну регуляцію продукції бікаверинів та макроконідій криптохромом

CryD [47]. Ці результати свідчать про ключову роль синього світла у регуляції розмноження грибів, а саме: воно переважно пригнічує формування перитецій – структур статевого розмноження, водночас стимулюючи

утворення конідій – структур нестатевого розмноження. Крім цього синє світло має вибірковий вплив на низку вторинних метаболітів – воно стимулює синтез фузаринів та гберелінів, які безпосередньо пов'язані з патогенезом гриба, а також каротиноїдів, що обумовлюють жовто-червонувате забарвлення гриба, тоді як синтез червоних пігментів бікаверинів, навпаки, пригнічується [41].

Родопсини – фоторецептори зеленого світла грибів, що належать до інтегральних мембранних білків з родини опсинів і містять у складі хромофор ретиналь. [41] Було виявлено ймовірну участь родопсину CarO у негативній регуляції патогенезу *F. fujikuroi* на рослинах рису, тоді як обидва carO і opsA потенційно залучені до статевого розмноження [48,49].

Червоне та далеке червоне світло сприймається фітохромами, які у грибів зв'язуються з лінійним тетрапірольним хромофором білівердином [41]. Серед грибів ці фоторецептори були найбільше досліджені у *Aspergillus nidulans*, де, зокрема, виявили їх здатність стимулювати нестатеве спороутворення і пригнічувати статевий розвиток [50,51]. У *Fusarium spp.* виявлено один фітохром – FphA. Делеція його гена не призвела до видимих фенотипових змін, таких як ріст гіф, продукція мікотоксинів та вірулентність [45]. Попри це виявлено, що FphA взаємодіє з іншими фоторецепторами - WC-1 та білками комплексу Velvet, які регулюють світлоіндукований розвиток і вторинний метаболізм у багатьох грибів [41,45,52]. Інше дослідження показало, що опромінення червоним світлом спричинило індукцію генів vvdA , cryD та carRA [53].

Ці дані свідчать про здебільшого допоміжну, непряму роль фітохрому FphA у світловій регуляції, опосередкованій іншими фоторецепторами, зокрема у контролі каротиногенезу [41,53].

1.2 Фузаріоз гороху посівного

Фузаріоз є одним з найбільш поширених і шкодочинних хвороб гороху посівного (*Pisum sativum L.*). Різні представники роду *Fusarium*

здатні викликати ряд хвороб, включаючи кореневі гнилі, прикореневе загнивання розсади, судинне в'янення та інфекції репродуктивних органів. Фузаріозне в'янення, спричинене переважно представником *Fusarium oxysporum f.sp. pisi*, зустрічається всюди, де горох вирощується у промислових масштабах [3,54].

Крім бобових, хвороба уражує інші рослини, в тому числі й дерева, по всьому світу. Фузаріозне в'янення бананів, також відоме як Панамська хвороба, здатне поширюватись за короткі терміни і спричиняти масове в'янення. Основна проблема хвороби полягає у тому, що після колонізації ксилеми грибом, рослину практично неможливо вилікувати. Комерційні сорти не мають стійкості до патогену, а ефективних хімічних засобів наразі не існує, тож основним способом захисту є профілактика, моніторинг та вчасна локалізація спалахів хвороби [55].

Найбільш сприйнятливим для розвитку патогену є теплий та вологий клімат, що обумовлює сильну поширеність та високу агресивність хвороби в тропічних та помірних регіонах. Хвороба найбільше прогресує за температури 25 – 30°C [56]. Для різних видів *Fusarium* оптимальні значення можуть бути різні, до прикладу *F. culmorum* та *F. graminearum* найефективніше продукували макроконідії за температури 32°C, тоді як 26 °C найбільше сприяло конідієношенню *F. avenaceum* [57]. Висока вологість (більше 70%) є другим ключовим чинником розвитку хвороби. При цьому імовірність зараження зростає зі збільшенням тривалості періодів підвищеної вологості [58]. Крім цього розвитку хвороб сприяють стресові умови, такі як екстремальна температура, тривале затоплення, ущільнення й виснаження ґрунту, посуха та інші фактори, які послаблюють захист рослин [56,59].

Міжсезонно гриб, як правило, зберігається у ґрунті та на рослинних рештках у вигляді хламідоспор – структур спокою, які здатні підтримувати життєздатність до 5-6 років. Хвороба може виникнути майже на всіх стадіях розвитку рослин [60]. Під дією корневих ексудатів рослин хламідоспори

проростають та досягають контакту з коренем. Для подолання захисних бар'єрів та проникнення крізь клітинну стінку патоген використовує широкий спектр гідролітичних ферментів, зокрема кутинази, целюлази, пектинази та протеази. Після інфікування гриб росте, утворює конідії, синтезує мікотоксини і може поширюватись по судинній системі. Накопичення міцелію в ксилемі разом із захисними реакціями рослини-хазяїна, що включають утворення гелеподібних полісахаридних речовин, камедей та тилозів, спричиняють закупорювання судин і подальше в'янення. Внаслідок цього рослина часто гине і гриб переходить до сапротрофної стадії. На мертвій рослині гриб продовжує продукувати мікро- та макроконідії, здатні заражувати рослини поряд, і починає формувати хламідоспори [6,60]. Основним джерелом хвороби є ґрунт та рослинні рештки, рідше – інфіковане насіння або інші структури розмноження рослин. Частково гриб може поширюватись за допомогою вітру, води, різних комах та тварин. У сільському господарстві важливою є діяльність людини: спори можуть переноситись на одязі, інструментах та сільськогосподарській техніці під час роботи. Також неправильна утилізація рослинного матеріалу збільшує інфекційне навантаження поля та ризики виникнення нових вогнищ ураження [3].

В боротьбі з фузаріозною інфекцією основною стратегією є профілактика, оскільки хвороба практично не піддається лікуванню. Застосовують різні хімічні, біологічні, агротехнічні та генетичні методи, серед яких біологічні та генетичні є найбільш перспективними. Біологічний контроль полягає у використанні живих організмів – грибів, бактерій та їх продуктів метаболізму – для пригнічення патогену та підсилення захисту рослин. Найбільш дослідженими і частими у використанні є препарати на основі *Trichoderma spp.*, здатні знижувати захворюваність більш ніж вдвічі [61,62]. Генетичні та селекційні методи мають на меті створення рослин менш сприйнятливих та повністю стійких до *Fusarium spp.* Для цього використовують різні підходи, включаючи селекцію за допомогою

генетичних маркерів, трансгенну селекцію, соматично-гібридизуюче/протопластичне злиття, транскриптоміку, пригнічення генів та редагування геному на основі CRISPR/Cas9 [63,64]. Досі існують тільки частково стійкі види, оскільки збудники *Fusarium* дуже мінливі і мають велику кількість штамів та специфічних форм, що значно ускладнює процес [63].

1.2.1 Трахеомікозне в'янення

Класичним та найагресивнішим збудником трахеомікозного в'янення гороху є *F. oxysporum f. sp. pisi* [3].

Хвороба спершу виникає коли гриб уражує коріння, рідше проникнення патогена може відбутися в надземній частині, наприклад, через продихи або рани. При контакті гіфи гриба з коренем вона розгалужується, утворюючи міцеліальну мережу та паразитичні структури, які здатні проникати в клітини епідермісу та у міжклітинні отвори. Після колонізації гриб може залишитись в корені, спричиняючи симптоми кореневої гнилі. У разі трахеомікозного в'янення він швидко проникає в судинну систему, звідки надалі може поширюватись системно. Це, крім іншого, збільшує вірогідність розвитку насінневої інфекції, що створює додатковий вектор зараження. Патогенні *Fusarium spp.* синтезують ефектори, що сприяють прогресуванню хвороби, перешкоджаючи нормальному перебігу внутрішньоклітинних реакцій рослини-господаря. Рослини в свою чергу можуть активувати імунітет, що супроводжується різноманітними захисними реакціями. Ефектори SIX (Secreted In Xylem) синтезуються після потрапляння гриба у ксилему і модулюють специфічну для господаря патогенність, що призводить до хвороби в'янення. Всередині судинної системи гриб отримує легкий доступ до поживних речовин. Додатково він може ферментативно деградувати клітинні стінки та сприяти витоку поживних речовин із сусідніх клітин [65].

Під час активного розвитку інфекції гриби роду *Fusarium* продукують різні мікотоксини, що мають критичне значення для патогенезу гриба. Фузарова кислота має високу фітотоксичність, вона поширюється системно і значно впливає на розвиток симптомів трахеомікозного в'янення [30]. Синтез фузарової кислоти помітно посилював симптоми фузаріозного в'янення у бананових рослин, безпосередньо пошкоджуючи мембрани та хлоропласти [66]. Її токсичність обумовлена різними властивостями, зокрема кислотними та хелатоутворюючими. Вона індукує накопичення активних форм кисню (АФК) в токсичних кількостях, що може призвести до запуску гіперчутливої реакції – механізму захисту, суть якого полягає в локальній загибелі клітин шляхом апоптозу, для ізоляції патогена і запобігання подальшому розвитку хвороби. Окислювальний стрес, що таким чином виникає, проявляється в інактивації ферментів, деградації білків та нуклеїнових кислот, а також у перекисному окисленні ліпідів. Перекисне окислення ліпідів призводить до пошкодження клітинних мембран, зміни їх проникності, порушення іонного обміну та неконтрольованої втрати води. Внаслідок активності фузарової кислоти та активних форм кисню також відбувається дисфункція фотосинтетичного апарату, що проявляється у зміні транспорту електронів, пошкодженні й дезактивації хлоропластів, деградації хлорофілу, що в свою чергу сприяє зниженню асиміляції CO₂ і розвитку симптомів хлорозу на листках та стеблах. Фузарова кислота впливає на гормональний баланс, що спричиняє порушення сигнальних реакцій в модуляції захисних механізмів, розвиток морфологічних аномалій, пришвидшене старіння та некротизацію тканин [30].

Розвиваючись у судинній тканині гриб нарощує міцелій і в результаті частково або повністю закупорює провідні шляхи, що призводить до порушення водного обміну. Це негативно впливає на основні процеси життєдіяльності рослин – зниження фотосинтезу й терморегуляції, втрата тургору клітин, підвищення окислювального стресу, внаслідок чого

розвивається судинне в'янення [3]. При цьому захисна відповідь рослин також може сприяти виникненню подібних симптомів. Вона полягає у створенні структурних бар'єрів в судинній системі для запобігання системного поширення інфекції. Ці бар'єри зазвичай представлені утворенням тилозів – виростів клітин ксилеми, та накопиченням камеді – смолистих виділень, які блокують провідні елементи ксилеми [67].

Підсумовуючи, розвиток хвороби трахеомікозного в'янення забезпечується шляхом закупорювання ксилеми й активності ферментів та мікотоксинів, синтезованих патогеном. Характерні симптоми хвороби включають в'янення, розвиток некротичних плям, затримку росту, потемніння судин, що можна побачити при розрізі стебла, хлороз, закручування та опадання листя, при сильному зараженні – повне відмирання рослини [3].

1.2.2 Фузаріозна коренева гниль

Як правило найагресивнішими збудниками кореневої гнилі у бобових є *F. avenaceum* та *F. solani*, рідше та зі слабшими симптомами зустрічаються *F. oxysporum*, *F. equiseti*, *F. virguliforme*, *F. poae*, *F. cerealis*, *F. redolens*, *F. culmorum*, *F. torulosum*, *F. tricinctum*, *F. tricinctum*, *F. acuminatum*, *F. graminearum*, *F. sporotrichioides* [68–71].

Збудники фузаріозної гнилі після проникнення розвиваються у кореневій системі та шийці кореня, не потрапляючи в інші органи. Більшість видів *Fusarium* викликають подібні симптоми. На ранніх стадіях ураження, зазвичай на місці прикріплення насіння, з'являються маленькі темні плями, які з часом збільшуються і об'єднуються у великі некротичні ділянки. Вони охоплюють все стебло, можуть значно зменшувати кількість бічних коренів та поширюватись вгору по стеблу на декілька сантиметрів вище ґрунту. Фузаріозна коренева гниль порушує обмін рідини, погіршує поглинання води та мінералів, що може призводити до затримки росту, хлорозу, в'янення та вилягання. На полі це може проявлятися у вигляді пожовтілих ділянок. Симптоматично дуже важко точно визначити збудника кореневої

гнилі, оскільки *Fusarium spp.* часто діють у комплексі з іншими патогенами, такими як *Aphanomyces euteiches* та *Rhizoctonia solani*, які окремо також можуть проявлятися з подібними симптомами. Водночас характерною ознакою фузаріозної інфекції є поява білого чи рожевого нальоту біля основи стебла, що зазвичай формується за сприятливих для гриба умов [68,72].

1.3 Захисні реакції рослин за дії біотичного стресу

Біотичний стрес виникає внаслідок дії живих організмів - патогенів (вірусів, грибів, бактерій, нематод) паразитичних рослин, різних комах та травоядних. У відповідь на дію біотичних стресових чинників рослини реалізують багаторівневу систему захисту, що поєднує фізичні бар'єри та численні каскади біохімічних реакцій [73].

Молекулярні патерни, пов'язані з фізичними пошкодженнями (damage-associated molecular patterns, DAMPs) та патогенами (microbe/pathogen-associated molecular patterns, MAMP/PAMP), розпізнаються рослинами завдяки рецепторам (pattern-recognition receptors, PRRs), локалізованим на плазматичній мембрані. Внаслідок цього запускається імунітет, спричинений PAMP (PTI). Патогени здатні придушувати PTI за допомогою ефекторів, які в свою чергу розпізнаються зовнішніми та внутрішніми рецепторами рослин, що запускає більш сильний та специфічний захист - імунітет, спричинений ефекторами (effector-triggered immunity, ETI). PTI та ETI запускають подібні сигнальні каскади, які включають накопичення активних форм кисню, акумуляцію Ca^{2+} , вироблення оксиду азоту (NO) та активацію захисних транскрипційних факторів [74]. Ці сигнальні каскади активують широкий спектр фізіологічних реакцій, зокрема, посилення фізичних бар'єрів (відкладення калози, утворення тилозів, закриття продихів), синтез PR-білків (pathogenesis-related proteins), фітогормонів (етилен, саліцилова та жасмонова кислоти) і вторинних метаболітів, запуск гіперчутливої реакції та системної стійкості [74–76].

Активні форми кисню, такі як перекис водню (H_2O_2), синглетний кисень ($^1\text{O}_2$), озон (O_3), супероксидний радикал ($\text{O}_2^{\cdot-}$) та гідроксильний радикал ($\cdot\text{OH}$), в нормальному стані у рослин утворюються як побічний продукт метаболізму. В малих концентраціях вони виконують важливу сигнальну функцію в процесах росту, розвитку та адаптації. У результаті пошкоджень, спричинених біотичними та абіотичними чинниками їх кількість значно зростає, що називають окислювальним вибухом. Локально висока концентрація АФК допомагає боротися з патогеном, проявляючи до нього токсичну дію, але вона також токсична і для самої рослини. Токсичний вплив АФК проявляється в мутаціях ДНК, дисфункції органел, окислювальному пошкодженні білків, ліпідів та вуглеводів, що призводить до порушення метаболізму і смерті клітин [4].

1.3.1 Антиоксидантна система

На початку фузаріозної інфекції, після розпізнавання гриба, запускаються сигнальні каскади захисних реакцій, відбувається накопичення активних форм кисню. Під дією АФК, гормональних сигналів та вторинних месенджерів активується антиоксидантна система, що має на меті запобігання розвитку окислювального стресу шляхом детоксикації активних форм кисню. Контроль балансу АФК є необхідним для ефективного виконання захисних реакцій, що залежать від цих молекул, і одночасного запобігання додатковим пошкодженням клітин внаслідок окислювального стресу, спричиненого їхнім надлишком. Антиоксидантна система включає як ферментативні, так і неферментативні компоненти [4].

Ферментативні антиоксиданти включають супероксиддисмутазу, каталазу, пероксидазу та ферменти циклу аскорбат-глутатіон (AsA-GSH). Супероксиддисмутаза діє як перший рівень захисту, каталізуючи швидку дисмутацію супероксиду на перекис водню та кисень. Всі ізоферменти супероксиддисмутази кодуються в ядрі, після чого локалізуються в мітохондріях, хлоропластах, пероксисомах та цитозолі. Каталаза в свою чергу ефективно каталізує дисмутацію великої кількості перекису водню

воду та кисень. Гваякролпероксидаза також розкладає перекис водню та інші реактивні проміжні форми O_2 , але не в таких великих кількостях. Вона переважно окислює ароматичний донор електронів, такий як гваякол та пірагалол, за рахунок H_2O_2 . Крім цього вона бере участь у біосинтетичних процесах, таких як лігніфікація клітинної стінки, деградація індолоцтової кислоти, біосинтез етилену, загоєння ран тощо [4,77,78]. Цикл AsA-GSH є ключовим механізмом детоксикації перекису водню, що працює в хлоропластах, цитоплазмі, мітохондріях та пероксисомах. Він включає ферменти аскорбатпероксидазу (APX), монодегідроаскорбатредуктазу (MDHAR), дегідроаскорбатредуктазу (DHAR) та глутатіонредуктазу (GR), а також неферментативні аскорбат (AsA), глутатіон (GSH) та NADPH [79]. Процес полягає в послідовному окисненні та відновленні глутатіону, аскорбату та NADPH, що каталізується згаданими ферментами [80]. APX відновлює перекис водню до води, використовуючи аскорбат як донор електронів, при цьому утворюється короткоживучий радикал монодегідроаскорбату (MDHA). APX є дуже ефективним поглиначем H_2O_2 , оскільки має до нього значно вищу спорідненість, ніж каталаза, і діє навіть при низьких концентраціях перекису. Далі MDHAR каталізує регенерацію AsA з радикала MDHA з використанням донора електронів NADPH. Наступним етапом йде відновлення дегідроаскорбату до AsA за допомогою DHAR з використанням GSH як відновлювального субстрату. В останню чергу GR каталізує відновлення глутатіондисульфїду до глутатіону [78].

До основних неферментативних антиоксидантів відносяться аскорбат, глутатіон, каротиноїди, токофероли, та фенольні сполуки. Аскорбат виступає субстратом для багатьох ферментативних реакцій, він є найпоширенішим низькомолекулярним антиоксидантом і найважливішим відновлювальним субстратом для утилізації перекису водню. Частина аскорбату накопичується в апопласті, імовірно забезпечуючи першу лінію захисту від потенційно шкідливих зовнішніх окислювачів. Більша частина AsA синтезується шляхом Смірнова-Вілера (D-маноза/L-галактоза), що

включає перетворення D-манози через L-галактозу в L-галактоно-1,4-лактон, який у мітохондріях окислюється до аскорбату. Глутатіон поширений у всій клітині і виконує широкий спектр функцій. Він бере участь у контролі окисно-відновного статусу, захисті від окислювального стресу та активації відповідних генів захисту, у транспортуванні й зберіганні сірки, а також детоксикації важких металів та ксенобіотиків. Як антиоксидант він має різні механізми: безпосередньо поглинає вільні радикали, захищає макромолекули, зокрема діючи як донор органічних вільних радикалів чи протонів, бере участь в регенерації аскорбату через цикл AsA-GSH [78]. Каротиноїди – ліпофільні антиоксиданти, здатні ефективно захоплювати активні форми кисню, захищаючи фотосинтетичний апарат. Вони ефективно нейтралізують синглетний кисень, а також опосередковано зменшують його утворення шляхом гасіння триплетного збудженого стану хлорофілу. Токофероли також належать до групи ліпофільних антиоксидантів, вони захищають фотосинтетичний апарат, ліпіди та інші компоненти мембран, в основному діючи шляхом переривання ланцюгових реакцій пероксидного окиснення ліпідів. Фенольні сполуки представляють собою широку групу хімічних речовин, різних за структурою та біологічною активністю. Антиоксидантні властивості фенольних сполук обумовлені структурою ароматичного кільця і наявністю гідроксильних та метоксильних груп, що дозволяє їм ефективно захоплювати вільні радикали. Вони безпосередньо захоплюють синглетний кисень та інгібують перекисне окислення ліпідів, утворюють комплекси з металами, запобігаючи утворенню АФК. Поліфеноли та фенілпропаноїди можуть брати участь у каскаді поглинання перекису водню [4,77]. Флавоноїди є найбільш поширеним та різноманітним класом фенольних сполук. Окрім антиоксидантних властивостей, відомо про їх роль у багатьох фізіологічних процесах, таких як регуляція росту та розвитку, забарвлення плодів та квіток, встановлення взаємодій рослини з ризосферними мікроорганізмами, контроль транспорту фітогормонів тощо [81]. Водночас

багато фенольних сполук мають виражену антимікробну дію: вони здатні змінювати проникність грибкової мембрани, а також пригнічувати синтез та активність ферментів і мікотоксинів [37].

Антиоксидантна система є одним із ключових механізмів захисту, що обумовлює стійкість рослин до біотичного стресу, зокрема спричиненого збудниками роду *Fusarium*. Вона забезпечує підтримку концентрації АФК на рівні, необхідному для ефективного сигналінгу для активації інших каскадів реакцій, тим самим впливаючи на ефективність більшості захисних механізмів. На різних культурах, включно з горохом, зафіксовано зростання активності антиоксидантів у відповідь на біотичні та абіотичні стресові фактори, що свідчить про їхню ключову роль у захисних процесах [82,83]. Крім того виявлено, що у стійких сортів антиоксидантна система активується швидше та в більшій мірі у порівнянні зі сприйнятливими сортами тієї ж культури. Таким чином у польових умовах стійкий сорт пшениці озимої продемонстрував швидку індукцію активності ферментів аскорбатпероксидази та поліфенолоксидази на ранніх стадіях після зараження, тоді як сприйнятливий сорт залучав антиоксидантні ферменти до захисної реакції набагато пізніше, активність ферментів у стійкого сорту також була більш вираженою, ніж у середньостійкого та сприйнятливого [5]. Подібні результати було відзначено і для різних сортів нуту [84]. У гороху дослідження метаболічного профілю показало, що підвищена стійкість до фузаріозу може бути обумовлена високим вмістом фенілпропаноїдів [37]. З огляду на це, антиоксидантна реакція має значення для селекції, оскільки можна припустити, що вона відіграє важливу роль у визначенні стійкості рослин фузаріозу та інших інфекцій [85].

1.3.2 Калоза

Калоза представляє собою полісахарид β -(1,3)-D-глюкану, наявний у вищих рослин та багатоклітинних зелених водоростей. У здорових рослин калоза присутня у невеликих кількостях і виконує важливі регуляторні функції: контролює локальний тиск клітин під час швидкого росту,

підтримує структурну цілісність мембран, регулює флоремний та міжклітинний плазмодесмальний транспорт речовин [86].

