УДК: 632.38:577.1.:635.652 https://doi.org/10.31548/biologiya2020.01.069
http://journals.nubip.edu.ua/index.php/Biologiya/article/view/13993

ПОШИРЕННЯ ВІРУСУ ЗВИЧАЙНОЇ МОЗАЇКИ КВАСОЛІ З НАСІННЯМ *PHASEOLUS VULGARIS* cv ЧЕРВОНА ШАПОЧКА

А. М. КИРИЧЕНКО, *кандидат біологічних наук, старший науковий співробітник, Інститут мікробіології і вірусології НАНУ*
E-mail: kirangel.07@meta.ua, Orcid ID 0000-0002-6098-1467
І. О. АНТІПОВ, *кандидат сільськогосподарських наук, Національний університет біоресурсів і природокористування України*
E-mail: antigav@rambler.ru
К. В. ГРИНЧУК, *кандидат біологічних наук, Національний університет біоресурсів і природокористування України*
E-mail: blackgrampus@ukr.net
А. Ф. ЛІХАНОВ, *кандидат біологічних наук, Національний університет біоресурсів і природокористування України*
E-mail: likhanov.bio@gmail.com, Orcid ID 0000-0001-6580-7241

Анотація. *Вірус звичайної мозаїки квасолі (ВЗМК) – один із найбільш шкодочинних та широко розповсюджених вірусів бобових. Збудник може передаватися насінням і пилком із досить високою частотою. За ефективного поширення векторами на сприйнятливі культури навіть незначна кількість інфікованого насінням в посівному матеріалі може призвести до масового ураження культури. В Україні ВЗМК поширений в усіх регіонах вирощування квасолі й може спричинити серйозні втрати врожаю. Метою цього дослідження було дослідити рівень передавання вірусу з насінням квасолі Phaseolus vulgaris cv Червона шапочка. Позаяк висока частота передавання вірусу з насінням напряму залежить від інфікування зародку, ми мали на меті дослідити наявність вірусної інфекції в репродуктивних тканинах квасолі. Для дослідження вертикальної передачі ВЗМК із пилком було проведено тестування РНК вірусу (методом ПЛР) в пилкових зернах. Дослідження проводилися біологічними (механічна інокуляція вірусів, визначення інфекційності вірусу), молекулярно-біологічними методами (екстрагування РНК із рослинних тканин, полімеразна ланцюгова реакція зі зворотною транскрипцією) та методом люмінесцентної мікроскопії. Показано, що під час проростання насіння рослин P. vulgaris cv Червона шапочка, інфікованих ВЗМК, 77 % молодих проростків були уражені вірусом, що свідчить про високий рівень передавання вірусу з насінням цього сорту. Вірусну РНК було виявлено в генеративних органах рослин і деяких частинах насінини та квітки. Підтверджена наявність вірусу в пилкових зернах рослин Phaseolus vulgaris. У цитоплазмі та ядрі клітин зародка виявлено дифузні зернисті вірусні включення.*

Ключові слова: *вірус звичайної мозаїки квасолі (ВЗМК), насіннєва інфекція, полімеразна ланцюгова реакція зі зворотною транскрипцією (ЗТ-ПЛР)*

Актуальність.

Передавання вірусів із насінням відіграє ключову роль у розповсюдженні та виживанні багатьох серйозних вірусних та віроїдних хвороб рослин. Інфіковане насіння є найважливішим джерелом вірусів у природі й агропромисловому рослинництві. У природних умовах єдина інфікована рослина може слугувати джерелом інфекції для вторинного поширення вірусу відповідними векторами. Насіннєва передача вірусу характерне лише для певних вірусів або комбінацій вірус-рослина, а наявність вірусу на/в насінині не завжди призводить до інфікування проростків. Деякі віруси зустрічаються лише на насіннєвій оболонці або в сім'ядолях чи зародку. У процесі дозрівання і висушування насіння частина з них зберігається, інші – елімінуються. Наразі відомо 231 вірусів і віроїдів, здатних передаватися з насінням. Більшість із них належать до родів *Potyvirus*, *Nepovirus*, *Cryptovirus*, *Ilarvirus*, *Tobamovirus*, *Potexvirus*, *Comovirus*, *Carlavirus*, *Carmovirus*, *Cucumovirus*, *Sobemovirus*, *Furovirus*, *Bromovirus* та *Tymovirus*. Понад 70 вірусів, що передаються з насінням належать до родини *Fabaceae* (частіше, ніж із насінням будь-яких інших культурних рослин). Деякі віруси, основними хазяями яких є не зернові культури, здатні до передавання з насінням у посівах бобових [Sastry, 2013].