При виникненні біотичного стресу відбувається локальне накопичення калози, що індукується молекулярними патернами PAMP і DAMP та опосередковується хімічними речовинами, що індують резистентність, включаючи АФК та захисні фітогормони. Регуляція вмісту калози забезпечується двома групами ферментів: ксиланазами, що синтезують калозу та β -1,3-глюканазами, які її розкладають. Однією з найперших захисних реакцій є швидке накопичення калози між клітинною стінкою та плазматичною мембраною у місці атаки для зупинки проникнення патогена. Потовщення клітинної стінки, що сформувалося, називають сосочками. Якщо грибу вдалося проникнути в клітину та сформувати структури паразитизму, такі як гаусторії, сосочки можуть повністю огортати їх, таким чином ізолюючи місце ураження. Сосочки забезпечують не лише механічний захист, до їхнього складу, крім калози, входить ще ряд компонентів, зокрема АФК, пероксидази, PR-білки, фенольні сполуки та інші біоактивні речовини [86,87].

Калоза відкладається не тільки вздовж клітинної стінки, але також у плазмодесмах – симпластичних каналах, які забезпечують міжклітинну комунікацію та молекулярний обмін [88]. Оскільки плазмодесми слугують транспортними шляхами для різних метаболітів та сигнальних молекул, включаючи білки, фітогормони та активні форми кисню, їх часткове чи повне закриття є важливим регуляторним механізмом, що контролює як захисні реакції рослини, так і процеси нормального росту та розвитку. Накопичення калози в плазмодесмах, індуковане стресовими чинниками, обмежує переміщення патогенів, їхніх токсинів та сигнальних молекул між клітинами [86].

Накопичення калози є важливим захисним механізмом, що забезпечує переважно бар'єрні функції. Швидкість та кількість відкладання калози частково обумовлює стійкість рослин до патогенів. Таким чином, після

інфікування пшениці *F. culmorum* та *F. graminearum*, в листках частково стійкого сорту спостерігалось швидше накопичення калози і в більших концентраціях в порівнянні зі сприйнятливим сортом [89].

Висновок

За результатами аналізу літературних джерел з'ясовано, що гриби роду *Fusarium* є небезпечними патогенами гороху, які здатні спричиняти локальні та системні інфекції, використовуючи різні механізми патогенезу. В свою чергу рослина реалізує численні захисні стратегії проти грибкових збудників. Однією з цих стратегій є окислювальний вибух, спричинений швидким синтезом великої кількості активних форм кисню. Хоча ці речовини мають критичну роль в індукції та координації більшості захисних реакцій, у високій концентрації вони стають токсичними для рослини. Антиоксидантна система регулює вміст активних форм кисню, запобігаючи окислювальному стресу. Таким чином антиоксидантна система прямо пов'язана з якістю імунної відповіді рослин. Додатково розглядалась роль відкладання калози у захисті від мікробної інфекції. Хоча значення цих систем у боротьбі з патогенами добре задокументоване, механізми їхньої індукції та регуляції, а також вплив на стійкість рослин до різних збудників, залишаються недостатньо вивченими.

РОЗДІЛ 2. МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ

2.1 Характеристика об'єктів дослідження

2.1.1 *Fusarium spp.*

Fusarium – широкий рід мікроскопічних грибів, що включає численні сапротрофні та патогенні, зокрема й токсигенні види. Вони здатні колонізувати різні середовища, але найчастіше зустрічаються в ґрунті та на органічних рештках. Патогенні види спричиняють широкий спектр хвороб рослин, серед яких судинне в'янення, коренева та стеблова гниль, а також, залежно від рослини-хазяїна, – гниль цибулин, бульб, колоса тощо [6]. Для проведення експерименту невизначені *Fusarium spp.* були виділені з насіння гороху співробітниками кафедри фізіології і біохімії рослин та мікроорганізмів біологічного факультету ХНУ імені В.Н. Каразіна.

2.1.2 Горох посівний

Горох посівний (*Pisum sativum L.*) є однією з найважливіших бобових культур, яку вирощують майже у всіх країнах. Його хімічний склад коливається залежно від сорту та умов вирощування, але як правило містить багато вуглеводів (59,32–69,59%), харчових волокон (23,23%–30,72%) та білків (20–25%). Насіння гороху містить ряд важливих мінеральних елементів, таких як калій, фосфор, магній та кальцій, крім цього воно є джерелом водорозчинних вітамінів, незамінних амінокислот, поліфенолів та інших біоактивних сполук. Особливу увагу приділяють гороховому білку, що наразі є доволі популярним у харчовій промисловості завдяки його доступності та користі для здоров'я. Він має низький глікемічний індекс (>60), що допомагає знизити ризик серцево-судинних захворювань та діабету, такі білки, як правило, гіпоалергенні, мають антиоксидантні та протизапальні властивості [1,90]. Горох характеризується екологічною стійкістю, здатністю переносити низькі температури та посушливі періоди. Він є важливою культурою для сівозміни завдяки здатності переривати цикли деяких хвороб і покращувати якість ґрунту. Зокрема горох та інші

бобові здатні фіксувати азот, який часто є лімітуючим елементом, тим самим поповнюючи його кількість у ґрунті. Включення гороху у сівозміну збільшує поглинання азоту різними культурами на 23–59% та покращує врожайність [2]. Таким чином горох є економічно ефективною альтернативою синтетичним азотним добривам для покращення врожайності, з одночасним збереженням якості ґрунту [91].

У якості рослинного матеріалу в роботі був використаний горох посівний (*Pisum sativum* L.) двох сортів: Царевич та Оплот.

Сорт Царевич – середньоранній сорт, тривалість вегетаційного періоду складає 71-75 діб, стійкий до вилягання та обсіпання зерна, а також до хвороб аскохітозу та фузаріозу. Потенційна врожайність становить до 6 т/га, зерно має високі смакові якості. Внесений до Державного реєстру сортів рослин, придатних для поширення в Україні у 2008 році по Лісостеповій зоні та Полісся. Насіння було надано Інститутом рослинництва імені В. Я. Юр'єва НААНУ[92].

Сорт Оплот – середньостиглий, тривалість вегетаційного періоду складає 77-82 діб, стійкий до вилягання та основних хвороб. Потенційна врожайність становить до 6 т/га. Внесений до Державного реєстру сортів рослин, придатних для поширення в Україні з 2011 року по всіх зонах. Насіння було надано Інститутом рослинництва імені В. Я. Юр'єва НААНУ [92].

2.2 Дизайн дослідження

Дослідження складалося з трьох частин: скринінг сортів та відбір двох контрастних сортів з різною чутливістю для подальших досліджень; дослідження впливу селективного (синього та червоного) світла на ріст колоній та нестатеве спороношення *Fusarium oxysporum*; дослідження ростової, морфогенетичної та захисної реакції гороху обраних сортів на біотичний стрес, спричинений метаболітами *Fusarium* spp.

Скринінг сортів

П'ять сортів гороху посівного: Меценат, Царевич, Гайдук, Оплот, Отаман – вирощували методом вологих камер для оцінки розвитку насіння і вибору двох сортів з найкращими і найгіршими показниками.

Три варіанти:

1. Контроль
2. Протруйник. Насіння за інструкцією замочували в 10% розчині протруйника Життєдар протягом 30 хв.
3. Стимулятор. Насіння за інструкцією замочували в 3% р-ні стимулятора Вимпел-2 протягом 2 годин.

Оброблене та контрольне насіння пророщували у чашках Петрі на фільтрувальному папері з додаванням 5 мл дистильованої води по 15 насінин на чашку. Зберігали у темряві за температури 22°C у термостаті TCO-80 MICROmed протягом 9 днів. Вимірювання енергії проростання проводили на 4 день, а схожість – на 9. Рахували кількість заражених та аномальних насінин.

Дослідження впливу селективного світла на Fusarium sp.

Міцелій гриба, наданий співробітниками кафедри фізіології і біохімії рослин та мікроорганізмів ХНУ ім. В.Н. Каразіна, методом проколу пересівали у центр чашки Петрі на тверде поживне середовище Чапека. Інокульовані чашки Петрі (по три на кожен варіант) поміщали в умови з постійним LED опроміненням синього (450 нм.) та червоного (660 нм.) спектрів. Контрольний варіант зберігався у повній темряві. Культивування проводили при температурі 20–22 °C протягом 31 доби. Упродовж цього періоду регулярно вимірювали діаметр колоній, на 21 добу фіксували та аналізували забарвлення міцелію. Кількість та розмір конідій оцінювали на 31 добу – на стадії активного спорогенезу - за допомогою гемоцитометра, використовуючи світловий мікроскоп Granum R60 Premium Trino.

Дослідження реакції рослин на біотичний стрес

Вирощування рослин проводилось в умовах гідропонної культури. У якості стресового фактору використовували культуральний фільтрат

Fusarium spp. Як поживне середовище для вирощування проростків використовували розчин Кнопа.

Насіння стерилізували у 70% етанолі, після чого пророщували методом вологих камер у чашках Петрі по 10-12 насінин на чашку. Зберігали у темряві за температури 22°C у термостаті TCO-80 MICROmed протягом 3-х днів.

Надалі проростки переносили у гідропонну культуру. Контрольні варіанти містили лише середовище Кнопа, тоді як у дослідні додавали культуральний фільтрат у співвідношення 1:20. Подальше культивування тривало 21 день за постійних умов: температура 20-22 °C, фотоперіод 16 годин при білому світлі.

По завершенню періоду культивування визначали ростові, морфометричні та біохімічні показники, такі як вміст калози, фотосинтетичних пігментів, показники антиоксидантної системи, такі як вміст фенольних сполук, H_2O_2 , активність пероксидази (ПР) та поліфенолоксидази (ПФО).

Морфометричний аналіз і визначення активності ПР та ПФО проводили в останній день культивування проростків, після чого рослинний матеріал фіксували водяною парою при 120°C і висушували при 60°C протягом 3-4 годин. Подрібнений матеріал зберігали у паперових пакетах.

2.3 Методи дослідження

2.3.1 Стандартні біотехнологічні методи

Отримання культурального фільтрату

Міцелій гриба *Fusarium spp.* з маточної колонії пересівали в колбу з рідким поживним середовищем Чапека, після чого колбу зберігали в термостаті за температури 25-27 °C протягом 7-14 днів до дозрівання колонії. Після завершення культивування міцелій гриба, що зібрався на поверхні, видаляли, а рідину фільтрували спочатку через ватно-малреві фільтри, потім – за допомогою шприцевого фільтру з шириною пор у 0.22 мкм. Фільтрування проводили з метою відділити клітини мікроорганізмів та

отримати стерильний культуральний фільтрат. Фільтрат зберігали в холодильнику для подальших досліджень [93].

2.3.2 Мікробіологічні методи

Культивування *Fusarium* spp. проводили *in vitro* на агаризованому поживному середовищі Чапека. Гриб за допомогою мікробіологічної голки пересівали на середину чашки, після чого її ізолювали парафільмом і зберігали за кімнатної температури (20-22°C).

2.3.3 Мормофетричні методи

Морфометричний аналіз проростків

У проростків визначали лінійні розміри надземної та кореневої частин, їх сиру та суху біомасу, а також співвідношення цих значень. Крім цього визначали кількість та довжину бічних коренів, кількість вузлів, листків, середню кількість вусів та їх закрученість (у %).

2.3.4 Біохімічні методи

Визначення вмісту H_2O_2

Вміст перекису водню визначали спектрофотометричним методом Bellinsamprі з використанням ксиленового реактиву [94]. В основі методу опосередковане пероксидом окислення Fe^{2+} з наступною реакцією Fe^{3+} з ксиленоловим помаранчевим.

Рослинний матеріал гомогенізували у дистильованій воді і центрифугували протягом 15 хв при 12000 g. Надосадову рідину використовували для аналізу. Для приготування інкубаційної суміші змішували екстракт та ксиленовий реактив у пропорції 1:1. Оптичну щільність розчину вимірювали за допомогою фотоелектроколориметра КФК-2МП з довжиною хвилі – 540 нм. Вміст H_2O_2 визначали за калібрувальною кривою, побудованою на розчині перекису водню. Для розрахунків використовували формулу:

$$A = (c \times V) / (m \times 880), \text{ де}$$

A – вміст перекису водню, мкмоль/г сирого матеріалу;

c – концентрація перекису водню за калібрувальним графіком;

V – об'єм екстракту, мл;

m – маса наважки, г.

Визначення вмісту калози

Вміст калози визначали за модифікованим методом Кауса з використанням анілінового синього [95].

Рослинний матеріал витримували у 70% етанолі протягом 1 год. і тричі промивали дистильованою водою. Наважку 300 мг гомогенізували з піском у 3 мл 1М NaOH і витримували 15 хв на водяній бані за 80°C, після чого центрифугували 5 хв при 380 g. Надосадову рідину використовували для аналізу. До 200 мкл екстракту додавали 400 мкл 0.01% водного розчину блакитного анілінового, в результаті чого розчин набував фіолетово-червоне забарвлення. Після цього додавали 200 мкл 1н. HCl та 600 мкл 1М буферу Гліцин/NaOH (pH 9,5) і розчин набував яскраво-блакитного забарвлення. Отриману суміш витримували 20 хв на водяній бані при 50°C і ще 30 хв при кімнатній температурі. Люмінесценцію розчину вимірювали за допомогою спектрофлюориметру. Довжина хвилі збудження становила 397 нм, довжина хвилі вимірів – 490 нм. Кількість калози виражали у мкг/г біомаси. Для розрахунків використовували формулу:

$$A = (c \times k) / m, \text{ де:}$$

A – вміст калози;

c – концентрація калози у дослідному розчині за калібрувальним графіком, мг/мл;

k – коефіцієнт розведення;

m – маса наважки, г.

Визначення активності пероксидази (ПР)

Метод визначення активності пероксидази базується на безперервному вимірі світлопоглинання бензидинові сині, яка утворюється при окисненні бензидину під дією пероксидази [96].

Для приготування витяжки рослинний матеріал гомогенізували з піском у ацетатному буфері (pH 5,0) і центрифугували 10 хв при 3000 об/хв.

Надосадову рідину використовували для аналізу. Інкубаційну суміш готували у двох кюветах – контрольній та дослідній. В обидві кювети додавали 1 мл витяжки, 1 мл буферного розчину і 1 мл бензидину. У контрольну кювету вносили 1 мл води, тоді як у дослідну – 1 мл 0,03% перекису водню. Показники оптичної щільності визначали від початку додавання речовини протягом 30 сек. Активність пероксидази визначали за формулою:

$$A = D \times (\alpha \times \beta \times \gamma) / (t \times d), \text{ де}$$

D – оптична щільність;

d – товщина кювети, см;

t - час, с;

α , β , γ – фактори розведення: α – відношення кількості рідини, взятої для приготування витяжки, мл до маси навішування, г; β – ступінь додаткового розведення витяжки (якщо це потрібно); γ – ступінь постійного розведення витяжки у реакційній суміші.

Визначення активності поліфенолоксидази (ПФО)

Метод визначення активності поліфенолоксидази базується на безперервному вимірі світлопоглинання забарвлених хінонів, що утворюються при окисленні пірокатехіну під дією поліфенолоксидази [97].

Для приготування витяжки рослинний матеріал гомогенізували з піском у фосфатному буфері (рН 7-7,4) і фільтрували. Інкубаційна суміш складалась

із 2 мл витяжки, 2 мл буферу і 2 мл 0,01% розчину парафенілендіаміну. Оптичну щільність розчину вимірювали за допомогою фотоелектроколориметра КФК-2МП при жовтому кольорі світлофільтру. У

контрольну кювету додають 2 мл води, а у дослідну – 2 мл 1%-го розчину пірокатехіну. За допомогою секундоміра вимірюють час від

початку додавання речовини до того моменту, коли значення оптичної густини дійде

до 0,25. Активність ферменту обчислюють за формулою:

$$A = (D \times \alpha \times \beta) / (t \times d), \text{ де:}$$

D - 0,25 (оптична густина);

α , β - коефіцієнти розведення;
 d - товщина шару рідини у кюветі (2 см);
 t - час (сек).

Визначення вмісту пігментів

Вміст пігментів визначали спектрофотометричним методом [97].

Наважку рослинного матеріалу масою 300-500 мг гомогенізували з піском та CaCO_3 у 5 мл розчинника, після чого фільтрували під тиском. Об'єм витяжки спиртом доводили до 10 -15 мл. Концентрації розчинника для 100 %-го ацетону (за Хольм-Веттштейном):

$$\text{Схл. а, мг/л} = 9,784 \times D_{662} - 0,990 \times D_{644} ,$$

$$\text{Схл. b, мг/л} = 21,426 \times D_{644} - 4,650 \times D_{662} ,$$

$$\text{С (хл. а + хл. b), мг/л} = 5,134 \times D_{662} + 20,436 \times D_{644} ,$$

$$\text{Скар., мг/ л} = 4,695 \times D_{440,5} - 0,268 \times (\text{Схл. а} + \text{Схл. b}).$$

(C – концентрація, D – оптична густина).

Вміст пігментів обчислювали за формулою:

$$A = (C \cdot V) / (H \cdot 1000), \text{ де:}$$

C – концентрація пігментів, мг/л;

V – об'єм екстракту, мл (10 мл);

H – наважка рослинного матеріалу, г.

Визначення вмісту фенольних сполук

Вміст фенольних сполук визначали фотоколориметричним методом.

Для отримання екстракту наважку рослинного матеріалу екстрагували

80% етиловим спиртом і залишали в холодильнику при температурі 4°C протягом однієї доби. Після цього центрифугували, об'єм отриманої витяжки доводили до 6 мл дистильованою водою, після чого використовували для визначення вмісту фенолів та флавоноїдів [98].

Для визначення вмісту фенолів до 0,5 мл витяжки додавали 2 мл розчину Фоліна-Чекальтеу та 2 мл 7,5% бікарбонату натрію. Розчин витримували у темряві протягом 30 хв і вимірювали оптичну густина за допомогою фотоелектроколориметра при довжині хвилі 760 нм.

Калібрувальний графік будували за оптичною густиною стандартного розчину ферулової кислоти [99].

Для визначення вмісту флавоноїдів до 0,5 мл витяжки додавали 0,15 мл розчину 5% нітриту натрію та інкубували протягом 5 хв. Потім до розчину додавали 0,15 мл 10% хлориду алюмінію та інкубували 6 хв. В останню чергу додавали 1 мл 1М хлориду натрію та 1,2 мл дистильованої води, після чого суміш інкубували протягом 20 хв. Оптичну густину вимярювали за допомогою фотоелектроколориметра при довжині хвилі 510 нм. Калібрувальний графік будували за оптичною густиною стандартного розчину кверцетину [100].

2.3.5 Статистичні методи

У всіх трьох типах дослідів було проведено по три серії. Статистичний аналіз та графічне оформлення отриманих даних проводили за допомогою пакету програм Microsoft Excel 2016. Для визначення значущих відмінностей між дослідними варіантами та контролем було використано тест Мана-Уїтні зі значенням $p < 0,05$. В таблицях та на графіках наведені середні статистичні значення та стандартні похибки середнього.

РОЗДІЛ 3. РЕЗУЛЬТАТИ ТА ОБГОВОРЕННЯ

3.1 Порівняльна оцінка сортів гороху посівного (*Pisum sativum* L.) за показниками проростання.

Для оцінки загальної стійкості сортів гороху посівного проводили скринінг насіння різних сортів у трьох варіантах – необроблені (контроль) та попередньо оброблені стимулятором росту та протруйником відповідно до інструкції. Показники насіння в період проростання, такі як схожість, енергія проростання, кількість пророслих, інфікованих, здорових, аномальних насінин, відображають загальну життєздатність насіння та здатність рослин протистояти стресовим факторам. Додавання до експерименту стимулятора проростання насіння та протруйника дозволяє спостерігати ширшу реакцію, наближену до польових умов. Тому результати, отримані внаслідок скринінгу сортів, дозволяють перевірити якість насіння шляхом оцінки його життєздатності, а також оцінити потенційну стійкість сортів до біотичних та абіотичних факторів.

В результаті аналізу найвищі показники енергії проростання та схожості спостерігалися у сортів Меценат і Царевич, найнижчі – у сортів Гайдук та Оплот, тоді як показники сорту Отаман були помірно високими (табл. 3.2.1). Обробка насіння протруйником значно зменшувала кількість інфікованих, але спричиняла розвиток аномальних проростків у всіх сортів гороху. При цьому у сортів з високою життєздатністю спостерігався розвиток більшої кількості аномальних проростків внаслідок обробки протруйником – аномальними виявилися 40% проростків сорту Меценат та 73,3% проростків сорту Царевич. У сортів з нижчою життєздатністю налічувалось 26,7% аномальних проростків сорту Гайдук та 20% - сорту Оплот. Обробка стимулятором проростання насіння показала мінімальне інфікування у сортів з високою життєздатністю на 4 день експерименту в порівнянні з контролем, тоді як вже на 9 день кількість інфікованого насіння було однаковим як у контрольних варіантах, так і з додаванням

стимулятора. У обох сортів з нижчою життєздатністю вже на 4 день кількість інфікованих проростків складала 53,3%.

Табл. 3.2.1. Скринінг сортів гороху посівного за показниками схожості та енергії проростання насіння в умовах обробки стимулятором росту та протруйником

Варіант	Варіант	Інфіковані		Здорові та Пророслі		Аномальні та Незаражені	Енергія проростання	Схожість
		4 доба (%)	9 доба (%)	4 доба (%)	9 доба (%)	9 доба (%)	4 доба, (%)	9 доба, (%)
Меценат	Контроль	60	100	40	6,7	0	93,3	100
	Стимулятор	0	100	100	0	0	100	100
	Протруйник	0	0	100	100	40	100	100
Царевич	Контроль	40	100	60	0	0	100	100
	Стимулятор	6,7	100	93,3	0	6,7	100	100
	Протруйник	0	0	100	100	73,3	100	93,3
Гайдук	Контроль	40	100	60	0	0	93,3	93,3
	Стимулятор	53,3	100	46,7	0	0	66,7	33,3
	Протруйник	0	40	100	60	26,7	93,3	60
Оплот	Контроль	80	100	20	0	13,3	93,3	86,7
	Стимулятор	53,3	100	46,7	0	6,7	66,7	46,7
	Протруйник	6,7	66,7	93,3	33,3	20	80	26,7
Отаман	Контроль	100	100	0	0	26,7	86,7	80
	Стимулятор	40	86,7	60	13,3	0	100	86,7
	Протруйник	0	0	100	100	73,3	100	100

Основними показниками вибору сортів для подальших досліджень були енергія проростання та схожість насіння. Сорт Оплот мав найнижчі показники серед усіх проаналізованих сортів, тому був обраний як умовно чутливий. Із двох сортів з найкращими показниками (Царевич та Меценат) у якості стійкого був обраний сорт Царевич, оскільки він мав найвищі показники саме в контрольному варіанті. Крім цього, він характеризується підвищеною стійкістю до фузаріозу за офіційними даними Інституту рослинництва ім. В. Я. Юр'єва НААН України [92]. На рис 3.2.1 представлено порівняння двох сортів – Царевич (стійкий) та Оплот (умовно чутливий), що були обрані для подальших досліджень.

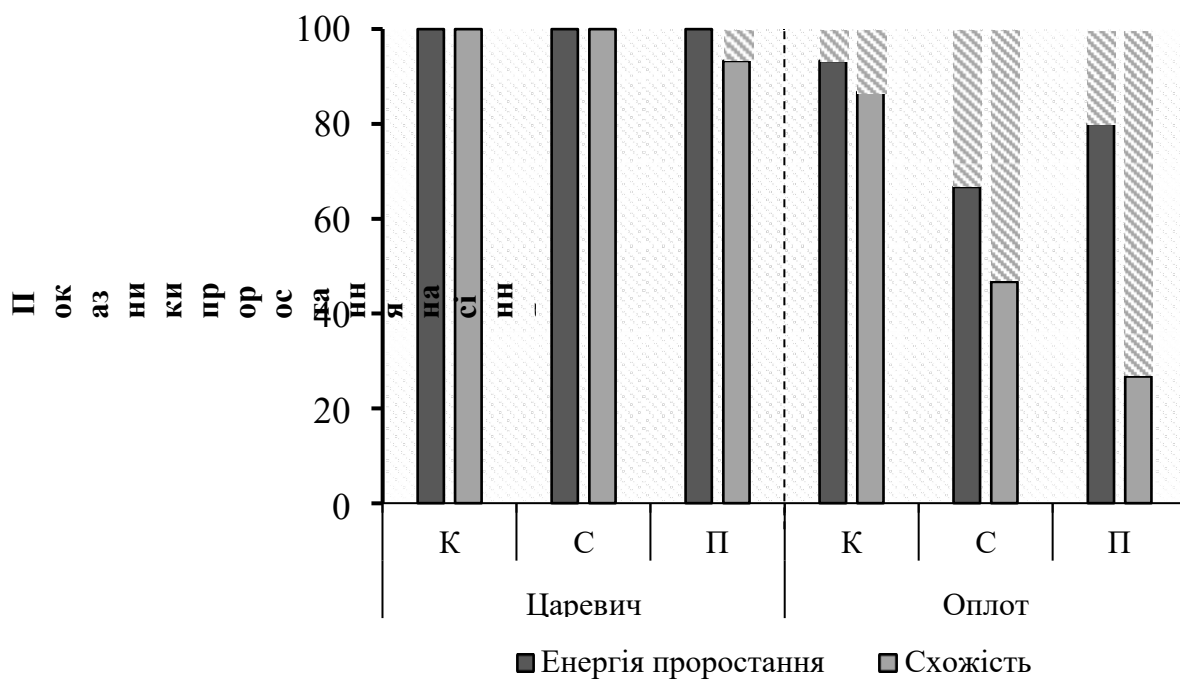


Рис. 3.2.1. Енергія проростання та схожість двох сортів гороху посівного з різною реакцією.

К – контроль; С – стимулятор; П – протруйник.

Результати скринінгу сортів дозволили визначити життєздатність насіння різних сортів та потенційну стійкість до патогенів, зокрема *Fusarium spp.* На основі цих даних для подальших досліджень було обрано два сорти з різною реакцією: сорт Царевич – стійкий, сорт Оплот – з нижчою життєздатністю та потенційно чутливий до патогенів.

3.2 Вплив фотоопромінення червоним ЧС (660нм) та синім СС (450 нм) світлом на ріст та нестатеве спороношення колоній *Fusarium spp.*

Гриби мають широкий спектр фоторецепторів, що дає їм змогу сприймати світло в різних діапазонах випромінювання. Світло здатне різним чином регулювати процеси проростання спор, росту, вторинного метаболізму, статевого та нестатевого розмноження. Відповідно, ці фотозалежні зміни впливають на взаємодії грибів з навколишнім середовищем, зокрема зумовлюють рівень їхньої патогенності до рослин-господарів. Характер змін залежить від таксономічної приналежності гриба та визначається активацією специфічних фоторецепторів у відповідь на дію опромінення певного спектрального діапазону [38].

Дані, отримані в результаті дослідження росту колоній *Fusarium oxysporum* під впливом фотоопромінення ЧС та СС *in vitro*, відображені у табл. 3.1.1 показали, що в усіх трьох варіантах (контроль, СС та ЧС) колонії росли достатньо інтенсивно – протягом усього періоду культивування радіальна швидкість росту колоній переважно знаходилась в межах 3,04-3,72 мм/день за всіх умов освітлення.

Табл. 3.1.1 Вплив фотоопромінення ЧС (660 нм) та СС (450 нм) на радіальний ріст колоній *F. oxysporum* протягом 21 доби культивування ($m \pm s$, $n=9$)

Варіант	Ріст колоній, діаметр, мм	Швидкість росту, мм/день
Контроль (без світла)	$74,71 \pm 2,16$	$3,54 \pm 0,16$
ЧС(660нм)	$63,52 \pm 2,99^*$	$3,04 \pm 0,14^*$
СС(450 нм)	$78,73 \pm 3,63^*$	$3,72 \pm 0,19^*$

Примітка * – різниця з контролем істотна при $p \leq 0.05$

Разом з цим найефективніше колонії гриба росли за опромінення синім світлом, у той час як червоне світло мало виражений інгібуючий

вплив (рис. 3.1.1). Протягом перших 7 днів культивування діаметр колоній майже не відрізнявся за різних умов освітлення та в темряві.

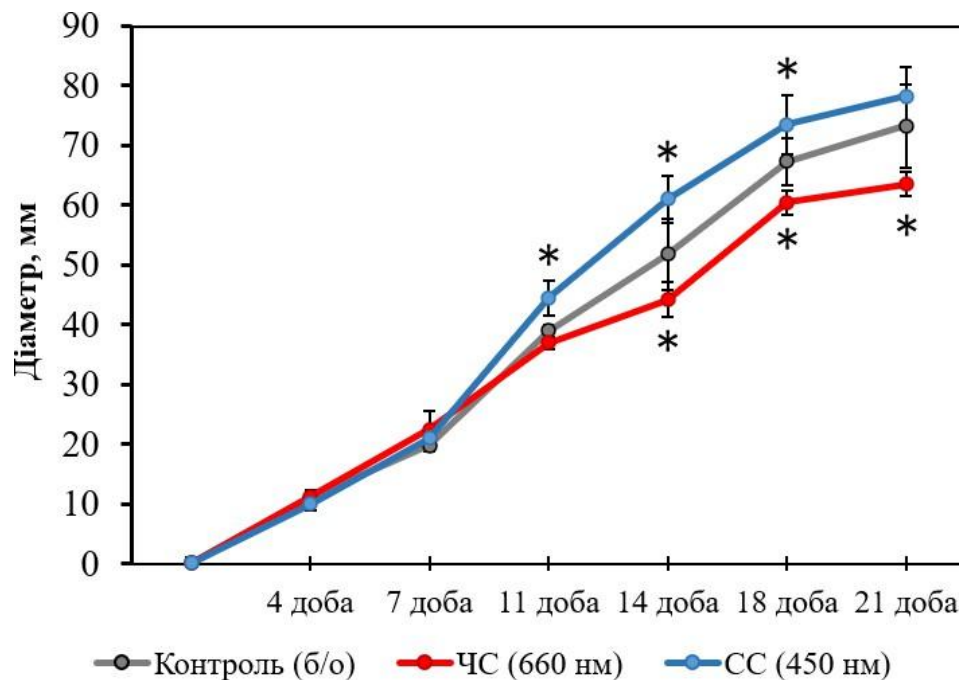


Рис. 3.1.1 Діаметр колоній *Fusarium spp.* під впливом фотоопромінення ЧС (660нм) та СС (450 нм) *in vitro*, мм ($M \pm s$, $n=6$)

Примітка * – різниця з контролем істотна при $p \leq 0.05$

З 11 доби спостерігався суттєвий вплив фотоопромінення СС, яке сприяло збільшенню радіального росту колоній. Дана тенденція надалі зберігалась до кінця експерименту. Зміни росту колоній за дії фотоопромінення ЧС відбулись дещо пізніше – на 14 день експерименту, де відзначалось суттєве пригнічення радіального росту, яке зберігалось до закінчення експерименту. Наприкінці дослідів діаметр колоній контрольного варіанту складав близько 74,71 мм, за умов фотоопромінення ЧС - 63,52 мм, СС - 78,73 мм (табл. 3.1.1).

Культуральні та морфологічні характеристики колоній *Fusarium oxysporum* на поживному агарі Чапека за умов різного стаціонарного освітлення та у темряві (контроль) відповідали типовим характеристикам цього виду. Усі колонії містили повітряний пухнастий міцелій, переважно блідо-рожевого кольору різної інтенсивності (рис. 3.1.2).

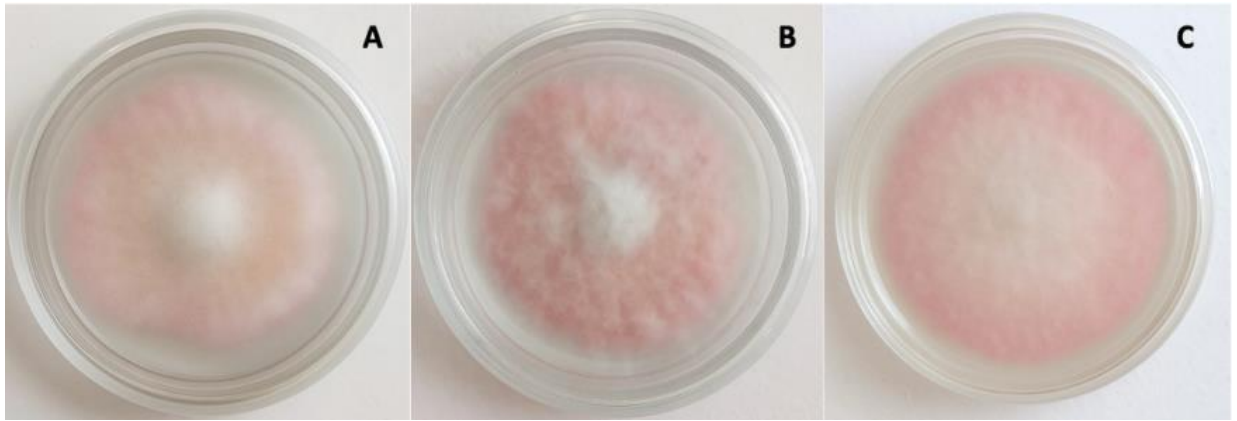


Рис. 3.1.2 Загальний вигляд міцелію *F. oxysporum* під впливом селективного світлового опромінення: А – контроль, В – ЧС (660 нм), С – СС (450 нм).

В результаті аналізу загального вигляду міцелію спостерігались відмінності у структурі колоній - у контрольному варіанті та за умов фотоопромінення ЧС в центральній зоні колоній утворювався вищий та щільніший міцелій, забарвлений у білий колір (рис. 3.1.2 А, В), тоді як колонії, культивовані під фотоопроміненням СС, не демонстрували таких характеристик (рис. 3.1.2 С). Разом з цим фотоопромінення стимулювало біосинтез пігментів, що зумовлюють рожеве забарвлення міцелію. Ці результати підтверджують значення світла в регуляції процесів каротиногенезу [44] та збігаються з даними, отриманими внаслідок дослідження інших видів мікроміцетів [101].

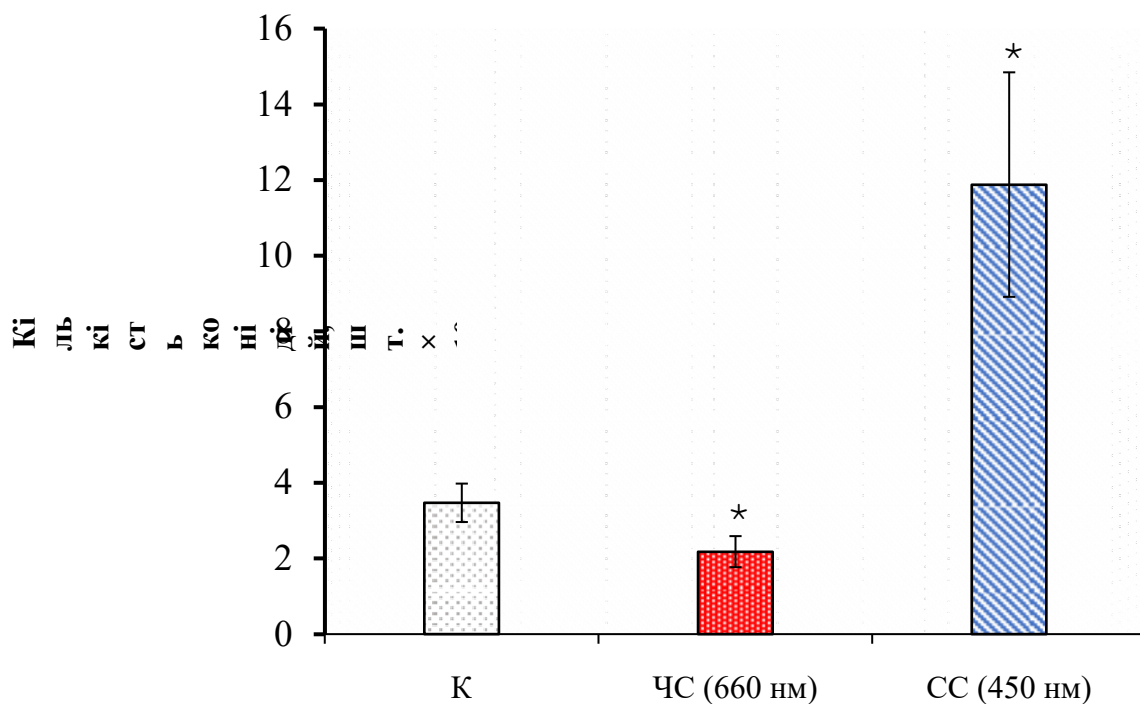


Рис. 3.1.3 Кількість конідій *Fusarium spp.* під впливом фотоопромінення ЧС (660нм) та СС (450 нм) *in vitro*, шт. $\times 10^6$ /мл ($M \pm s$, $n = 30$)

Примітка * – різниця з контролем істотна при $p \leq 0.05$

Згідно з результатами аналізу нестатистичного спороношення, фотоопромінення СС суттєво стимулює утворення конідій (рис. 3.1.3). Таким чином кількість конідій, утворених за умов фотоопромінення СС перевищувала показники контрольних варіантів більш ніж у 3 рази. Фотоопромінення ЧС, навпаки, мало інгібуючий ефект - спостерігалось зменшення кількості конідій порівняно з контролем. Розмір конідій також значно збільшився за умов культивування під впливом фотоопромінення СС – довжина конідій зросла на 48% порівняно з контролем (рис. 3.1.4). Разом з цим, фотоопромінення ЧС не мало суттєвого впливу - спостерігалось лише неістотне збільшення довжини та ширини конідій відносно контролю.

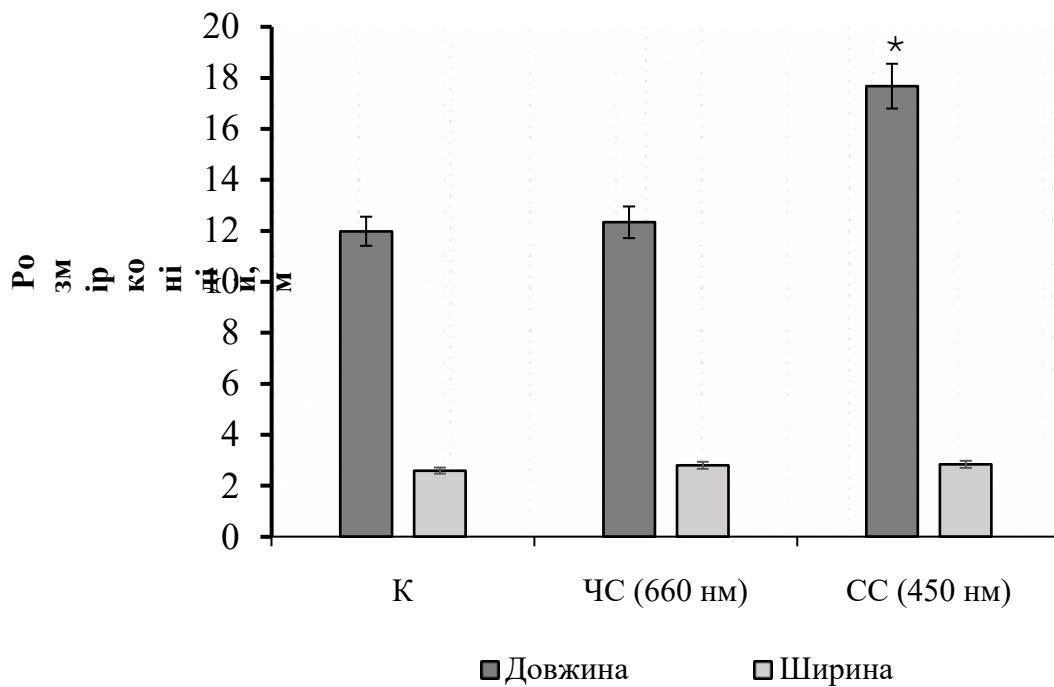


Рис. 3.1.4. Розмір конідій *Fusarium spp.* під впливом фотоопромінення ЧС (660нм) та СС (450 нм) *in vitro*, мкм ($M \pm s$, $n = 30$)

Примітка * – різниця з контролем істотна при $p \leq 0.05$

Результати дослідження впливу червоного та синього світла на ріст і нестатеве спороношення *Fusarium spp.* дозволяють краще зрозуміти фізіологічні особливості гриба та його здатність до адаптації в різних середовищах. Інтенсивніше спороношення у мікроміцетів часто є реакцією на несприятливі умови, однак в поєднанні з інтенсивним розвитком колонії це може свідчити про стимулюючий вплив синього світла. Випромінення в синьо-фіолетовому діапазоні має антимікробний та антимікотичний вплив і широко використовується у медичних та технологічних процесах [102]. В природних умовах, де синє світло зазвичай зустрічається у видимому діапазоні і з меншою інтенсивністю, воно не має такого вираженого токсичного ефекту, навпаки, виконує регуляторну функцію і може стимулювати ріст та розвиток. Однак в польових умовах вплив світла на *Fusarium oxysporum* доволі обмежений через ґрунтову природу гриба і, хоча певна кількість світла може проникати у верхні шари ґрунту, цей вплив, імовірно, не є достатнім щоб викликати суттєві зміни.

3.3 Вплив культурального фільтрату *Fusarium spp.* на ростові, морфогенетичні та біохімічні показники проростків гороху.

Культуральний фільтрат *Fusarium spp.* містить ряд первинних та вторинних метаболітів, зокрема ферменти та мікотоксини, які впливають на фізіологію рослин та спричиняють розвиток патологічних процесів. Тому використання культурального фільтрату гриба дозволяє швидко та ефективно відтворити розвиток інфекції в контрольованих лабораторних умовах та детально дослідити реакції рослин у відповідь на дію патогена [103].

3.3.1 Вплив культурального фільтрату *Fusarium spp.* на ростові та морфогенетичні реакції двох сортів гороху посівного.

Ростові та морфогенетичні реакції є ключовими показниками, які відображають вплив різних факторів на розвиток рослин. Лінійна довжина та біомаса першими свідчать про загальний стан рослини та порушення, які часто супроводжуються затримкою росту, що особливо помітно у молодих проростків. Аналіз морфогенетичних характеристик забезпечує глибше розуміння стану рослин, оскільки враховує зміни окремих органів - кількість вузлів, закрученість вусиків, довжину бічних коренів тощо. Ростові та морфогенетичні реакції разом надають комплексну інформацію про фізіологічне здоров'я рослини, характер та механізм дії чинників середовища. У випадку зараження вони можуть вказувати на локалізацію інфекції, особливості патогенезу та поширення хвороби, а також механізми захисної відповіді рослин у відповідь на стрес [104].

В результаті аналізу ростової реакції гороху посівного двох сортів виявлено значний інгібуючий вплив культурального фільтрату *Fusarium spp.* на лінійний ріст проростків обох сортів (рис. 3.3.1). Довжина усієї рослини стійкого сорту Царевич у контрольному варіанті складала 31,82 см, з яких 20,31 см – надземна частина, а 11,50 см – коренева частина. Додавання культурального фільтрату спричиняло суттєве зменшення

довжини кореневої частини - у дослідному варіанті вона становила лише 57% від контролю. Також спостерігалось зменшення надземної частини – на 8%. Загальна довжина усього проростку стійкого сорту Царевич зменшилась на 20%.

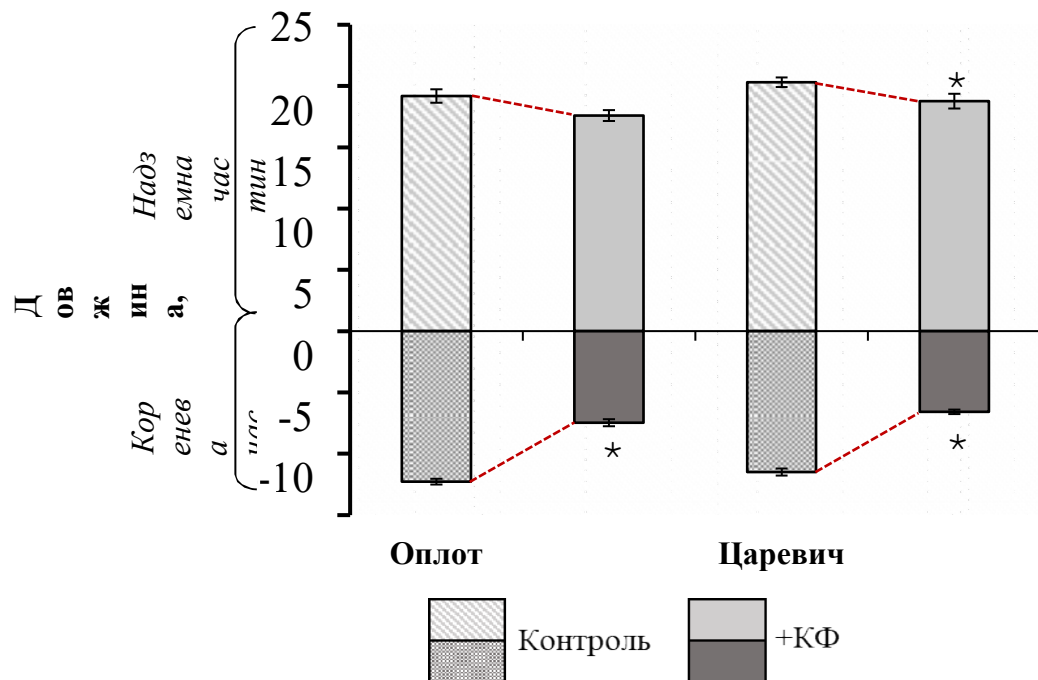


Рис. 3.3.1. Довжина проростків двох сортів гороху посівного під впливом культурального фільтрату *Fusarium spp.*, см ($M \pm s$, $n=20$)

Примітка * – різниця з контролем істотна при $p \leq 0.05$

Рослини чутливого сорту Оплот в контролі мали подібні показники – 31,46 см у проростку, з яких 19,18 см – надземна, 12,28 см – коренева частина. При додаванні культурального фільтрату спостерігалась схожа реакція – пригнічувався ріст кореневої системи, внаслідок чого довжина кореня була істотно менша - 59% від контролю. Водночас пригнічення надземної частини було менш суттєве. Внаслідок цього спостерігалось збільшення співвідношення надземної частини до кореня – на 38% у проростків стійкого сорту Царевич та на 56% у проростків чутливого сорту Оплот.