Вірус звичайної мозаїки квасолі (ВЗМК) – один із найпоширеніших і шкодочинних вірусів квасолі [Kyrychenko & Kovalenko, 2018 ; Maule & Wang, 1996]. ВЗМК спричинює значні втрати врожаю, які становлять 6-98 % [Hampton, et al., 1982; Varma, 1988]. Вірус передається з високою частотою з насінням *P. vulgaris* [Schmidt, 1992] і може зберігати свою інфекційність та життєздатність у насінні до 38 років [Walters, 1962a]. Відсоток інфікованого насіння коливається від 0,67 % до 98 % [Deligoz & Soken, 2013; Hema et al., 2014; Nordenstedt et al, 2017; Worrall et al., 2015] і залежить від низки чинників, зокрема сорту рослини-хазяїна, штаму вірусу, стадії розвитку рослини на момент інфікування, а також умов навколишнього середовища [Sastry, 2013]. Припускають, що епідемії ВЗМК у 1977 році в Європі та Америці, були спричинені саме використанням інфікованого посівного матеріалу і вирощуванням сортів квасолі, які раніше вважалися стійкими до більшості штамів ВЗМК [Worrall et al., 2015]. Відповідно до епідеміологічного значення пилку в розповсюдженні вірусів, ВЗМК було віднесено до категорії С [Sastry, 2013]. Віруси, що належать до цієї категорії виявляються в пилку та інфікують рослини під час перехресного запилення, що призводять до формування зараженого насіння в жіночих рослинах. Таке поширення вірусів, очевидно, не становить значної епідеміологічної загрози, позаяк у літературі відсутні відомості щодо вертикального передавання ВЗМК із пилком у природних умовах.

З огляду на важливе значення інфікованого насіння в розповсюдженні хвороб та зберіганні вірусів, ми мали на меті дослідити рівень передавання ВЗМК, що циркулює в Україні з насінням *P. vulgaris* cv Червона шапочка.

Матеріали і методи дослідження.

Екстракти рослин квасолі сорту Червона шапочка, вирощених з інфікованого ВЗМК насіння використовували як інокулюм для інфікування квасолі сорту Первомайська. Інокуляцію проводили механічно за допомогою стандартного методу натирання листків.

Для приготування інокулюму 1 г вірусовмісного матеріалу (молоді боби з попередньо видаленим насінням, зріле насіння, насіннєва оболонка, зародки, ендосперм та окремі частини квітки) подрібнювали в ступці з додаванням 1 мл цитратного буфера (50 мМ цитрату натрію, 20 мМ діетилтіокарбаматної кислоти, 2% полівінілпіролідону). Отриманий екстракт фільтрували й центрифугували за 3000 об/хв упродовж 5 хв. До 50 мкл супернатанту додавали 450 мкл цитратного буфера і використовували для проведення ПЛР-аналізу або біологічного тестування (визначення інфекційності) [Sipahioğlu et al., 2007].

Для визначення ступеня насіннєвої передачі вірусу сто п'ятдесят насінин, отриманих від інфікованих вірусом рослин *P. vulgaris* cv Червона шапочка висівали в умовах теплиці у весняно-літній період. Проростки, вирощені зі здорового насіння, слугували контролем досліджень. Перед посівом насіння знезаражували промиванням в 4 % соляній кислоті і 10 % розчині хлорного вапна. Реакції досліджуваних рослин оцінювали щодня впродовж 4 тижнів з моменту появи перших справжніх листків. Крім того, всі рослини були протестовані за допомогою ОТ-ПЦР. Ступінь насіннєвої передачі вірусу розраховували за допомогою рівняння:

$$P = \frac{n \cdot 100}{N},$$

де P – ступінь насіннєвої передачі вірусу, n – кількість інфікованих рослин; N – загальна кількість рослин [Доспехов, 1985].

Для ампліфікації фрагмента вірусного генома довжиною 391 п.н., що відповідає ділянці 9267–9657 гена білка оболонки ВЗМК, використовували праймери (5'-tgtggtacaatgctgtgaagg-3 'та 5'-gccttcatctgtgctactgct-3'), розроблені нами [Антіпов та ін., 2016].

Тотальну РНК ВЗМК із рослинного матеріалу виділяли використовуючи набір для екстракції ДНК/РНК Ribo-Sorb (AmpliSens, Росія). Синтез кДНК проводили кітами Reverta-L-100 (AmpliSens, Росія) згідно з інструкцією виробника. Реакційна суміш об'ємом 15 мкл містила 1 × реакційний буфер (0,2 мМ dNTPs, 1,5 мМ $MgCl_2$), 10-50 нг кДНК та 0,5U Taq полімерази. Усі праймери використовували в кінцевій концентрації 5 пмоль. Ампліфікацію проводили в ампліфікаторі «Терцик» ТР4-PCR-01 (ДНК технології, Росія). Розміри ампліфікованих фрагментів визначали порівнюючи зі стандартними маркерами довжин ДНК LadderPlus 100 bp ДНК (Fermentas, США).