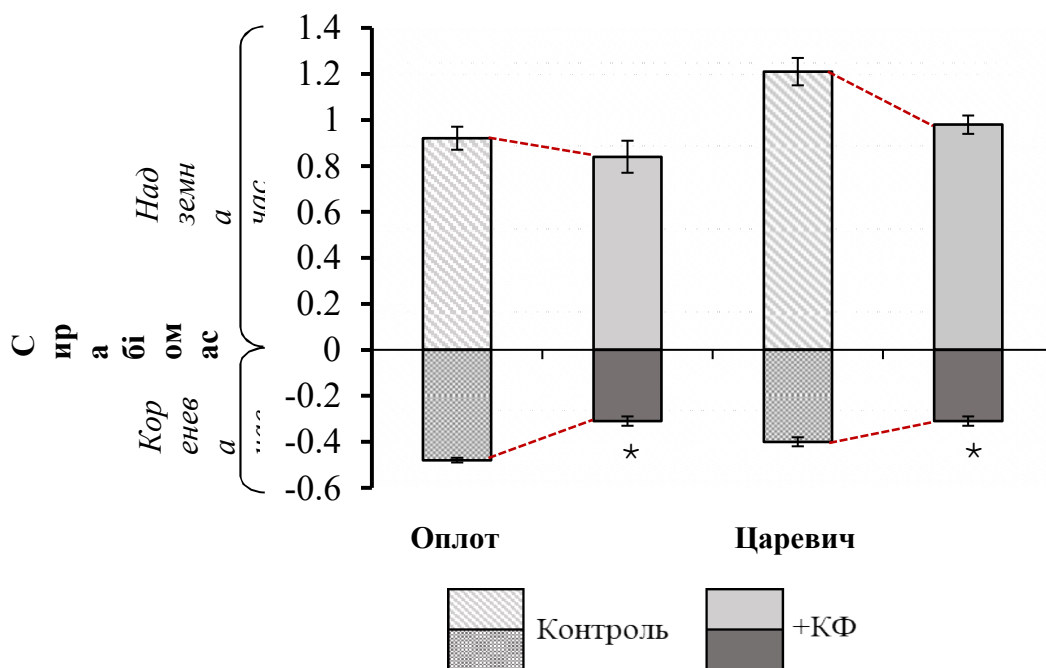


Рис. 3.3.2. Сира біомаса проростків двох сортів гороху посівного під впливом культурального фільтрату *Fusarium spp.*, г ($M \pm s$, $n=20$)

Примітка * – різниця з контролем істотна при $p \leq 0.05$

Зміни сирої біомаси під впливом культурального фільтрату, представлені на рис. 3.3.2, мали подібну тенденцію – істотне зменшення біомаси у проростках обох сортів відбулось саме в кореневій частині. Так у контрольному варіанті середня маса проростків стійкого сорту Царевич становила 1,61 г, з яких 1,21 г – надземна, 0,40 г коренева частина. Водночас маса чутливого сорту Оплот становила 1,40 г, з яких 0,92 – надземна, 0,48 – коренева частина. Культуральний фільтрат *Fusarium spp.* неістотно пригнічував надземну частину і, водночас, зумовлював істотне зменшення сирої біомаси кореневої системи - на 21% у проростків стійкого сорту Царевич та на 34% у проростків чутливого сорту Оплот. Відмінності у співвідношення частин проростків різних за чутливістю сортів були більш вираженими: співвідношення зросло істотно у проростків чутливого сорту Оплот - на 39%, та мінімально у проростків стійкого сорту Царевич.

Узагальнюючи результати аналізу лінійної довжини та сирої біомаси проростків (рис.3.3.1 та 3.3.2) можна відзначити переважне збільшення

співвідношення, що виникало внаслідок більш вираженого пригнічення росту кореневої частини, порівняно з надземною частиною проростків у дослідних варіантах з додаванням культурального фільтрату *Fusarium spp.* При цьому найбільше співвідношення зростало у проростків чутливого сорту Оплот.

Різна реакція сортів спостерігалась в результаті аналізу сухої біомаси проростків (табл. 3.3.1). Маса проростків стійкого сорту Царевич зменшувалась в усьому проростку відносно контролю – на 15% у надземній частині та 8% у кореневій частині. Реакція проростків чутливого сорту Оплот відрізнялась: вміст сирої маси зменшувався у кореневій частині (на 10%) і збільшувався у надземній частині (на 12%).

Табл. 3.3.1. Суха біомаса проростків двох сортів гороху посівного під впливом культурального фільтрату *Fusarium spp.*

Варіант	Суха біомаса, мг			Співвідношення (пагін/корінь)
	Проросток	Пагін	Корінь	
Оплот				
Контроль	91,54±5,58	66,15±3,04	25,38±1,59	2,61
+КФ	97,14±6,72	74,29±3,64	22,86±1,26	3,25
Царевич				
Контроль	111,00±6,11	88,00±5,72	23,00±1,61	3,83
+КФ	95,56±4,87	74,44±5,14	21,11±1,31	3,53

Морфогенетичні зміни перерозподілу росту рослин у відповідь на стресові чинники були добре вивчені. У відповідь на стрес зазвичай відбувається перерозподіл ресурсів із пріоритетом на захист. У такому випадку ріст рослин сповільнюється для збереження енергії і використання її для забезпечення ефективності захисних реакцій, таких як укріплення клітинних стінок, синтез сигнальних молекул, антимікробних сполук та інших компонентів захисту. Це складний процес, що включає взаємодію

сигнальних шляхів для забезпечення компромісів між ростом і захистом від біотичних та абіотичних чинників, оскільки обидва процеси є критично важливими для життєдіяльності рослин [105]. Реакція стійкого сорту Царевич свідчить про уповільнення росту рослини внаслідок перерозподілу ресурсів, що проявляється у рівномірному зменшенні сухої маси обох частин проростку та збереженні співвідношення. У чутливого сорту Оплот збільшення сухої маси в надземній частині з одночасним пригніченням кореневої частини може бути наслідком повільної реакції на стрес, коли рослина продовжує накопичувати органічні речовини у надземних органах попри інтенсивну інфекцію кореня.

Найбільші зміни наслідок впливу культурального фільтрату *Fusarium spp.* проявлялись в реакціях ризогенезу. Крім лінійної довжини кореневої системи спостерігалось суттєве зменшення показників довжини та кількості бічних коренів першого порядку (рис.3.3.3 та 3.3.4).

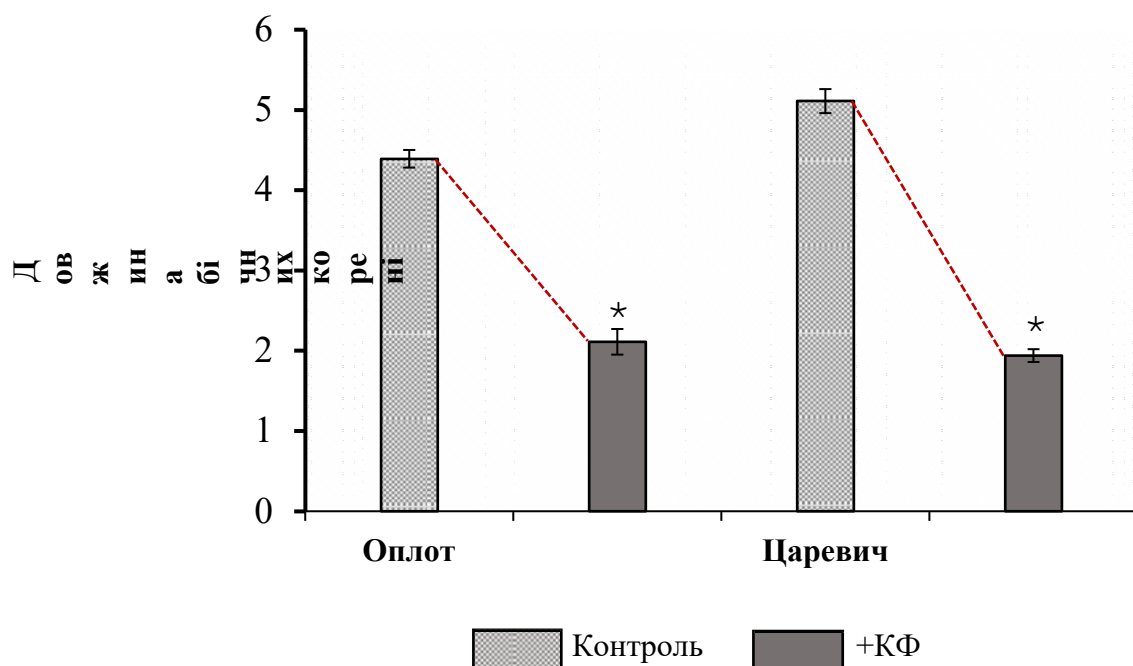


Рис. 3.3.3. Довжина бічних коренів першого порядку у проростків двох сортів гороху посівного під впливом культурального фільтрату *Fusarium spp.*, см ($M \pm s$, $n=20$)

Примітка * – різниця з контролем істотна при $p \leq 0.05$

У проростків стійкого сорту Царевич довжина бічних коренів першого порядку у контролі становила 5.11 см, тоді як у проростків чутливого сорту Оплот вона була дещо нижчою - 4.39 см. Внаслідок дії культурального фільтрату їхня довжина суттєво зменшилась в дослідних варіантах у обох сортів – відносно контрольних варіантів вона становила лише 38% у проростків стійкого сорту Царевич та 48% у проростків чутливого сорту Оплот (рис. 3.3.3).

У зміні кількості бічних коренів першого порядку спостерігалась різна реакція сортів (рис. 3.3.4). В контрольних варіантах у стійкого сорту Царевич кількість бічних коренів першого порядку становила 22,75 шт., тоді як у чутливого сорту Оплот їхня кількість була більшою – 24,78 шт.

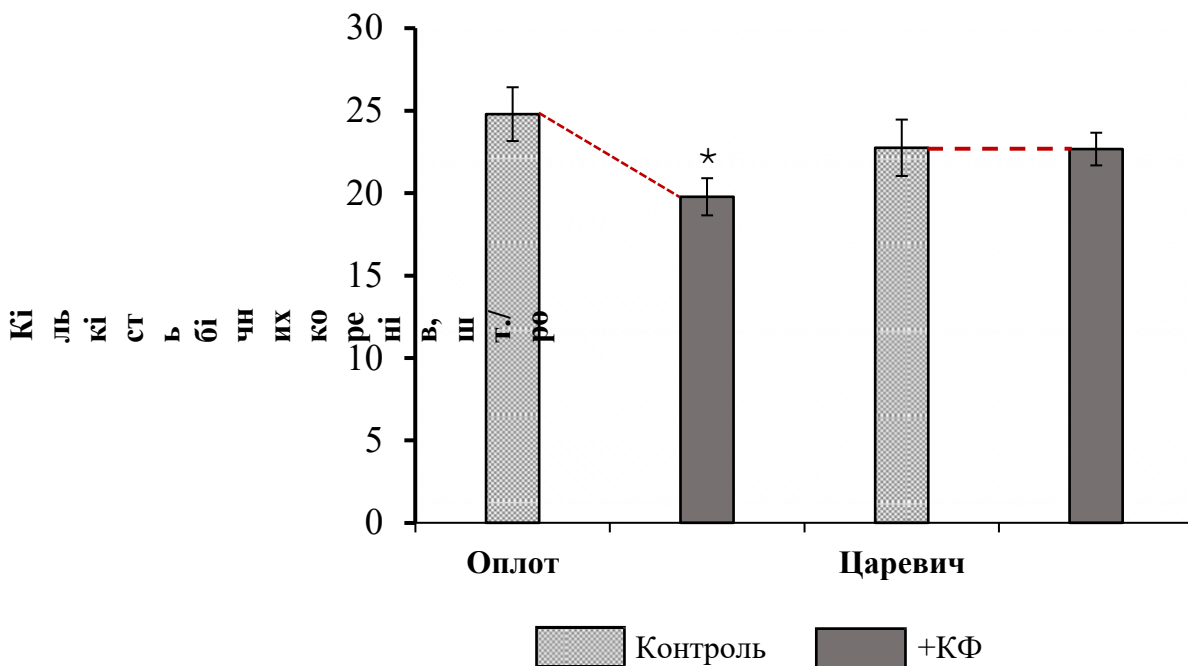


Рис. 3.3.4. Кількість бічних коренів першого порядку у проростків двох сортів гороху посівного під впливом культурального фільтрату *Fusarium spp.*, шт./рослина ($M \pm s$, $n=20$)

Примітка * – різниця з контролем істотна при $p \leq 0.05$

Додавання культурального фільтрату *Fusarium spp.* спричинило зменшення кількості бічних коренів першого порядку у проростків

чутливого сорту Оплот. Водночас у проростків стійкого сорту Царевич значення практично не змінилися порівняно з контролем.

Зменшення довжини та одночасне збереження кількості бічних коренів у проростків стійкого сорту Царевич може свідчити про ефективне пристосування зі збереженням потенціалу поглинання кореневої системи. У проростків чутливого сорту Оплот зменшення кількості бічних коренів вказує на порушення компенсаторних механізмів та обмеження ризогенезу під впливом стресу.

Морфогенетичні реакції надземних органів під впливом культурального фільтрату *Fusarium spp.* були менш вираженими. У обох сортів кількість вузлів під впливом культурального фільтрату збільшилась приблизно на 5%, однак лише у стійкого сорту Царевич результат був статистично значущим (табл. 3.3.2). Кількість листків при цьому лише неістотно зменшилась у проростків обох сортів порівняно з контролем.

Табл. 3.3.2. Кількість вузлів та листків у проростків двох сортів гороху посівного під впливом культурального фільтрату *Fusarium spp.*, шт./рослина ($M \pm s$, $n=20$)

Варіант	Морфогенетичні реакції	
	Кількість вузлів, шт./рослина	Кількість листків, шт./рослина
Оплот		
Контроль	6,84±0,17	5,16±0,17
+КФ	7,18±0,16	4,97±0,15
Царевич		
Контроль	7,74±0,10	6,54±0,11
+КФ	8,11±0,11*	6,46±0,14

Примітка * – різниця з контролем істотна при $p \leq 0.05$

Показники кількості та закрученості вусиків відрізнялись у проростків обох сортів як в контрольних, так і в дослідних варіантах (рис.

3.3.5 та 3.3.6). Середня кількість вусиків у контролі становила 33,90 шт. у проростків стійкого сорту Царевич, а закрученість – 38%. У проростків чутливого сорту Оплот кількість вусиків у контролі була менша – 22.03 шт., а закрученість, навпаки, більша – 53%. Відмінності між сортами у контролі можуть вказувати на різні морфогенетичні стратегії стабілізації пагону: проростки стійкого сорту Царевич формують більшу кількість вусиків, тоді як у чутливого сорту Оплот ефективність прикріплення забезпечується за рахунок більшої закрученості.

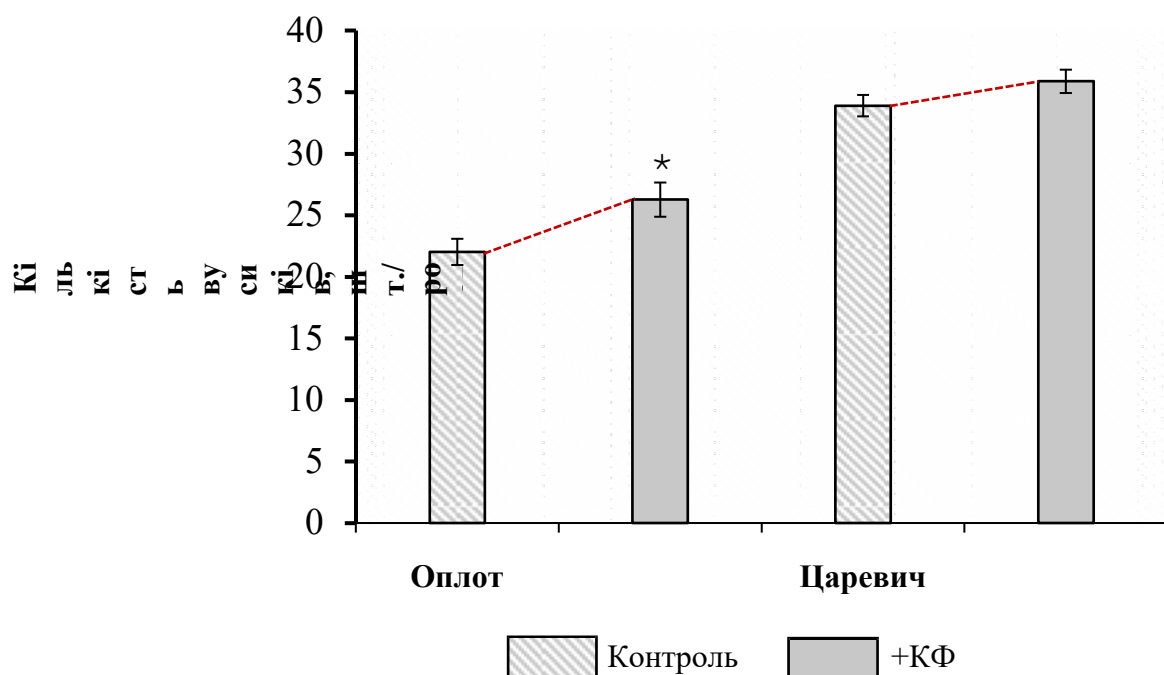


Рис. 3.3.5. Кількість вусиків у проростків двох сортів гороху посівного під впливом культурального фільтрату *Fusarium spp.*, шт./рослина ($M \pm s$, $n=20$) Примітка * – різниця з контролем істотна при $p \leq 0.05$

Під дією культурального фільтрату *Fusarium spp.* кількість вусиків істотно зросла у проростків чутливого сорту Оплот – на 19%, тоді як у проростків стійкого сорту Царевич показники зросли несуттєво (рис. 3.3.5). Закрученість вусиків у проростків чутливого сорту Оплот збільшилась на 7%, а у стійкого сорту Царевич, навпаки, зменшилась – на 28%.

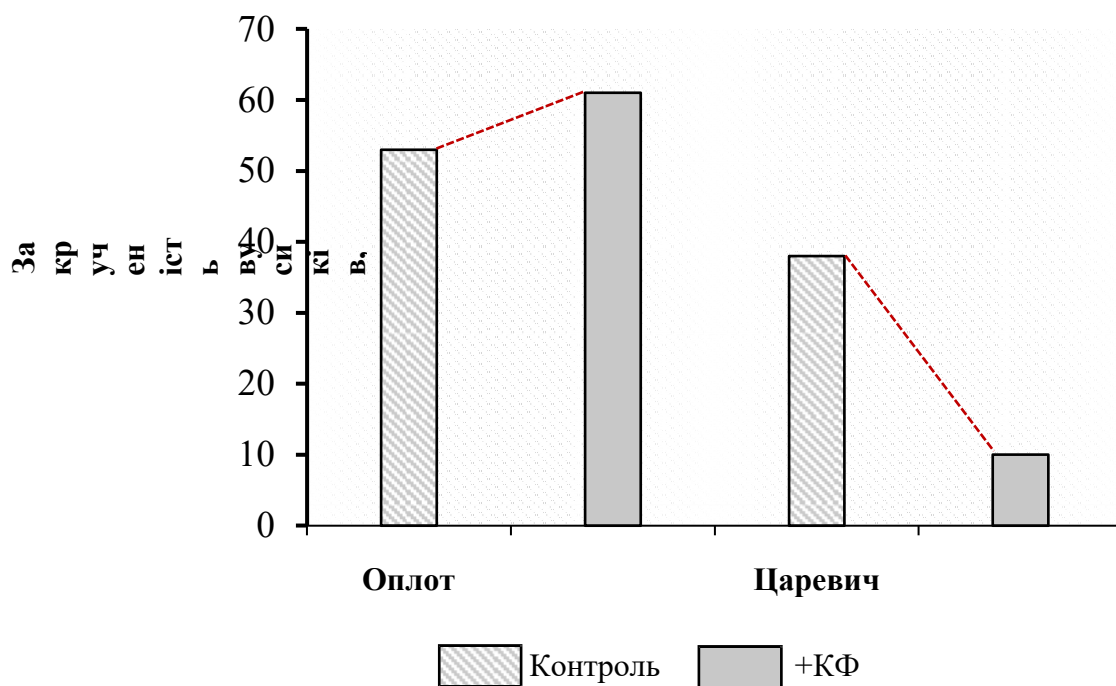


Рис. 3.3.6. Закрученість вусиків у проростків двох сортів гороху посівного під впливом культурального фільтрату *Fusarium spp.*, %

Отримані результати аналізу кількості та закрученості вусиків демонструють посилення морфогенезу у проростків чутливого сорту Оплот, у той час як проростки стійкого сорту Царевич демонструють пригнічення чи відсутність істотної різниці з контролем. Це додатково підтверджує кращий механізм пристосування у проростків стійкого сорту Царевич шляхом уповільнення лінійного росту та морфогенезу надземних органів з метою ефективного розподілу ресурсів. У проростків чутливого сорту оплот, навпаки, спостерігається непродуктивне витрачання ресурсів на розвиток надземної частини попри суттєве порушення ризогенезу.

Внаслідок аналізу ростових і морфогенетичних показників встановлено, що *Fusarium spp.* гальмує ріст проростків обох сортів. При цьому рослини під впливом культурального фільтрату *Fusarium spp.* характеризувались підвищеним співвідношенням лінійної довжини і маси надземної та підземної частин, що свідчить про зміну балансу росту. Така чутливість підземної частини може бути зумовлена тим, що *Fusarium spp.* є збудниками фузаріозної гнилі кореня, що зазвичай починає розвиватись

саме в кореневій системі і не завжди поширюється на надземні органи. Також це частково може бути пов'язано з тим, що коренева система у гідропонній культурі безпосередньо контактує із середовищем і першою зазнає дії патогенних метаболітів. Внаслідок цього спостерігається суттєве пригнічення ризогенезу паралельно з менш вираженим пригніченням розвитку надземної частини. Також було відзначено сортові відмінності: проростки стійкого сорту Царевич демонстрували рівномірне зменшення кореневої та надземної частин проростку, тоді як у чутливого сорту Оплот спостерігалось сильніше пригнічення кореневої системи з менш вираженим обмеженням росту надземної частини. Ці результати вказують на більший потенціал сорту Царевич до ефективного реагування на стресові фактори та адаптивного перерозподілу ресурсів, що в тому числі обумовлює його стійкість.

3.3.2 Вплив культурального фільтрату *Fusarium spp.* на біохімічні реакції двох сортів гороху посівного

Серед біохімічних показників визначали вміст перекису водню (H_2O_2), фенолів та флавоноїдів, активність ферментів АОС – пероксидази (ПР) та поліфенолоксидази (ПФО), а також вміст калози та фотосинтетичних пігментів.

Рослини мають складний, багаторівневий захист у відповідь на дію стресових факторів. Деякі з механізмів захисту є специфічними до стресору, однак більшість з є універсальним. До таких універсальних механізмів належить утворення активних форм кисню (АФК). АФК синтезуються в різних органах і виконують важливі сигнальні функції, що регулюють процеси росту та захисту. У великих концентраціях вони проявляють локальну антимікробну дію, водночас їх надлишок також є токсичним для самої рослини, спричиняючи окислювальний стрес. Антиоксидантна система регулює вміст АФК шляхом їх нейтралізації або часткового розкладання на безпечні сполуки [106].

H_2O_2 є однією з найпоширеніших і найстабільніших активних форм кисню, накопичення якої супроводжується активацією ферментів пероксидаз. Каталаза ефективно розкладає H_2O_2 у високих концентраціях, не потребуючи додаткових донорів електронів, тоді як аскорбатпероксидаза переважно функціонує при нижчих рівнях. Розкладання перекису водню рамках циклу аскорбат-глутатіон здійснюється аскорбатпероксидазою, яка відновлює його до води, використовуючи аскорбат як донор електронів [77,106].

Результати аналізу вмісту перекису водню у відповідь на вплив культурального фільтрату *Fusarium spp.* показали його збільшення в кореневій системі проростків обох сортів (рис. 3.3.7) У контрольних варіантах концентрація H_2O_2 в кореневій частині становила 16,10 ммоль/г біомаси у проростків стійкого сорту Царевич та 13,31 ммоль/г біомаси у

проростків чутливого сорту Оплот. Під дією культурального фільтрату *Fusarium spp.* показники збільшилися на 26% у рослин сорту Царевич і на 32% у рослин сорту Оплот. При цьому лише збільшення вмісту H_2O_2 у кореневій частині проростків стійкого сорту Царевич було статистично значущим. Менш вираженими були зміни в надземній частині: у проростків стійкого сорту Царевич вміст H_2O_2 незначно підвищився, тоді як у проростків чутливого сорту Оплот спостерігалось слабе зниження показника. У надземній частині зміни були менш виражені і відзначались відмінності між сортами: у стійкого сорту Царевич H_2O_2 незначно підвищувався, що свідчить про ефективний локальний і системний захист, тоді як у чутливого сорту Оплот він знижувався, що може вказувати на менш ефективну координацію: надземна частина ще не активувала захисні механізми, тоді як коренева система перебуває під сильним окислювальним стресом.

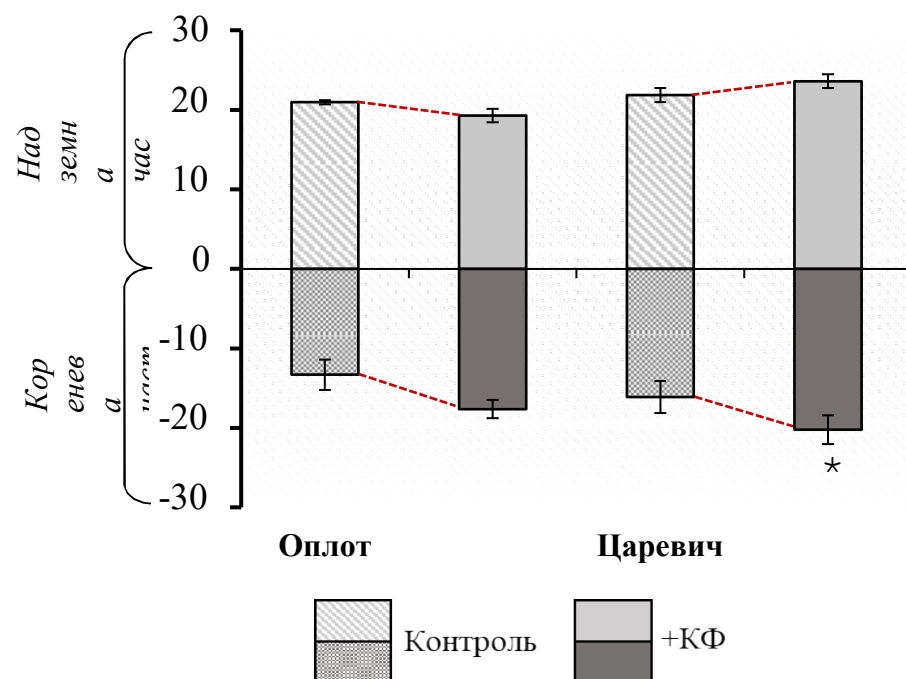


Рис. 3.3.7. Вміст перекису водню, H_2O_2 у проростках двох сортів гороху посівного під впливом культурального фільтрату *Fusarium spp.*, ммоль/г біомаси ($M \pm s$, $n=20$)

Примітка * – різниця з контролем істотна при $p \leq 0.05$

Активність пероксидази збільшувалась в усьому проростку обох сортів, переважно в підземній частині, при цьому спостерігались суттєві сортові відмінності (рис. 3.3.8)

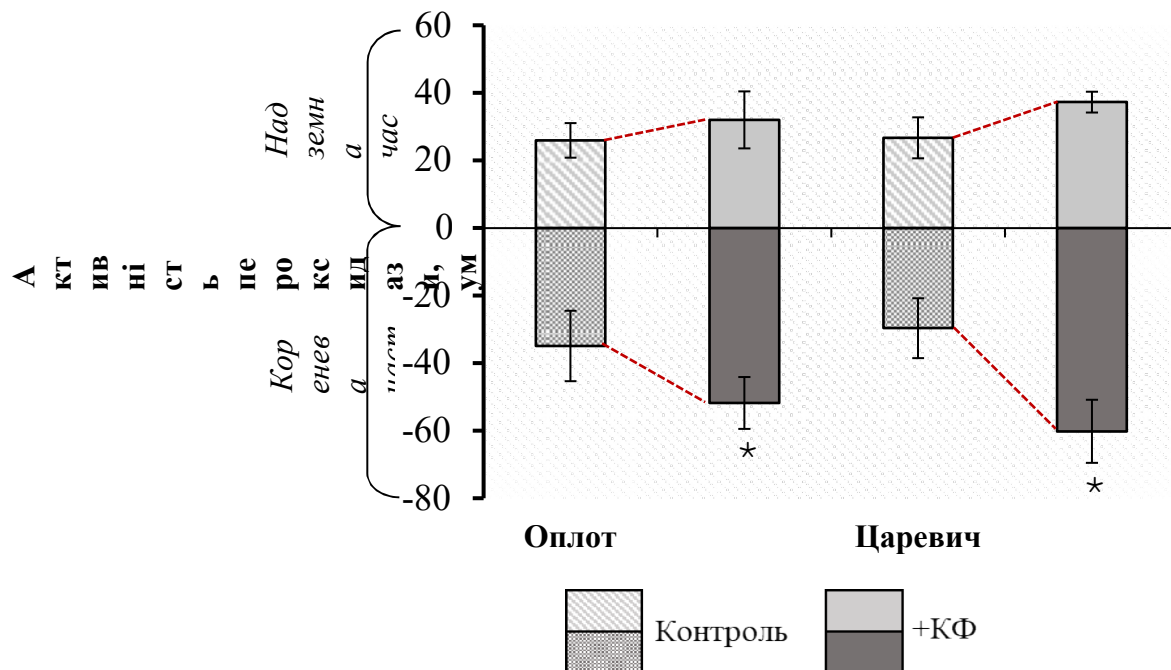


Рис. 3.3.8. Активність пероксидази у проростках двох сортів гороху посівного під впливом культурального фільтрату *Fusarium spp.*, ум.од/г ($M \pm s$, $n=20$)

Примітка * – різниця з контролем істотна при $p \leq 0.05$

У проростках стійкого сорту Царевич активність ферменту в контролі була 26,67 ум.од/г у надземній частині та 29,64 ум.од/г у підземній частині. Під дією культурального фільтрату *Fusarium spp.* ці показники зростали на 40% у надземній та 103% у кореневій частині. У проростках чутливого сорту Оплот активність ПР сягала 25,93 ум.од/г у надземній та 34,92 ум.од/г у підземній частині. Культуральний фільтрат сприяв збільшенню цих показників на 23% та 48% відповідно.

Згідно з результатами аналізу, із додаванням культурального фільтрату активність ПР була значно більшою у обох частинах проростку стійкого сорту Царевич, у порівнянні з чутливим сортом Оплот (рис. 3.3.8).

Фенольні сполуки, як неферментний компонент антиоксидантної системи, здатні використовувати різні механізми для запобігання окислювальному стресу. Основна антиоксидантна дія у більшості фенольних сполук проявляється через утворення хінонів – сполук, що виникають внаслідок ферментативного окислення фенолів. Ферменти поліфенолоксидази використовують фенольні сполуки як субстрат. Відповідно активність поліфенолоксидази частково залежить від накопичення фенольних сполук у тканинах [107].

Внаслідок аналізу вмісту фенолів та флавоноїдів виявлено виражені сортові відмінності реакцій (рис. 3.3.9 та 3.3.10).

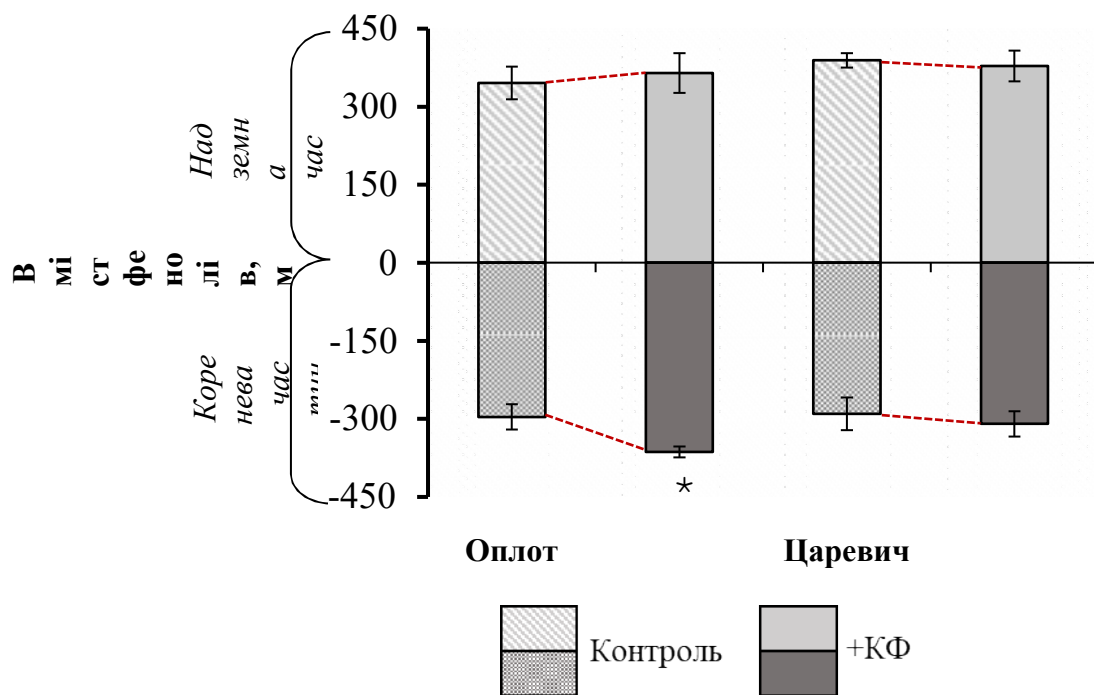


Рис. 3.3.9. Вміст фенолів у проростках двох сортів гороху посівного під впливом культурального фільтрату *Fusarium spp.*, мкг/г ($M \pm s$, $n=20$)

Примітка * – різниця з контролем істотна при $p \leq 0.05$

У стійкого сорту Царевич загальний вміст фенолів у контрольних проростках становив 389,27 мкг/г в надземній та 290,38 мкг/г в кореневій частині, тоді як у чутливого сорту оплот контрольні показники складала 345,64 мкг/г та 296,26 мкг/г відповідно. Під впливом культурального

фільтрату *Fusarium spp.* у проростках чутливого сорту Оплот вміст фенолів суттєво збільшився в кореневій системі – на 23%, тоді як у надземній частині він лише незначно підвищився. У проростків стійкого сорту Царевич зміни були менш виражені: вміст фенолів неістотно зріс у кореневій і мінімально зменшився у надземній частині.

Флавоноїди належать до підгрупи фенольних сполук. І характеризуються більш вираженою антиоксидантною активністю порівняно з іншими фенолами. Вони безпосередньо нейтралізують активні форми кисню, тоді як утворення хінонів не є основним механізмом їх функціонування [81].

В результаті аналізу вмісту флавоноїдів статистично значущої різниці не виявилося між контрольними та дослідними (з додаванням культурального фільтрату) варіантами у обох сортів (рис. 3.3.10).

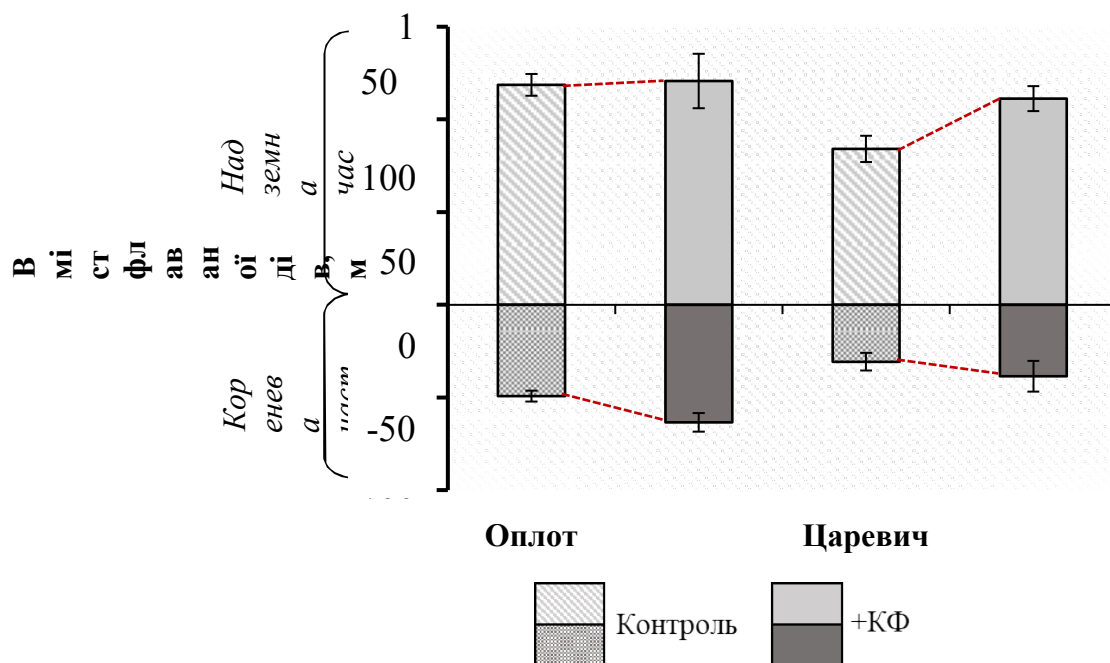


Рис. 3.3.10. Вміст флавоноїдів у проростках двох сортів гороху посівного під впливом культурального фільтрату *Fusarium spp.*, мкг/г ($M \pm s$, $n=20$) Примітка * – різниця з контролем істотна при $p \leq 0.05$

У контрольному варіанті вміст флавоноїдів у проростках стійкого сорту Царевич становив 83,97 мкг/г у надземній та 30,78 мкг/г у кореневій

частині. Водночас їхній вміст у проростках чутливого сорту Оплот був більший - 118,53 мкг/г та 49,32 мкг/г відповідно. Внаслідок дії культурального фільтрату *Fusarium spp.* вміст флавоноїдів зростав у кореневій частині проростків чутливого сорту Оплот і майже не змінився у надземній частині. У стійкого сорту Царевич показник зростав у всій рослині.

Активність поліфенолоксидази під впливом культурального фільтрату *Fusarium spp.* підвищилась в усьому проростку у обох сортів. При цьому найбільш суттєві зміни відбулись у кореневій системі (рис. 3.3.11).

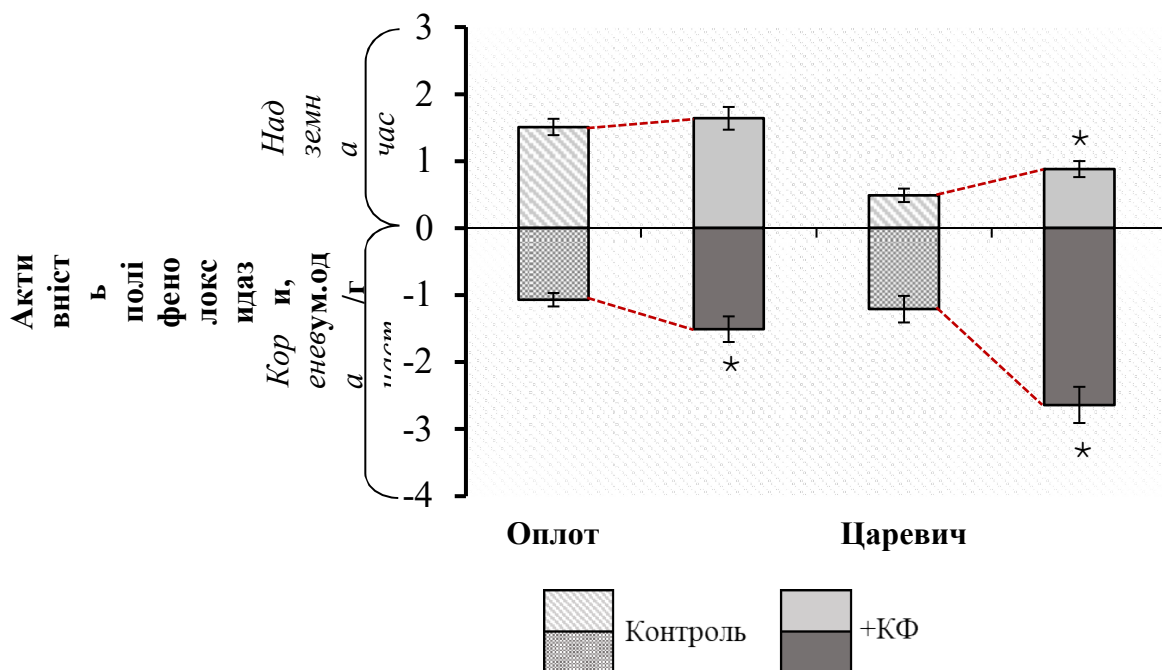


Рис. 3.3.11. Активність поліфенолоксидази у проростках двох сортів гороху посівного під впливом культурального фільтрату *Fusarium spp.*, ум.од/г ($M \pm s$, $n=20$)

Примітка * – різниця з контролем істотна при $p \leq 0.05$

В кореневій частині активність ПФО в контролі становила 1.21 ум.од/г у стійкого сорту Царевич та 1.07 ум.од/г у чутливого сорту Оплот. За умов культивування з додаванням культурального фільтрату показники суттєво збільшились – на 118% у проростків стійкого сорту Царевич та 42% у проростків чутливого сорту Оплот. У надземній частині проростків

стійкого сорту Царевич активність ПФО становила 0.49 ум.од/г, тоді як у проростків чутливого сорту Оплот цей показник був значно вищий - 1.51 ум.од/г. Під дією культурального фільтрату активність ПФО істотно збільшилась у проростках стійкого сорту Царевич – на 80%, тоді як у проростків чутливого сорту Оплот вона збільшилась неістотно.

Отримані результати дозволяють припустити наявність різних механізмів антиоксидантного захисту у двох сортів. У проростках стійкого сорту Царевич у відповідь на дію культурального фільтрату спостерігалось суттєве підвищення активності антиоксидантних ферментів – поліфенолоксидази та пероксидази – за умов менш інтенсивного накопичення фенольних сполук. У чутливого сорту Оплот, навпаки, спостерігалась нижча ферментативна активність за біотичного стресу, натомість значно підвищений базовий вміст флавоноїдів та вища активність ПФО в надземній частині проростка у контрольному варіанті, що може вказувати на переважання пасивного антиоксидантного захисту.

Загалом результати дослідження показників антиоксидантної системи свідчать про розвиток патогенного процесу, прояви якого локалізуються переважно в коренях і супроводжується накопиченням молекул H_2O_2 , фенольних сполук та активацією антиоксидантних ферментів як захисної реакції рослин. Було показано, що екзометаболіти *Fusarium spp.* здатні модулювати активність ферментів антиоксидантного захисту, зокрема пероксидази, які є чутливим індикатором окислювального стресу [108]. Показники вмісту H_2O_2 загалом корелювали з рівнем ферментативної активності пероксидази. Вміст фенолів та флавоноїдів у проростків умовно чутливого сорту Оплот був переважно більший, ніж у проростків стійкого сорту Царевич, натомість значення активності поліфенолоксидази демонстрували протилежну тенденцію, що може вказувати на активне використання субстрату ферментами стійкого сорту. У стійкого сорту Царевич рівень ферментативної активності переважно був більш ніж удвічі вищим у порівнянні з чутливим сортом Оплот, що вказує на його

ефективніший механізм антиоксидантного захисту. Ці результати узгоджуються з висновками, наведеними у роботі Spanic et al. (2017) [5], де також відзначали активацію антиоксидантних ферментів у відповідь на ураження *Fusarium spp.*, що пов'язують зі стійкістю сортів пшениці (*Triticum aestivum L.*).

Калоза – захисний структурний полісахарид, притаманний більшості вищих рослин, функція якого полягає у забезпеченні нормального росту та розвитку, а також у захисті від біотичних та абіотичних чинників. В нормальних умовах вона переважно регулює водний та мінеральний баланс клітин, змінюючи прохідність судинної системи та плазмодесм. Внаслідок патогенної інфекції калоза формує фізичні бар'єри, як правило, накопичуючись в уражених місцях для запобігання проникнення патогену, або в ситоподібних пластинках та плазмодесмах для запобігання його поширенню [86].

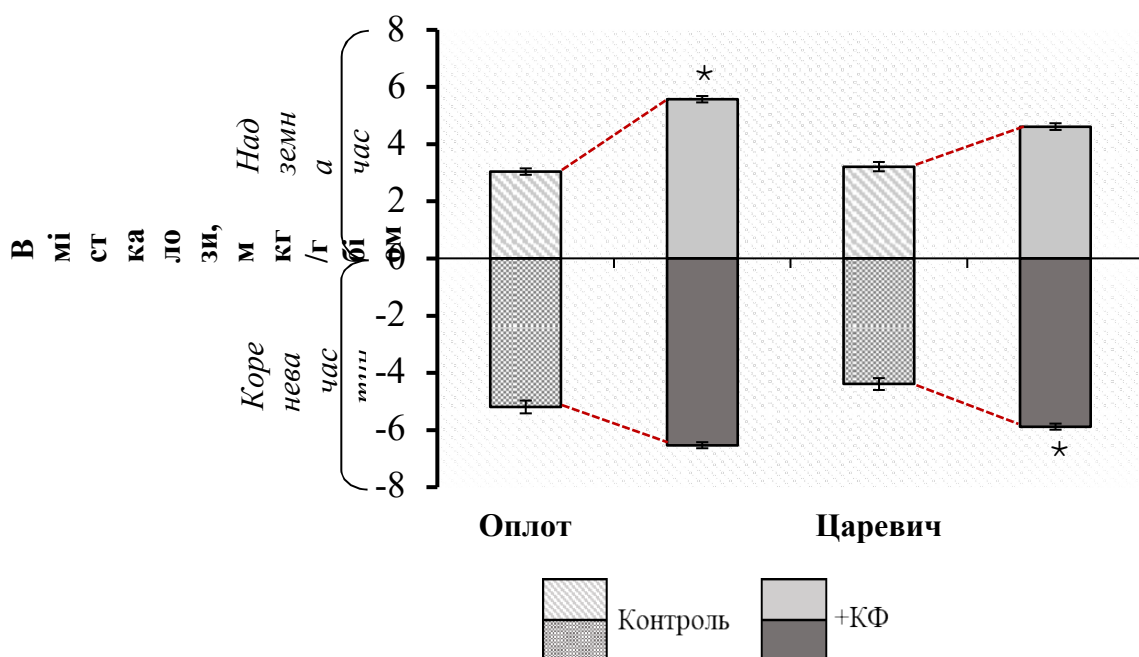


Рис. 3.3.12. Вміст калози у проростках двох сортів гороху посівного під впливом культурального фільтрату *Fusarium spp.*, мкг/г біомаси ($M \pm s$, $n=20$) Примітка * – різниця з контролем істотна при $p \leq 0.05$

Вміст калози під дією культурального фільтрату *Fusarium spp.* збільшився в усьому проростку у обох сортів. Водночас спостерігались сортоспецифічні відмінності (рис. 3.3.12).