Вірусні включення виявляли методом люмінесцентної мікроскопії з застосуванням акридинового оранжевого (розведення – 1: 10000) [Гольдин, 1963; Паушева, 1988]. Час фарбування флюорохромом (за pH – 5,6) і подальшого відмивання тканин у дистильованій воді – 5 хв. Флуоресценцію нуклеїнових кислот у клітинах гасили 5 % трихлороцтовою кислотою (ТХО). Для цього ще нефарбовані зрізи обробляли ТХО 15 хв на водяній бані за 90 °C [Гольдин, 1963; Паушева, 1988].

Результати дослідження та їх обговорення.

Вірус звичайної мозаїки квасолі є збудником мозаїчної хвороби різних сортів квасолі. В Україні вірус широко розповсюджений у всіх регіонах вирощування квасолі і спричиняє значні втрати врожаю. Встановлено наявність вірусної інфекції в посівах квасолі, як сортів що проходили сортовипробувальний термін у природному фоні, так і внесених до Державного Реєстру сортів, придатних до вирощування в Україні [Kyrychenko & Kovalenko, 2018; електронний ресурс https://sops.gov.ua/uploads/page/5bbdf6a297647.pdf]. Рослини сорту Червона шапочка вирізнялися серед досліджуваних сортів вищим відсотком уражених рослин та суворішими симптомами у вигляді некротизації листкової пластинки, низькорослості та деформації стебла й листків. З огляду на це, метою даної роботи було дослідити наявність вірусу в різних частинах насінини та визначити ступінь передавання ВЗМК із насінням квасолі цього сорту.

Зразки листя *Phaseolus vulgaris* cv Червона шапочка із симптомами у вигляді мозаїчності, зморшкуватості, деформацій, закручування краю листкової пластинки донизу і зменшення розміру листя, були зібрані в насадженнях квасолі промислових та приватних господарств Київської області (рис. 1). В інфікованих рослин спостерігалося передчасне опадання листя, на них утворювалося менше бобів, кількість насінин значно зменшувалась, що призводило до значного зниження врожаю. Насіння квасолі з інфікованих рослин збирали для подальших лабораторних аналізів.

Рис. 1. Симптоми вірусного ураження на квасолі *Phaseolus vulgaris* L.

Насіння квасолі, зібране випадковим чином з інфікованих рослин квасолі, висівали в теплиці в трьох повторах по 50 насінин у кожному. Відсоток заражених проростків, що оцінювали за наявністю вірус-специфічних симптомів, складав 81 %, 75 % та 75 % у кожному повторенні відповідно. Середня кількість інфікованих рослин складала 85 %. Наявність ВЗМК у всіх симптоматичних рослин було підтверджено за допомогою ПЛР (табл. 1).

Отримані дані свідчать про високу частоту передавання вірусу з насінням сорту Червона шапочка. Такий рівень зараженості насінням може бути зумовлений сортовими характеристиками рослин (низька стійкість до вірусу) або високою патогенністю штаму, позаяк ВЗМК, що циркулював в Україні раніше передавався з частотою 35 % [Московець та ін., 1971]. Слід зазначити, що вірусна інфекція не впливала на схожість насіння і 96-98 % проростків були життєздатними (табл. 1).

У наших попередніх дослідженнях показано, що ВЗМК, який циркулює в Україні, відрізняються від описаних раніше за вірулентністю та реакціями рослин-індикаторів. Було висловлено припущення, що ізолят

1. Результати детекції ВЗМК в насінні квасолі сорту Червона шапочка

Проростки	Повтори експерименту*		
	I	II	III
Кількість проросłих насінин	48	49	49
Кількість інфікованих рослин за оцінкою інфекційності екстрактів	39	37	37
Кількість інфікованих рослин, виявлених методом ЗТ-ПЛР	41	37	37
Рівень насіннєвої інфекції, (%)	81	75	75

*50 насінин в кожному повторі

належить до А серотипу ВЗМК - вірусу звичайної некротичної мозаїки квасолі [Kyrychenko & Kovalenko, 2018]. За результатами патотипування із використанням ряду рослин-диференціаторів, ізолят було класифіковано як некротичний штам ВЗМК В серотипу. Результати, отримані в даній роботі, свідчать про інші незвичайні властивості ізоляту – високий рівень передавання вірусу з насінням.