В контрольному варіанті вміст калози в проростках стійкого сорту Царевич становив 3,21 мкг/г у надземній та 4,39 мкг/г у кореневій частині. У проростків чутливого сорту Оплот надземна частина містила 3,04 мкг/г, а коренева - 5,19 мкг/г. Під впливом культурального фільтрату *Fusarium spp.* у проростках чутливого сорту Оплот її вміст калози збільшився на 83% у надземній і менш суттєво у кореневій частині. У проростках стійкого сорту Царевич була більш виражена реакція в кореневій частині – вміст калози збільшився на 34%. Водночас у надземній частині показник підвищився дещо сильніше, однак різниця не була статистично значущою.

Зазвичай під час зараження, калоза перш за все концентрується у місці проникнення патогена. Відповідно, можна припустити, що стійкий сорт Царевич має більш дієвий захист – переважне збільшення концентрації калози в кореневій системі свідчить про ефективну локалізацію патогена та обмежене його поширення до надземних органів. Натомість у проростків чутливого сорту Оплот вміст калози в надземній частині значно перевищує її рівень у кореневій частині, що може вказувати на менш результативну локалізацію патогена та швидше системне поширення інфекції.

Фотосинтетична активність та вміст фотосинтетичних пігментів є чутливим індикатором фізіологічного стану рослин. Під час інтенсивного стресу відбувається порушення функціонування хлоропластів і деградація пігментів. Окислювальний стрес пригнічує синтез основних фотосинтетичних пігментів вищих рослин – хлорофілу а та хлорофілу б – що призводить до зниження активності фотосинтезу та розвитку симптомів хлорозу [109,110]. При цьому пігменти каротиноїди мають антиоксидантні властивості, тому їхня концентрація у рослин під час стресу може зростати [106].

Вміст фотосинтетичних пігментів у рослин обох сортів переважно зменшувався, проте у характері змін була виявлена суттєва різниця між сортами (рис. 3.3.13).

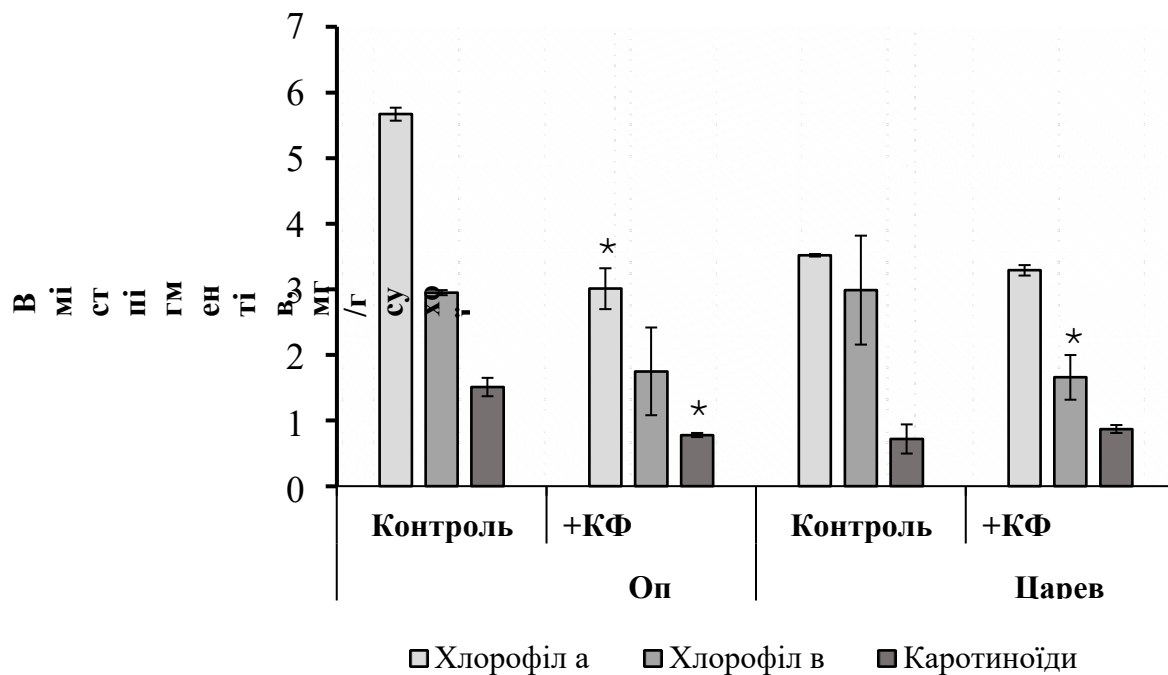


Рис. 3.3.13. Вміст фотосинтетичних пігментів у проростках двох сортів гороху посівного під впливом культурального фільтрату *Fusarium spp.*, мг/г сухої маси ($M \pm s$, $n=20$)

Примітка * – різниця з контролем істотна при $p \leq 0.05$

У листках стійкого сорту Царевич вміст пігментів у контрольному варіанті був наступний (мг/г): хлорофіл а - 3,52, хлорофіл б - 2,99, каротиноїди - 0,72. У чутливого сорту Оплот у контролі вміст хлорофілу б був майже ідентичний до значення стійкого сорту, тоді як показники хлорофілу а та каротиноїдів були суттєво більші – 5,67 мг/г та 1,51 мг/г відповідно.

У рослин часто спостерігається компроміс між інтенсивністю ростових процесів та ефективністю захисних реакцій. Сорти, що характеризуються високою базовою фотосинтетичною активністю та продуктивністю, зазвичай мають нижчу стійкість до біотичних та абіотичних стресів. Водночас сорти з підвищеною стійкістю демонструють

помірний ріст, але мають ефективніший захист [105]. Це може пояснювати більшу концентрацію пігментів у проростках чутливого сорту Оплот.

Під дією культурального фільтрату найбільш суттєве пригнічення пігментів спостерігалось у проростках чутливого сорту Оплот: вміст хлорофілу а зменшився на 47%, каротиноїдів – на 48%, хлорофілу b – у меншій мірі. У рослин сорту Царевич достовірно зниження зафіксовано лише для хлорофілу b – на 44% , тоді як концентрація хлорофілу а майже не змінилась, а вміст каротиноїдів навіть дещо перевищував контрольні значення.

Результати аналізу вмісту фотосинтетичних пігментів вказують на те, що у сорту Оплот відбулось загальне пригнічення пігментів під дією культурального фільтрату *Fusarium spp.*, що свідчить про сильніше порушення фотосинтетичного апарату. Натомість у сорту Царевич спостерігались адаптивні зміни співвідношення пігментів, зокрема збільшення вмісту каротиноїдів - пігментів, які виконують також захисну антиоксидантну функцію.

Згідно з результатами комплексного біохімічного аналізу, виявлено, що стійкий сорт Царевич має швидшу та інтенсивнішу антиоксидантну ферментативну відповідь, тоді як чутливий сорт Оплот реагує на зараження повільніше та характеризується меншою активністю ферментів, пов'язаних з антиоксидантним захистом. При цьому високий базовий вміст флавоноїдів та вища активність ПФО в контролі у чутливого сорту може вказувати на переважання пасивного антиоксидантного захисту. Водночас у проростках стійкого сорту Царевич спостерігалась ефективніша локалізація інфекції в кореневій системі та менше порушення фотосинтетичного апарату у порівнянні з чутливим сортом Оплот.

ВИСНОВКИ

У межах дипломної роботи було проведено низку експериментів, серед яких головну увагу приділено вивченню впливу культурального фільтрату *Fusarium* spp. на ростову та захисну реакцію двох сортів гороху посівного з різною стійкістю. Додатково досліджено вплив фотоопромінення червоним і синім світлом на ріст та нестатеве спороношення *Fusarium oxysporum* та проведено скринінг сортів гороху для визначення об'єктів основного експерименту.

1. Встановлено, що синє світло сприяє росту та нестатевому спороношенню *Fusarium* spp., тоді як червоне світло помітно інгібує ріст колоній.
2. Додавання культурального фільтрату *Fusarium* spp. спричиняло суттєве зниження ростової реакції проростків обох сортів. При чому найбільше пригнічення проявлялось у кореневій системі, внаслідок чого рослини характеризувались підвищеним співвідношенням підземної та надземної частин.
3. В результаті морфометричного аналізу також спостерігалось пригнічення реакцій ризогенезу, що проявлялось у переважному зменшенні кількості та довжини бічних коренів першого порядку. Водночас у проростків стійкого сорту Царевич кількість бічних коренів майже не змінилась. Реакції морфогенезу надземної частини були менш виражені.
4. Виявлено збільшення вмісту та активності компонентів АОС у відповідь на біотичний стрес, спричинений метаболітами *Fusarium* spp. Найбільше зростання показників також спостерігалось кореневій системі, що свідчить про активний розвиток патогенного процесу саме в корені. Насамперед зросла активність антиоксидантних ферментів пероксидази та поліфенолоксидази. При цьому у стійкого

сорту Царевич показними були вищі, ніж у чутливого сорту Оплот, що може свідчити про участь компонентів антиоксидантної системи у забезпеченні часткової стійкості рослин до біотичного стресу.

5. Аналіз вмісту калози виявив одночасний локальний та системний характер захисту. При цьому більша системність реакції у проростках чутливого сорт Оплот може свідчити про повільнішу та менш ефективну захисну реакцію.
6. Внаслідок біотичного стресу, спричиненого метаболітами *Fusarium* spp. у чутливого сорту Оплот спостерігалось загальне порушення фотосинтетичного апарату, що проявлялось суттєвому зменшенні вмісту фотосинтетичних пігментів, тоді як у стійкого сорту Царевич відбувалась зміна співвідношення пігментів, що може бути пов'язана з адаптацією.

СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. Wu, D.-T., Li, W.-X., Wan, J.-J., Hu, Y.-C., Gan, R.-Y., & Zou, L. (2023). A Comprehensive Review of Pea (*Pisum sativum* L.): Chemical Composition, Processing, Health Benefits, and Food Applications. *Foods*, 12(13), 2527. <https://doi.org/10.3390/foods12132527>
2. Stagnari, F., Maggio, A., Galieni, A., & Pisante, M. (2017). Multiple benefits of legumes for agriculture sustainability: An overview. *Chemical and Biological Technologies in Agriculture*, 4(1), 2. <https://doi.org/10.1186/s40538-016-0085-1>
3. Hafiz, M. U., Talha, S., Sara, A., Ayesha, B., Moazzma, A., Lubna, S., Sonum, B., Eman, F., Tooba, K., & Talha, R. (2025). Insights into Fusarium Wilt of Peas (*Pisum sativum*) and its Management Strategies. *Journal of Agriculture and Food*, 6(1), 20–34. <https://doi.org/10.52587/JAF060102>
4. Orabi, S., & Abou-Hussein, S. (2019). Antioxidant defense mechanisms enhance oxidative stress tolerance in plants. A review. *Current Research Web*, 8(3), 565–576.
5. Spanic, V., Viljevac Vuletic, M., Abicic, I., & Marcek, T. (2017). Early response of wheat antioxidant system with special reference to Fusarium head blight stress. *Plant Physiology and Biochemistry*, 115, 34–43. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2017.03.010>
6. Ekwomadu, T. I., & Mwanza, M. (2023). Fusarium Fungi Pathogens, Identification, Adverse Effects, Disease Management, and Global Food Security: A Review of the Latest Research. *Agriculture*, 13(9), 1810. <https://doi.org/10.3390/agriculture13091810>
7. Dean, R., Van Kan, J. A. L., Pretorius, Z. A., Hammond-Kosack, K. E., Di Pietro, A., Spanu, P. D., Rudd, J. J., Dickman, M., Kahmann, R., Ellis, J., & Foster, G. D. (2012). The Top 10 fungal pathogens in molecular plant pathology. *Molecular Plant Pathology*, 13(4), 414–430. <https://doi.org/10.1111/j.1364-3703.2011.00783.x>
8. National Center for Biotechnology Information (NCBI). (n.d.). *NCBI Taxonomy Browser*. Retrieved August 21, 2025, from <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/Taxonomy/Browser/wwwtax.cgi?mode=Undef&i>

d=5506&lvl=3&lin=s&keep=1&srchmode=1&unlock&log_op=lineage_toggle

9. Bahadur, A. (2022). Current Status of *Fusarium* and Their Management Strategies. In S. Mahyar Mirmajlessi (Ed.), *Fusarium—An Overview of the Genus*. IntechOpen. <https://doi.org/10.5772/intechopen.100608>
10. Van Diepeningen, A. D., Al-Hatmi, A. M. S., Brankovics, B., & De Hoog, G. S. (2014). Taxonomy and Clinical Spectra of *Fusarium* Species: Where Do We Stand in 2014? *Current Clinical Microbiology Reports*, 1(1–2), 10–18. <https://doi.org/10.1007/s40588-014-0003-x>
11. Hof, H. (2020). The Medical Relevance of *Fusarium* spp. *Journal of Fungi*, 6(3), 117. <https://doi.org/10.3390/jof6030117>
12. Andriushchenko, O. V., & Strashnova, I. V. (2023). Characteristics of representatives of the genus *Fusarium* causing cereal crops diseases. *Microbiology&Biotechnology*, 3(59), 37–59. [https://doi.org/10.18524/2307-4663.2023.3\(59\).293001](https://doi.org/10.18524/2307-4663.2023.3(59).293001)
13. Šišić, A., Baćanović, J., & Finckh, M. R. (2017). Endophytic *Fusarium* equiseti stimulates plant growth and reduces root rot disease of pea (*Pisum sativum* L.) caused by *Fusarium avenaceum* and *Peyronellaea pinodella*. *European Journal of Plant Pathology*, 148(2), 271–282. <https://doi.org/10.1007/s10658-016-1086-4>
14. Safarieskandari, S., Chatterton, S., & Hall, L. M. (2021). Pathogenicity and host range of *Fusarium* species associated with pea root rot in Alberta, Canada. *Canadian Journal of Plant Pathology*, 43(1), 162–171. <https://doi.org/10.1080/07060661.2020.1730442>
15. Baćanović-Šišić, J., Šišić, A., Schmidt, J. H., & Finckh, M. R. (2018). Identification and characterization of pathogens associated with root rot of winter peas grown under organic management in Germany. *European Journal of Plant Pathology*, 151(3), 745–755. <https://doi.org/10.1007/s10658-017-1409-0>
16. Šišić, A., Baćanović-Šišić, J., Karlovsky, P., Wittwer, R., Walder, F., Campiglia, E., Radicetti, E., Friberg, H., Baresel, J. P., & Finckh, M. R. (2018). Roots of symptom-free leguminous cover crop and living mulch species harbor diverse *Fusarium* communities that show highly variable aggressiveness on pea

(*Pisum sativum*). *PLOS ONE*, 13(2), e0191969.
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0191969>

17. Chang, X., Dai, H., Wang, D., Zhou, H., He, W., Fu, Y., Ibrahim, F., Zhou, Y., Gong, G., Shang, J., Yang, J., Wu, X., Yong, T., Song, C., & Yang, W. (2018). Identification of *Fusarium* species associated with soybean root rot in Sichuan Province, China. *European Journal of Plant Pathology*, 151(3), 563–577.
<https://doi.org/10.1007/s10658-017-1410-7>

18. Leslie, J. F., & Summerell, B. A. (2006). *The fusarium laboratory manual* (1st ed). Blackwell Pub.

19. Perincherry, L., Lalak-Kańczugowska, J., & Stępień, Ł. (2019). Fusarium-Produced Mycotoxins in Plant-Pathogen Interactions. *Toxins*, 11(11), 664. <https://doi.org/10.3390/toxins11110664>

20. Ekwomadu, T. I., Akinola, S. A., & Mwanza, M. (2021). Fusarium Mycotoxins, Their Metabolites (Free, Emerging, and Masked), Food Safety Concerns, and Health Impacts. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 18(22), 11741. <https://doi.org/10.3390/ijerph182211741>

21. Masuda, D., Ishida, M., Yamaguchi, K., Yamaguchi, I., Kimura, M., & Nishiuchi, T. (2007). Phytotoxic effects of trichothecenes on the growth and morphology of *Arabidopsis thaliana*. *Journal of Experimental Botany*, 58(7), 1617–1626. <https://doi.org/10.1093/jxb/erl298>

22. Danuta, P., & Sliwinska, E. (2005). Trichothecene fusarial toxins perturb the cell cycle in meristem-atic cells of *Secale cereale* L., *Triticum aestivum* L. and *Vicia faba* L. *Caryologia*, 58(1), 86–93. <https://doi.org/10.1080/00087114.2005.10589438>

23. Jalal Hussein, N., & Saadullah, A. A. M. (2024). Cytogenotoxic effect of trichothecene T2 toxin on *Allium sativum* root tip meristematic cells. *Bionatura Journal*, 9(1), 1–9. <https://doi.org/10.21931/RB/2024.09.01.45>

24. Lamprecht, S. C. (1994). Phytotoxicity of Fumonisin and TA-Toxin to Corn and Tomato. *Phytopathology*, 84(4), 383. <https://doi.org/10.1094/Phyto-84-383>

25. Kritzinger, Q., Aveling, T. A. S., & Van Der Merwe, C. F. (2006).

Phytotoxic effects of fumonisin B1 on cowpea seed. *Phytoparasitica*, 34(2), 178–186. <https://doi.org/10.1007/BF02981318>

26. Ropejko, K., & Twarużek, M. (2021). Zearalenone and Its Metabolites—General Overview, Occurrence, and Toxicity. *Toxins*, 13(1), 35. <https://doi.org/10.3390/toxins13010035>

27. Biesaga-Koscielniak, J., Marcinska, I., Wedzony, M., & Koscielniak, J. (2003). Effect of zearalenone treatment on the production of wheat haploids via the maize pollination system. *Plant Cell Reports*, 21(11), 1035–1039. <https://doi.org/10.1007/s00299-003-0622-9>

28. Kościelniak, J., Biesaga-Kościelniak, J., Janeczko, A., Filek, W., & Kalaji, H. M. (2009). Can the Giberella zeae toxin zearalenone affect the photosynthetic productivity and increase yield formation in spring wheat and soybean plants? *Photosynthetica*, 47(4), 586–594. <https://doi.org/10.1007/s11099-009-0084-6>

29. Dziurka, M., Maksymowicz, A., Ostrowska, A., & Biesaga-Kościelniak, J. (2021). The Interaction Effect of Drought and Exogenous Application of Zearalenone on the Physiological, Biochemical Parameters and Yield of Legumes. *Journal of Plant Growth Regulation*, 40(5), 1824–1835. <https://doi.org/10.1007/s00344-020-10229-7>

30. Iqbal, N., Czékus, Z., Ördög, A., & Poór, P. (2024). Fusaric acid-evoked oxidative stress affects plant defence system by inducing biochemical changes at subcellular level. *Plant Cell Reports*, 43(1), 2. <https://doi.org/10.1007/s00299-023-03084-9>

31. Singh, V. K., & Upadhyay, R. S. (2014). Fusaric acid induced cell death and changes in oxidative metabolism of *Solanum lycopersicum* L. *Botanical Studies*, 55(1), 66. <https://doi.org/10.1186/s40529-014-0066-2>

32. Singh, V. K., Singh, H. B., & Upadhyay, R. S. (2017). Role of fusaric acid in the development of ‘Fusarium wilt’ symptoms in tomato: Physiological, biochemical and proteomic perspectives. *Plant Physiology and Biochemistry*, 118, 320–332. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2017.06.028>

33. Dong, X., Ling, N., Wang, M., Shen, Q., & Guo, S. (2012). Fusaric acid is a crucial factor in the disturbance of leaf water imbalance in *Fusarium*-infected banana plants. *Plant Physiology and Biochemistry*, 60, 171–179. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2012.08.004>
34. Castillo, M., Samar, M., Moltó, G., Resnik, S., & Pacin, A. (2002). Trichothecenes and zearalenone production by *Fusarium* species isolated from Argentinean black beans. *Mycotoxin Research*, 18(1), 31–36. <https://doi.org/10.1007/BF02946137>
35. Schöneberg, T., Kibler, K., Sulyok, M., Musa, T., Bucheli, T. D., Mascher, F., Bertossa, M., Voegelé, R. T., & Vogelgsang, S. (2018). Can plant phenolic compounds reduce *Fusarium* growth and mycotoxin production in cereals? *Food Additives & Contaminants: Part A*, 35(12), 2455–2470. <https://doi.org/10.1080/19440049.2018.1538570>
36. Ferrigo, D., Bharti, S., Mondin, M., & Raiola, A. (2021). Effect of Naturally Occurring Compounds on Fumonisin Production and fum Gene Expression in *Fusarium verticillioides*. *Agronomy*, 11(6), 1060. <https://doi.org/10.3390/agronomy11061060>
37. Perincherry, L., Witaszak, N., Urbaniak, M., Waśkiewicz, A., & Stępień, Ł. (2021). Effects of Secondary Metabolites from Pea on *Fusarium* Growth and Mycotoxin Biosynthesis. *Journal of Fungi*, 7(12), 1004. <https://doi.org/10.3390/jof7121004>
38. Losi, A., & Gärtner, W. (2021). A light life together: Photosensing in the plant microbiota. *Photochemical & Photobiological Sciences*, 20(3), 451–473. <https://doi.org/10.1007/s43630-021-00029-7>
39. Bayram, Ö. S., & Bayram, Ö. (2023). An Anatomy of Fungal Eye: Fungal Photoreceptors and Signalling Mechanisms. *Journal of Fungi*, 9(5), 591. <https://doi.org/10.3390/jof9050591>
40. Corrochano, L. M. (2011). Fungal photobiology: A synopsis. *IMA Fungus*, 2(1), 25–28. <https://doi.org/10.5598/ima fungus.2011.02.01.04>
41. Pardo-Medina, J., Limón, M. C., & Avalos, J. (2023). *Fusarium* Photoreceptors. *Journal of Fungi*, 9(3), 319. <https://doi.org/10.3390/jof9030319>
42. Ballario, P., Vittorioso, P., Magrelli, A., Talora, C., Cabibbo, A., &

Macino, G. (1996). White collar-1, a central regulator of blue light responses in *Neurospora*, is a zinc finger protein. *The EMBO Journal*, 15(7), 1650–1657. <https://doi.org/10.1002/j.1460-2075.1996.tb00510.x>

43. Linden, H. (1997). White collar 2, a partner in blue-light signal transduction, controlling expression of light-regulated genes in *Neurospora crassa*. *The EMBO Journal*, 16(1), 98–109. <https://doi.org/10.1093/emboj/16.1.98>

44. Ruiz-Roldán, M. C., Garre, V., Guarro, J., Mariné, M., & Roncero, M. I. G. (2008). Role of the White Collar 1 Photoreceptor in Carotenogenesis, UV Resistance, Hydrophobicity, and Virulence of *Fusarium oxysporum*. *Eukaryotic Cell*, 7(7), 1227–1230. <https://doi.org/10.1128/EC.00072-08>

45. Kim, H., Kim, H.-K., Lee, S., & Yun, S.-H. (2015). The White Collar Complex Is Involved in Sexual Development of *Fusarium graminearum*. *PLOS ONE*, 10(3), e0120293. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0120293>

46. Estrada, A. F., & Avalos, J. (2008). The White Collar protein WcoA of *Fusarium fujikuroi* is not essential for photocarotenogenesis, but is involved in the regulation of secondary metabolism and conidiation. *Fungal Genetics and Biology*, 45(5), 705–718. <https://doi.org/10.1016/j.fgb.2007.12.003>

47. Castrillo, M., García-Martínez, J., & Avalos, J. (2013). Light-Dependent Functions of the *Fusarium fujikuroi* CryD DASH Cryptochrome in Development and Secondary Metabolism. *Applied and Environmental Microbiology*, 79(8), 2777–2788. <https://doi.org/10.1128/AEM.03110-12>

48. Adam, A., Deimel, S., Pardo-Medina, J., García-Martínez, J., Konte, T., Limón, M., Avalos, J., & Terpitz, U. (2018). Protein Activity of the *Fusarium fujikuroi* Rhodopsins CarO and OpsA and Their Relation to Fungus–Plant Interaction. *International Journal of Molecular Sciences*, 19(1), 215. <https://doi.org/10.3390/ijms19010215>

49. Wang, Z., Wang, J., Li, N., Li, J., Trail, F., Dunlap, J. C., & Townsend, J. P. (2018). Light sensing by opsins and fungal ecology: NOP-1 modulates entry into sexual reproduction in response to environmental cues. *Molecular Ecology*, 27(1), 216–232. <https://doi.org/10.1111/mec.14425>

50. Mooney, J. L., & Yager, L. N. (1990). Light is required for conidiation in *Aspergillus nidulans*. *Genes & Development*, 4(9), 1473–1482.

<https://doi.org/10.1101/gad.4.9.1473>

51. Blumenstein, A., Vienken, K., Tasler, R., Purschwitz, J., Veith, D., Frankenberg-Dinkel, N., & Fischer, R. (2005). The *Aspergillus nidulans* Phytochrome FphA Represses Sexual Development in Red Light. *Current Biology*, 15(20), 1833–1838. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2005.08.061>

52. Wiemann, P., Brown, D. W., Kleigrew, K., Bok, J. W., Keller, N. P., Humpf, H., & Tudzynski, B. (2010). FfVel1 and FfLae1, components of a velvet-like complex in *Fusarium fujikuroi*, affect differentiation, secondary metabolism and virulence. *Molecular Microbiology*, 77(4), 972–994. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2958.2010.07263.x>

53. Castrillo, M., & Avalos, J. (2015). The Flavoproteins CryD and VvdA Cooperate with the White Collar Protein WcoA in the Control of Photocarotenogenesis in *Fusarium fujikuroi*. *PLOS ONE*, 10(3), e0119785. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0119785>

54. Shabeer, S., Tahira, R., & Jamal, A. (2021). *Fusarium* spp. Mycotoxin Production, Diseases and their Management: An Overview. *Pakistan Journal of Agricultural Research*, 34(2). <https://doi.org/10.17582/journal.pjar/2021/34.2.278.293>

55. Pegg, K. G., Coates, L. M., O'Neill, W. T., & Turner, D. W. (2019). The Epidemiology of *Fusarium* Wilt of Banana. *Frontiers in Plant Science*, 10, 1395. <https://doi.org/10.3389/fpls.2019.01395>

56. Tu, J. C. (2005). Effects of soil compaction, temperature, and moisture on the development of the *Fusarium* root rot complex of pea in southwestern Ontario. *Phytoprotection*, 75(3), 125–131. <https://doi.org/10.7202/706059ar>

57. Xu, X. (2003). Effects of environmental conditions on the development of *Fusarium* ear blight. In X. Xu, J. A. Bailey, & B. M. Cooke (Eds.), *Epidemiology of Mycotoxin Producing Fungi* (pp. 683–689). Springer Netherlands. https://doi.org/10.1007/978-94-017-1452-5_3

58. Sarnaik, R., Shelake, J., & Waghmare, M. (2025). *Fusarium* wilt of brinjal: Impact, pathogenicity, and sustainable management strategies. *Discover Plants*, 2(1), 244. <https://doi.org/10.1007/s44372-025-00331-z>

59. Gossen, B. D., Conner, R. L., Chang, K.-F., Pasche, J. S., McLaren, D.

L., Henriquez, M. A., Chatterton, S., & Hwang, S.-F. (2016). Identifying and Managing Root Rot of Pulses on the Northern Great Plains. *Plant Disease*, 100(10), 1965–1978. <https://doi.org/10.1094/PDIS-02-16-0184-FE>

60. Ch, R., Muhammad, M., Mushtaq, A., Imtiaz, A., Sadia, K., Muhammad, S., Muhammad, S., & Umer, I. (2020). Fusarium wilt's pathogenic studies and disease management: A review. *Genetics and Molecular Research*, 19(1).

61. Carvalho, D. D. C., De Mello, S. C. M., Martins, I., & Lobo, M. (2015). Biological control of Fusarium wilt on common beans by in-furrow application of *Trichoderma harzianum*. *Tropical Plant Pathology*, 40(6), 375–381. <https://doi.org/10.1007/s40858-015-0057-1>

62. Boakye, T. A., Li, H., Osei, R., Boamah, S., Min, Z., Ni, C., Wu, J., Shi, M., & Qiao, W. (2022). Antagonistic Effect of *Trichoderma longibrachiatum* (TL6 and TL13) on *Fusarium solani* and *Fusarium avenaceum* Causing Root Rot on Snow Pea Plants. *Journal of Fungi*, 8(11), 1148. <https://doi.org/10.3390/jof8111148>

63. Lal, D., Dev, D., Kumari, S., Pandey, S., Aparna, Sharma, N., Nandni, S., Jha, R. K., & Singh, A. (2024). Fusarium wilt pandemic: Current understanding and molecular perspectives. *Functional & Integrative Genomics*, 24(2), 41. <https://doi.org/10.1007/s10142-024-01319-w>

64. Jha, U. C., Bohra, A., Pandey, S., & Parida, S. K. (2020). Breeding, Genetics, and Genomics Approaches for Improving Fusarium Wilt Resistance in Major Grain Legumes. *Frontiers in Genetics*, 11, 1001. <https://doi.org/10.3389/fgene.2020.01001>

65. Srivastava, V., Patra, K., Pai, H., Aguilar-Pontes, M. V., Berasategui, A., Kamble, A., Di Pietro, A., & Redkar, A. (2024). Molecular Dialogue During Host Manipulation by the Vascular Wilt Fungus *Fusarium oxysporum*. *Annual Review of Phytopathology*, 62(1), 97–126. <https://doi.org/10.1146/annurev-phyto-021722-034823>

66. Dong, X., Xiong, Y., Ling, N., Shen, Q., & Guo, S. (2014). Fusaric acid accelerates the senescence of leaf in banana when infected by *Fusarium*. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 30(4), 1399–1408.

<https://doi.org/10.1007/s11274-013-1564-1>

67. De Micco, V., Balzano, A., Wheeler, E. A., & Baas, P. (2016). Tyloses and gums: a review of structure, function and occurrence of vessel occlusions. *IAWA Journal*, 37(2), 186–205. <https://doi.org/10.1163/22941932-20160130>

68. Fusarium Root Rot in Pulse Crops. (2023, May 9). *Saskatchewan Pulse Growers*. <https://saskpulse.com/resources/fusarium-root-rot-in-pulse-crops/>

69. Zitnick-Anderson, K., Simons, K., & Pasche, J. S. (2018). Detection and qPCR quantification of seven *Fusarium* species associated with the root rot complex in field pea. *Canadian Journal of Plant Pathology*, 40(2), 261–271. <https://doi.org/10.1080/07060661.2018.1429494>

70. Chatterton, S., Harding, M. W., Bowness, R., McLaren, D. L., Banniza, S., & Gossen, B. D. (2019). Importance and causal agents of root rot on field pea and lentil on the Canadian prairies, 2014–2017. *Canadian Journal of Plant Pathology*, 41(1), 98–114. <https://doi.org/10.1080/07060661.2018.1547792>

71. Esmaeili Taheri, A., Chatterton, S., Foroud, N. A., Gossen, B. D., & McLaren, D. L. (2017). Identification and community dynamics of fungi associated with root, crown, and foot rot of field pea in western Canada. *European Journal of Plant Pathology*, 147(3), 489–500. <https://doi.org/10.1007/s10658-016-1017-4>

72. Porter, L. D., Pasche, J. S., Chen, W., & Harveson, R. M. (2015). Isolation, Identification, Storage, Pathogenicity Tests, Hosts, and Geographic Range of *Fusarium solani* f. Sp. Pisi Causing *Fusarium* Root Rot of Pea. *Plant Health Progress*, 16(3), 136–145. <https://doi.org/10.1094/PHP-DG-15-0013>

73. A. Lal, M., Kathpalia, R., Sisodia, R., & Shakya, R. (2018). Biotic Stress. In S. C. Bhatla & M. A. Lal, *Plant Physiology, Development and Metabolism* (pp. 1029–1095). Springer Nature Singapore. https://doi.org/10.1007/978-981-13-2023-1_32

74. Breen, S., McLellan, H., Birch, P. R. J., & Gilroy, E. M. (2023). Tuning the Wavelength: Manipulation of Light Signaling to Control Plant Defense. *International Journal of Molecular Sciences*, 24(4), 3803. <https://doi.org/10.3390/ijms24043803>

75. Du, B., Haensch, R., Alfarraj, S., & Rennenberg, H. (2024). Strategies

of plants to overcome abiotic and biotic stresses. *Biological Reviews*, 99(4), 1524–1536. <https://doi.org/10.1111/brv.13079>

76. Al-Khayri, J. M., Rashmi, R., Toppo, V., Chole, P. B., Banadka, A., Sudheer, W. N., Nagella, P., Shehata, W. F., Al-Mssallem, M. Q., Alessa, F. M., Almaghasla, M. I., & Rezk, A. A.-S. (2023). Plant Secondary Metabolites: The Weapons for Biotic Stress Management. *Metabolites*, 13(6), 716. <https://doi.org/10.3390/metabo13060716>

77. Dumanović, J., Nepovimova, E., Natić, M., Kuča, K., & Jaćević, V. (2021). The Significance of Reactive Oxygen Species and Antioxidant Defense System in Plants: A Concise Overview. *Frontiers in Plant Science*, 11, 552969. <https://doi.org/10.3389/fpls.2020.552969>

78. Sharma, P., Jha, A. B., Dubey, R. S., & Pessarakli, M. (2012). Reactive Oxygen Species, Oxidative Damage, and Antioxidative Defense Mechanism in Plants under Stressful Conditions. *Journal of Botany*, 2012, 1–26. <https://doi.org/10.1155/2012/217037>

79. Jiang, Z., Zhu, H., Zhu, H., Tao, Y., Liu, C., Liu, J., Yang, F., & Li, M. (2022). Exogenous ABA Enhances the Antioxidant Defense System of Maize by Regulating the AsA-GSH Cycle under Drought Stress. *Sustainability*, 14(5), 3071. <https://doi.org/10.3390/su14053071>

80. Biswas, K., Adhikari, S., Tarafdar, A., Kumar, R., Saha, S., & Ghosh, P. (2020). Reactive Oxygen Species and Antioxidant Defence Systems in Plants: Role and Crosstalk Under Biotic Stress. In R. Roychowdhury, S. Choudhury, M. Hasanuzzaman, & S. Srivastava (Eds.), *Sustainable Agriculture in the Era of Climate Change* (pp. 265–292). Springer International Publishing. https://doi.org/10.1007/978-3-030-45669-6_12

81. Patil, J. R., Mhatre, K. J., Yadav, K., Yadav, L. S., Srivastava, S., & Nikalje, G. C. (2024). Flavonoids in plant-environment interactions and stress responses. *Discover Plants*, 1(1), 68. <https://doi.org/10.1007/s44372-024-00063-6>

82. Luhová, L., Lebeda, A., Kutrová, E., Hedererová, D., & Peč, P. (2006). Peroxidase, catalase, amine oxidase and acid phosphatase activities in *Pisum*

sativum during infection with *Fusarium oxysporum* and *F. solani*. *Biologia Plantarum*, 50(4), 675–682. <https://doi.org/10.1007/s10535-006-0105-2>

83. Anthony, K. K., George, D. S., Baldev Singh, H. K., Fung, S. M., Santhirasegaram, V., Razali, Z., & Somasundram, C. (2017). Reactive Oxygen Species Activity and Antioxidant Properties of *Fusarium* Infected Bananas. *Journal of Phytopathology*, 165(4), 213–222. <https://doi.org/10.1111/jph.12552>

84. García-Limones, C., Dorado, G., Navas-Cortés, J. A., Jiménez-Díaz, R. M., & Tena, M. (2009). Changes in the redox status of chickpea roots in response

to infection by *Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceris*: Apoplastic antioxidant enzyme activities and expression of oxidative stress-related genes. *Plant Biology*, 11(2), 194–203. <https://doi.org/10.1111/j.1438-8677.2008.00095.x>

85. Chrpová, J., Orsák, M., Martinek, P., Lachman, J., & Trávníčková, M. (2021). Potential Role and Involvement of Antioxidants and Other Secondary Metabolites of Wheat in the Infection Process and Resistance to *Fusarium* spp. *Agronomy*, 11(11), 2235. <https://doi.org/10.3390/agronomy11112235>

86. Wang, Y., Li, X., Fan, B., Zhu, C., & Chen, Z. (2021). Regulation and Function of Defense-Related Callose Deposition in Plants. *International Journal of Molecular Sciences*, 22(5), 2393. <https://doi.org/10.3390/ijms22052393>

87. Nedukha, O. M. (2015). Callose: Localization, functions, and synthesis in plant cells. *Cytology and Genetics*, 49(1), 49–57. <https://doi.org/10.3103/S0095452715010090>

88. Lee, J.-Y., & Lu, H. (2011). Plasmodesmata: The battleground against intruders. *Trends in Plant Science*, 16(4), 201–210. <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2011.01.004>

89. Khaledi, N., Taheri, P., & Falahati-Rastegar, M. (2018). Evaluation of resistance and the role of some defense responses in wheat cultivars to *Fusarium* head blight. *Journal of Plant Protection Research*, 0(0). <https://doi.org/10.1515/jppr-2017-0054>

90. Shanthakumar, P., Klepacka, J., Bains, A., Chawla, P., Dhull, S. B., & Najda, A. (2022). The Current Situation of Pea Protein and Its Application in the

91. Powers, S. E., & Thavarajah, D. (2019). Checking Agriculture's Pulse: Field Pea (*Pisum Sativum* L.), Sustainability, and Phosphorus Use Efficiency. *Frontiers in Plant Science*, 10, 1489. <https://doi.org/10.3389/fpls.2019.01489>

92. Горох посівний—Інститут рослинництва ім. В. Я. Юр'єва НААН. (n.d.). Retrieved August 27, 2025, from <https://yuriev.com.ua/ua/katalog-produkcii/katalog/goroh/>

93. Thi, Q. N., Ueda, K., Kihara, J., & Ueno, M. (2015). Inhibition of *Magnaporthe oryzae* by Culture Filtrates of Fungi Isolated from Wild Mushrooms. *Advances in Microbiology*, 05(10), 686–692. <https://doi.org/10.4236/aim.2015.510071>

94. Bellincampi, D., Dipierro, N., Salvi, G., Cervone, F., & De Lorenzo, G. (2000). Extracellular H₂O₂ Induced by Oligogalacturonides Is Not Involved in the Inhibition of the Auxin-Regulated rolB Gene Expression in Tobacco Leaf Explants. *Plant Physiology*, 122(4), 1379–1386. <https://doi.org/10.1104/pp.122.4.1379>

95. Huliaieva, H., Tokovenko, I., Maksin, V., Kaplunenko, V., & Kalinichenko, A. (2018). Effect of Nanoaquacitrates on Physiological Parameters of Fodder Galega Infected with Phytoplasma. *Ecological Chemistry and Engineering S*, 25(1), 153–168. <https://doi.org/10.1515/eces-2018-0011>

96. Авксентьева, О. О., Жмурко, В. В., Щоголев, А. С., & Юхно, Ю. Ю. (2013). *Фізіологія та біохімія рослин – малий практикум: Навчально-методичний посібник*. ХНУ імені В. Н. Каразіна.

97. Stanek, N., & Jasicka-Misiak, I. (2018). HPTLC Phenolic Profiles as Useful Tools for the Authentication of Honey. *Food Analytical Methods*, 11(11), 2979–2989. <https://doi.org/10.1007/s12161-018-1281-3>

98. Vitalini, S., Beretta, G., Iriti, M., Orsenigo, S., Basilico, N., Dall'Acqua, S., Iorizzi, M., & Fico, G. (2011). Phenolic compounds from *Achillea millefolium* L. and their bioactivity. *Acta Biochimica Polonica*, 58(2), 203–219.

99. Biju, J., Sulaiman, C. T., Satheesh, G., & Reddy, V. R. K. (2014). Total phenolics and flavonoids in selected medicinal plants from Kerala.

100. Vinnikova, O. I. (2020). Long-lasting effects of red and blue light exposure on the growth of soil fungi. *Acta Biologica Szegediensis*, 64(1), 25–36. <https://doi.org/10.14232/abs.2020.1.25-36>
101. Dai, T., & Hamblin, M. R. (2017). Visible Blue Light is Capable of Inactivating *Candida albicans* and Other Fungal Species. *Photomedicine and Laser Surgery*, 35(7), 345–346. <https://doi.org/10.1089/pho.2017.4318>
102. Ramírez-Mosqueda, M. A., Iglesias-Andreu, L. G., Luna-Rodríguez, M., & Castro-Luna, A. A. (2015). In vitro phytotoxicity of culture filtrates of *Fusarium oxysporum* f. Sp. *Vanillae* in *Vanilla planifolia* Jacks. *Scientia Horticulturae*, 197, 573–578. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2015.10.019>
103. Potters, G., Pasternak, T. P., Guisez, Y., & Jansen, M. A. K. (2009). Different stresses, similar morphogenic responses: Integrating a plethora of pathways. *Plant, Cell & Environment*, 32(2), 158–169. <https://doi.org/10.1111/j.1365-3040.2008.01908.x>
104. Huot, B., Yao, J., Montgomery, B. L., & He, S. Y. (2014). Growth–Defense Tradeoffs in Plants: A Balancing Act to Optimize Fitness. *Molecular Plant*, 7(8), 1267–1287. <https://doi.org/10.1093/mp/ssu049>
105. Cannea, F. B., & Padiglia, A. (2025). Antioxidant Defense Systems in Plants: Mechanisms, Regulation, and Biotechnological Strategies for Enhanced Oxidative Stress Tolerance. *Life*, 15(8), 1293. <https://doi.org/10.3390/life15081293>
106. Mayer, A. M. (2006). Polyphenol oxidases in plants and fungi: Going places? A review. *Phytochemistry*, 67(21), 2318–2331. <https://doi.org/10.1016/j.phytochem.2006.08.006>
107. Авксентьева О.О., Терентьева Н.В. Вплив екзометаболітів мікроміцетів р. *Fusarium* на ростову реакцію та активність пероксидази у ізогенних за генами VRN ліній пшениці в умовах in vivo та in vitro. Вісник ХНАУ. Серія Біологія. 2018. Вип.1. С. 46-57.
108. Talebzadeh, F., & Valeo, C. (2022). Evaluating the Effects of Environmental Stress on Leaf Chlorophyll Content as an Index for Tree Health.

IOP Conference Series: Earth and Environmental Science, 1006(1), 012007.
<https://doi.org/10.1088/1755-1315/1006/1/012007>

109. Agathokleous, E., Feng, Z., & Peñuelas, J. (2020). Chlorophyll
hormesis: Are chlorophylls major components of stress biology in higher plants?
Science of The Total Environment, 726, 138637.
<https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.138637>

ДОДАТКИ

ДОДАТОК А

СКЛАД ПОЖИВНИХ СЕРЕДОВИЩ, ВИКОРИСТАНИХ У РОБОТІ

1. Середовище Чапека:

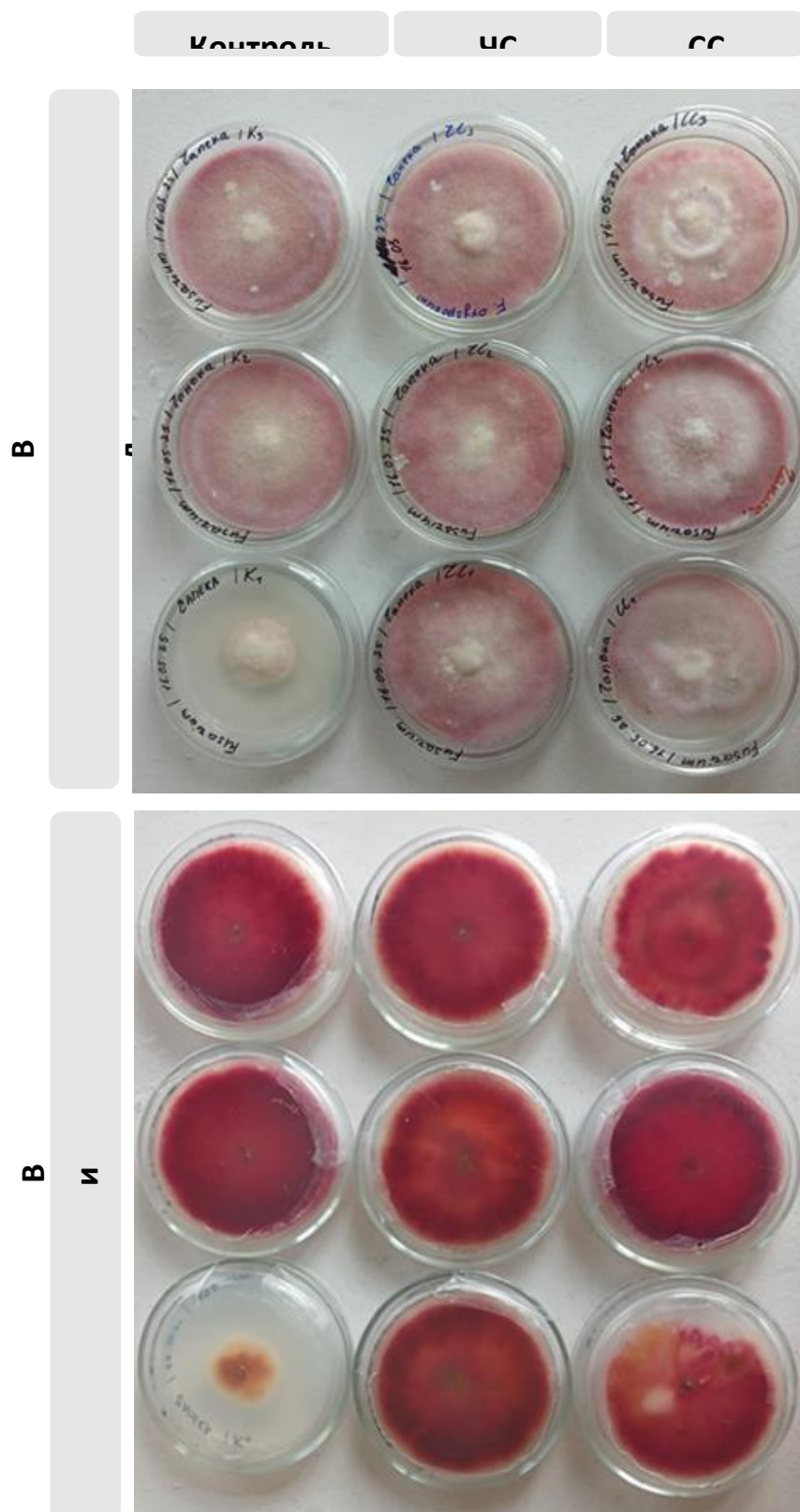
- агар (для твердого) – 14 г/л;
- глюкоза – 30 г/л;
- NaNO_3 – 2 г/л;
- KH_2PO_4 – 1 г/л;
- KCl – 0,5 г/л;
- MgSO_4 – 0,5 г/л;
- FeSO_4 – 0,01 г/л.

2. Середовище Кнопа:

- KNO_3 – 0,25 г/л;
- KH_2PO_4 – 0,25 г/л;
- $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ – 1 г/л;
- MgSO_4 – 0,25.

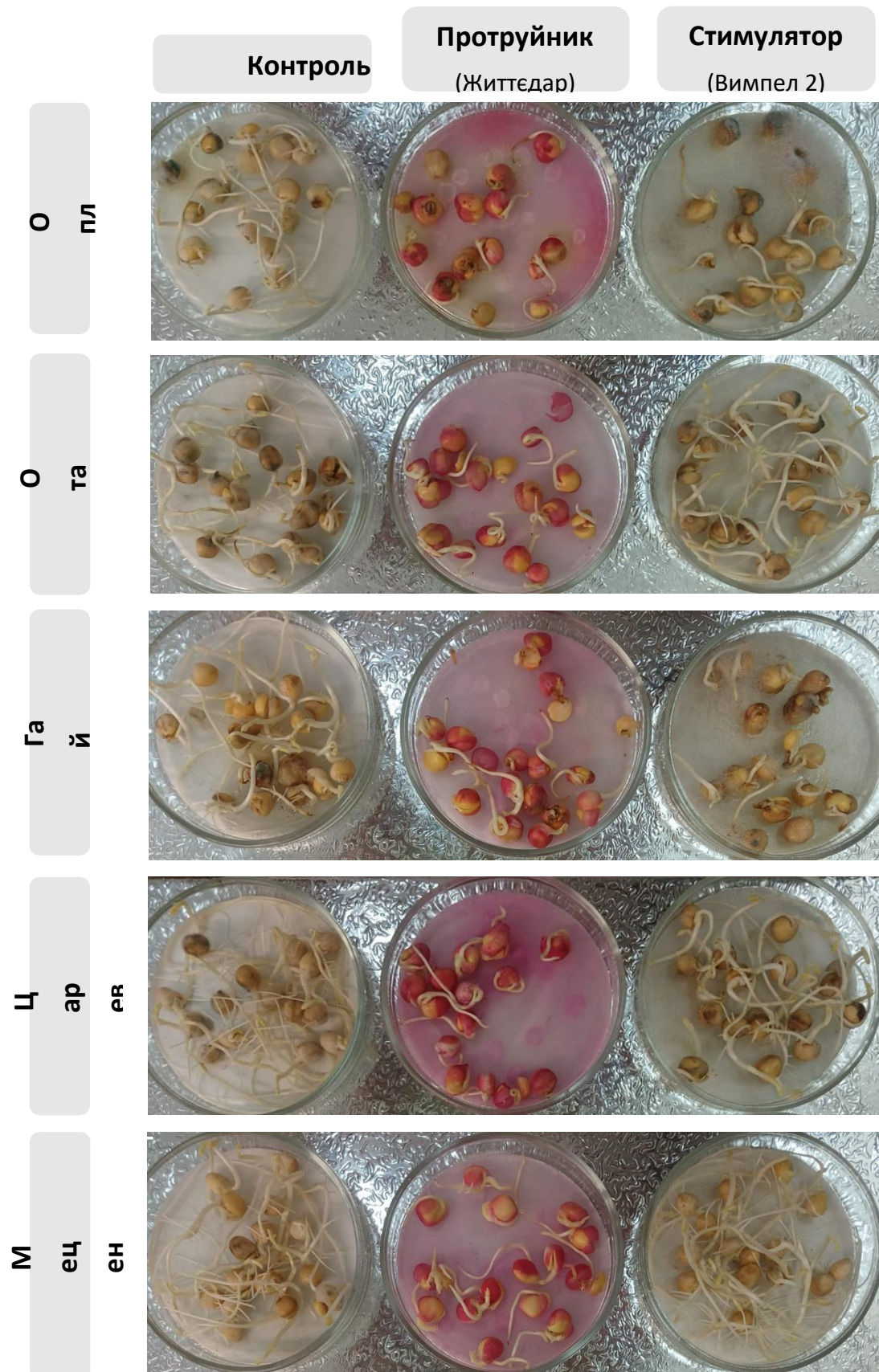
ДОДАТОК Б

Рис. 1 колонії *Fusarium oxysporum* за опромінення селективним світлом
(21 доба): червоне світло – ЧС (660 нм); синє світло – СС (450 нм)



Додаток В

Рис. 2 Скринінг сортів гороху посівного в умовах обробки стимулятором росту та протруйником (9 доба):



Додаток Г

Рис. 3 Проростки гороху посівного двох сортів, культивовані в умовах гідропонної культури під впливом культурального фільтрату *Fusarium spp.*: Ц – Царевич; О – Оплот; К – контроль; +КФ – з додаванням культурального фільтрату





OK

O+KΦ



OK

O+KΦ



ЦК

Ц+KΦ



ЦК

Ц+KΦ

**NATIONAL ACADEMY OF AGRARIAN SCIENCES OF UKRAINE
YURIEV PLANT PRODUCTION INSTITUTE**



**"THEORETICAL FOUNDATIONS OF INNOVATIVE DEVELOPMENT OF CROP
PRODUCTION "**

**Proceedings of the International Scientific and Practical Internet Conference of Young
Scientists and Specialists** Dedicated to the 120th Anniversary of the Birth of Professor,
Corresponding Member of the Academy of Sciences of the Ukrainian SSR, Illia Mykhailovych
POLIAKOV

October 20, 2025

Kharkiv – 2025

THE EFFECT OF THE FUSARIUM SPP. CULTURAL FILTRATE ON THE GROWTH AND PROTECTION RESPONSE OF *PISUM SATIVUM* L.

Yastremska K. V., Batuiieva Y. D.

V. N. Karazin Kharkiv National University, Kharkiv, Ukraine e-mail: batuiieva@karazin.ua

Pea (*Pisum sativum* L.) is one of the most common leguminous crops, combining nutritional, fodder, and agronomic significance. However, during development, plants are exposed to various biotic factors, in particular fungal pathogens of the genus *Fusarium*, which cause diseases characterized by stunted growth, chlorosis, and wilting (Hafiz et al., 2025).

One of the most important elements of plant protection is the antioxidant system, which neutralizes reactive oxygen species (ROS) and regulates signaling processes associated with the immune response (Orabi & Abou-Hussein, 2019). The activity of this system differs in resistant and susceptible varieties (Spanic et al., 2017), so its study is important for a deeper understanding of the mechanisms of resistance and may have practical applications in breeding.

The aim of this study was to investigate the growth response and antioxidant system of two *Pisum sativum* L. varieties under the action of *Fusarium* spp. culture filtrate.

Two pea varieties (*Pisum sativum* L.) differing in sensitivity were used: Tsarevich (resistant) and Oplot (conditionally sensitive). Seeds provided by the Yuriev Plant Production Institute of NAAS were sterilized, germinated in Petri dishes, and grown hydroponically. The control contained Knop's solution, while the experimental variants received *Fusarium* spp. culture filtrate (1:20). Plants were cultivated for 21 days at 20–22 °C with a 16-h photoperiod under white light. Growth, morphometric, and biochemical parameters were assessed, including hydrogen peroxide, phenols, flavonoids, peroxidase and polyphenol oxidase activity, as well as callose and photosynthetic pigment content.

The addition of the filtrate inhibited the growth of both varieties. Root length reached 57% (Tsarevich) and 59% (Oplot) of the control, and biomass decreased by 21% and 34%, respectively. The above-ground parts were less affected, resulting in a higher shoot-to-root ratio. Lateral root length was 38% (Tsarevich) and 48% (Oplot) of the control, and their number decreased only in Oplot (by 20%), indicating that the root system is most sensitive to pathogenic metabolites.

In the shoots, a slight decrease in leaf number and a minor increase in nodes were observed. The *Fusarium* spp. filtrate reduced tendril twisting in Tsarevich by 28%, while their number changed insignificantly; in Oplot, twisting and number increased by 7% and 19%.

Biochemical analysis revealed increased peroxide levels mainly in roots (by 26% in Tsarevich), whereas in Oplot shoots, H₂O₂ slightly decreased. Phenol and flavonoid contents also rose primarily in roots.

Antioxidant enzyme analysis showed increased peroxidase and polyphenol oxidase activity under filtrate treatment, especially in roots: peroxidase activity rose by 48% (Oplot) and 103% (Tsarevich), and polyphenol oxidase by 42% and 118%, respectively. In Tsarevich shoots, polyphenol oxidase activity increased by 80%. Thus, root pathogenesis was accompanied by H₂O₂ accumulation and activation of antioxidant enzymes, with the resistant Tsarevich variety showing a stronger antioxidant response.

The callose content increased in the entire sprout of both varieties, mainly in the above-ground part, which may indicate the systemic nature of the protective response.

Photosynthetic pigment content decreased in both varieties, but the extent varied. The strongest suppression occurred in Oplot seedlings, where chlorophyll a and carotenoids declined by 47% and 48%, respectively. In Tsarevich plants, only chlorophyll b decreased significantly (by 44%), while carotenoids slightly increased compared with the control. These results suggest a stronger disturbance of the photosynthetic apparatus in Oplot, whereas Tsarevich exhibits a more adaptive response.

Thus, *Fusarium* spp. metabolites were found to inhibit pea growth and development, particularly affecting the root system. The resistant variety showed higher enzyme activity and antioxidant compound content than the sensitive one, indicating a key role of the antioxidant system in plant resistance to biotic stress.

**ВПЛИВ КУЛЬТУРАЛЬНОГО ФІЛЬТРАТУ FUSARIUM SPP. НА РОСТОВУ
ТА ЗАХИСНУ РЕАКЦІЮ ДВОХ СОРТІВ *PISUM SATIVUM* L.**

Ястремська К. В., Батуєва Є. Д.

Харківський національний університет імені В. Н.

Каразіна, м Харків, Україна

e-mail: batuieva@karazin.ua

Метою дослідження було оцінити вплив фільтрату культури *Fusarium* spp. на реакції росту та антиоксидантну систему сортів *Pisum sativum* L.: Царевич (стійкий) та Оплот (умовно чутливий). Було виявлено пригнічення росту, особливо кореневої системи, що проявилось у зменшенні довжини, біомаси та кількості бічних коренів. Було відзначено накопичення H_2O_2 , фенолів, флавоноїдів і калози, та активацію пероксидази і поліфенолоксидази, а також зменшення пігментів, більш виражене у сорту Оплот. Сорт Царевич характеризувався більш інтенсивною антиоксидантною реакцією, що може пояснити його підвищену стійкість до біотичного стресу.

ISMA University of Applied Sciences

International scientific conference

**NATURAL SCIENCES AND PHYSICAL AND MATHEMATICAL
SCIENCES: CURRENT STATE
AND MODERNIZATION AREAS**

October 1–2, 2025



2025

SECTION 1. EXPERIMENTAL BOTANY

DOI <https://doi.org/10.30525/978-9934-26-611-9-1>

THE EFFECT OF RED AND BLUE LIGHT IRRADIATION ON THE GROWTH AND CULTURAL-MORPHOLOGICAL CHARACTERISTICS OF FUSARIUM SPP.

ВПЛИВ ОПРОМІНЕННЯ ЧЕРВОНОГО ТА СИНЬОГО СВІТЛА НА РІСТ ТА КУЛЬТУРАЛЬНО-МОРФОЛОГІЧНІ ОСОБЛИВОСТІ FUSARIUM SPP.

Batuieva Ye. D.

*Doctor of Philosophy,
Senior Lecturer at the Department of Plant
and Microorganisms Physiology
V. N. Karazin Kharkiv National
University
Kharkiv, Ukraine*

Батуєва Є. Д.

*доктор філософії з біології,
старший викладач кафедри
фізіології та біохімії рослин і
мікроорганізмів Харківський
національний університет імені
В. Н. Каразіна
м. Харків, Україна*

Yastremska K. V.

*Master's student at the Department of Plant
and Microorganisms Physiology
V. N. Karazin Kharkiv National
University
Kharkiv, Ukraine*

Ястремська К. В.

*магістрант кафедри
фізіології та біохімії рослин і
мікроорганізмів Харківський
національний університет
імені В. Н. Каразіна м. Харків,
Україна*

Avksentieva O. O.

*Candidate of Biological Sciences,
Associate Professor,
Associate Professor at the Department of
Plant and Microorganisms
Physiology
V. N. Karazin Kharkiv National
University
Kharkiv, Ukraine*

Авксентьєва О. О.

*кандидат біологічних наук,
доцент, доцент кафедри
фізіології та біохімії рослин і
мікроорганізмів
Харківський національний
університет імені В. Н.
Каразіна м. Харків, Україна*

Light regulates most of the basic life processes of fungi: germination, asexual sporulation, formation of sexual fruiting bodies, synthesis of pigments and secondary metabolites, as well as pathogenicity [4]. It is known that the influence of light on the interaction between plants and

mycobiota is realised not only through plant photoreceptors, but also through photosensitive proteins of the micobiota [1,2]. *Fusarium* fungi are common research models due to their phytopathogenic activity and complex secondary metabolism, including carotenoid biosynthesis, the induction of which by light is the best-known photo-regulated process [4, 5]. Photoreceptor proteins are important elements in the perception and transduction of light signalling. It has been established that the *Fusarium* genome contains genes for at least ten photoreceptors: four flavoproteins, one photolyase, two cryptochromes, two rhodopsins, and one phytochrome, that respond to light of different spectra [3]. The photoactivation of different photoreceptor systems, which regulate the processes of growth, development, and secondary metabolism, may vary in *Fusarium* spp. strains of different origin. Therefore, the aim of the study was to investigate the effects of irradiation with monochromatic light of RL (660 nm) and BL (450 nm) on the growth and cultural and morphological characteristics of the virulent strain of the micromycetes *F. oxysporum*.

The study used a virulent strain of *F. oxysporum* (Schltdl), which was isolated into a pure culture from infected seeds of pea of the Mecenat variety (selected by the Yuriev Plant Production Institute of NAAS). The microfungi were cultivated by transferring a 1 mm fragment of mycelium by puncture to the centre of a Petri dish containing 20 ml of dense Czapek-Dox nutrient medium and incubating in the dark at $22\pm 1^\circ\text{C}$ for 21 days. The inoculated Petri dishes were placed in conditions of stationary irradiation with blue (450 ± 10 nm) and red (660 ± 10 nm) selective light using LED matrices. Control cultures of *F. oxysporum* (Schltdl) microfungi grew without irradiation in complete darkness. The diameter of the fungal colonies was measured periodically at intervals of 3–4 days during the cultivation cycle, calculating the growth (mm) and the rate of radial growth of the colonies (mm/day). On day 21, the cultural and morphological characteristics and colour of the mycelium were analysed. The number and size of conidia were assessed at the stage of active sporogenesis using a haemocytometer using light microscopy (Granum R60 Premium Trino). The mean values of three independent series of experiments with the calculated standard error (SE) were compared using Student's *t*-test, considering the difference to be significant at $p\leq 0.05$.

The results of the analysis of the radial growth of *F. oxysporum* (Schltdl) colonies under different light conditions showed that the mycelium actively grew during the experiment (21 days) and the colony growth was 63.52–78.73 mm (Table 1). The most effective cultivation of microfungi is under BL irradiation (450 nm). Irradiation with RL (660 nm) significantly inhibits the radial growth of *F. oxysporum*.

Table 1

**Effect of photoirradiation with RL (660 nm) and BL (450 nm)
on the radial growth of *F. oxysporum* (Schltdl) colonies during 21 days of cultivation (m±SE, n=9)**

Cultivation conditions	Absolute growth of colony diameter, mm	Growth rate, mm/day
Control (darkness)	74,71 ± 2,16	3,54 ± 0,16
RL (660 nm)	63,52 ± 2,99*	3,04 ± 0,14*
BL (450 nm)	78,73 ± 3,63*	3,72 ± 0,19*

*) – differences are significant at $p \leq 0.05$

The radial growth rate of colonies during the experiment shows that the growth under all light conditions was within the range of 3.04-3.72 mm/day, i.e. all colonies grew intensively (Table 1). Significant stimulation of this process was observed under cultivation conditions with BL irradiation, while photoirradiation with RL inhibited the growth rate of colonies. The study of the dynamics of radial growth of *F. oxysporum* (Schltdl) colonies during the experiment demonstrates certain patterns of response to photoirradiation (Fig. 1). During the first 7 days of cultivation, no differences were observed between the colony diameter indicators when cultivated in different light conditions and in darkness. From the 11th day of the experiment, a significant effect of BL photoirradiation was observed, leading to a significant increase in the radial growth of colonies under these conditions until the end of the experiment. A significant reaction to the irradiation with RL is observed later, on the 14th day, and manifests itself in the inhibition of radial colony growth. Thus, the effects of RL and BL are opposite and differ in sensitivity, i.e., in the timing of the response.

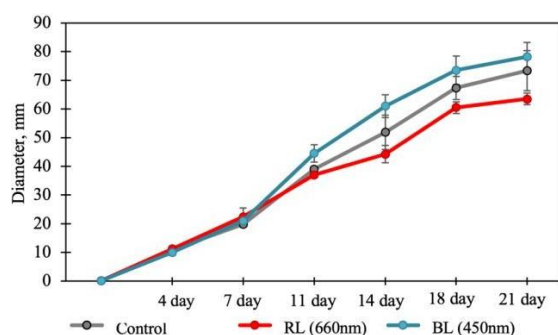


Fig. 1 Dynamics of radial growth of *F. oxysporum* (Schltdl) colonies under the influence of photoirradiation with RL (660 nm) and BL (450 nm)

The cultural and morphological characteristics of *F. oxysporum* (Schltdl) mycelial colonies on nutrient agar (Czapek-Dox Agar) when cultivated under different conditions of stationary photoirradiation and darkness (control) were typical for this species (Fig. 2). All colonies contained airy- fluffy mycelium of pale pink colour of varying intensity.

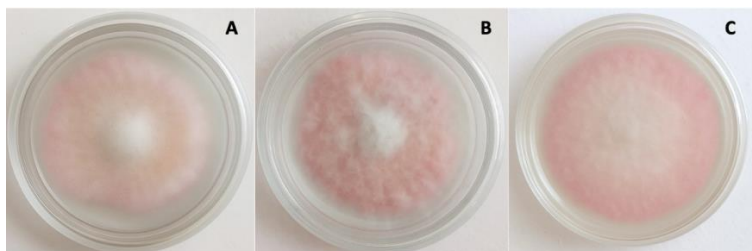


Fig. 2. General view of *F. oxysporum* (Schltdl) mycelium under the influence of selective light irradiation:

A – control, B – RL (660 nm), C – BL (450 nm).

The inoculum and the central zone of the colony around it in the control variant and under irradiation of the emergency situation formed a denser and higher mycelium, coloured white (Fig. 2 A, B). Colonies cultured under photoirradiation with BL did not show such characteristics (Fig. 2 C). Photo- exposure significantly stimulated the biosynthesis of carotenoid pigments, which cause the pink colouring of the mycelium, as has also been shown for other species of microfungi [5]. According to the results of the analysis of the sporulation process, photoirradiation with RL inhibits the release of conidia, while the effect of BL is opposite – a significant stimulation of conidia release – an increase of almost 3 times compared to the control (Table 2).

Table 2

Effect of photoirradiation with RL (660 nm) and BL (450 nm) on sporulation (conidiation) activity and conidia size of *F. oxysporum* (Schltdl) ($m \pm SE$, $n=50$)

Cultivation conditions	Number of conidia, pcs. $\times 10^6/\text{ml}$	Conidia size, μm	
		Length	Width
Control (darkness)	$3,47 \pm 0,51$	$11,98 \pm 0,57$	$2,59 \pm 0,12$
RL (660 nm)	$2,18 \pm 0,41^*$	$12,34 \pm 0,62$	$2,80 \pm 0,14$
BL (450 nm)	$11,88 \pm 2,97^*$	$17,68 \pm 0,88^*$	$2,84 \pm 0,14$

***) – differences are significant at $p \leq 0.05$**

Stationary photoirradiation with RL does not significantly affect the size (length and width) of the crescent-shaped conidia of *F. oxysporum* (Schltdl), while photoirradiation with BL significantly elongates them, leading to a change in morphology. Therefore, based on the results of the studies, it can be concluded that stationary cultivation of the virulent strain *F. oxysporum* (Schltdl) under photoirradiation with RL and BL has the opposite effect.

Bibliography:

1. Adam A. et al. Protein activity of the *Fusarium fujikuroi* rhodopsins CarO and OpsA and their relation to fungus–plant interaction. *International Journal of Molecular Sciences*. 2018. Vol. 19, № 1. P. 215.
2. Losi A., Gärtner W. A light life together: photosensing in the plant microbiota. *Photochemical & Photobiological Sciences*. 2021. Vol. 20. № 3. P. 451–473.
3. Pardo-Medina J., Limón M. C., Avalos J. *Fusarium* photoreceptors. *Journal of Fungi*. 2023. Vol. 9, № 3. P. 319.
4. Fuller K. K., Loros J. J., Dunlap J. C. Fungal photobiology: visible light as a signal for stress, space and time. *Current genetics*. 2015. Vol. 61, № 3. P. 275–288.
5. Vinnikova O. I. Long-lasting effects of red and blue light exposure on the growth of soil fungi. *Acta Biologica Szegediensis*. 2020. Vol. 64 (1). P. 25–35.