Перші симптоми вірусної інфекції на рослинах, вирощених із зараженого насіння, зявлялися через 3-4 тижні у вигляді світло-зеленої мозаїки на перших трійчастих листках. Уражене листя деформувалося, грубішало і ставало крихким. Плямистість і деформація перших листків свідчить про те, що первинне зараження відбулося саме через насіння [Bos, 1971]. На наступних трійчастих листках з'явилися типові симптоми захво-

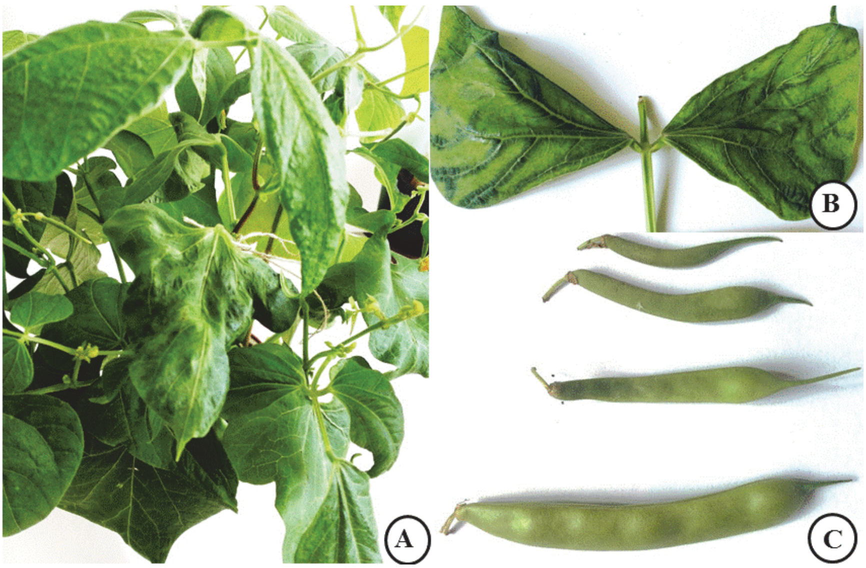

Рис. 2. Симптоми вірусного ураження на рослинах, вирощених із інфікованого насіння (A, B), боби інфікованої (зверху) та здорової рослини (знизу) (C)

рювання – світло-зелена й жовтувата плямистість листкової пластинки та темно-зелене забарвлення жилок (рис. 2а, в). З часом хлоротичні листки зморщувались, а їхні краї згорталися донизу. У фазі дозрівання насіння інфіковані рослини були кволими, з деформованими плямистими бобами, у більшості з яких насіння було несформоване або містило невелику кількість насінин (рис. 2с). Симптоми вірусного ураження в рослин, вирощених із зараженого насіння, були значно суворішими, ніж такі в рослин, інфікованих механічно в експериментальних умовах.

Для виявлення вірусу в різних частинах насінини чи рослини, з уражених рослин зрізали квітки та молоді боби. Насіннєва оболонка й зародок насінини були повністю відокремлені. Досліджували інфекційність екстрактів, отриманих із бобів, насіннєвої оболонки та зародка. Паралельно проводили ПЛР зі специфічними для вірусу праймерами. Механічну інокуляцію квасолі сорту Первомайська для підтвердження інфекційності екстрактів проводили в контрольованих умовах. Типові симптоми ВЗМК в інокульованих рослин з'явилися через 12-16 днів після інокуляції екстрактами із бобів та насіннєвих зародків. Наявність ВЗМК методом ПЛР було встановлено у всіх випробуваних зразках (табл. 2).

Відсутність симптомів на рослинах, інокульованих екстрактами з насіннєвої оболонки, можна пояснити низькою концентрацією вірусу на поверхні насінини, позаяк наявність вірусної РНК було підтверджено методом ПЛР (рис. 3).

Фрагменти вірусного геному були виявлені також у різних частинах квітки та молодих бобах (рис. 4). Найвища концентрація вірусу спостерігалась у бобах, чашечці та зав'язі. У віночку та тичинках концентрація вірусу була значно меншою. Також було встановлено наявність вірусного геному в пилку, у той час як ВЗМК у приквіткових листках не детектувався.

Важливою діагностичною ознакою присутності в рослинах ВЗМК є утворення в живих клітинах особливих включень – нуклеопротеїдних комплексів. Вірусні включення являють собою ізометричні кристали 0,4-0,8 мкм у поперечнику й овальні зернисті тільця розміром 2-6 мкм, які демонструють характерні хімічні реакції на білок [Walters, 1962a]. Під час дослідження інфікованих зародків квасолі методами флуоресцентної мікроскопії в структурі ядер і цитоплазми клітин зовнішнього епідермісу, а також середнього шару внутрішнього інтегумента були виявлені характерні для ВЗМК овальні зернисті включення (рис. 5).

Таблиця 2. **Наявність ВЗМК в бобах та інфікованому насінні**

Метод аналізу	Джерело вірусу		
	Боби	Зародок	Насіннєва оболонка
ЗТ-ПЛР	+	+	+
Інфекційність екстрактів	+	+	–

+: наявність продукту ампліфікації, системна мозаїка на інокульованому листі; –: відсутність симптомів

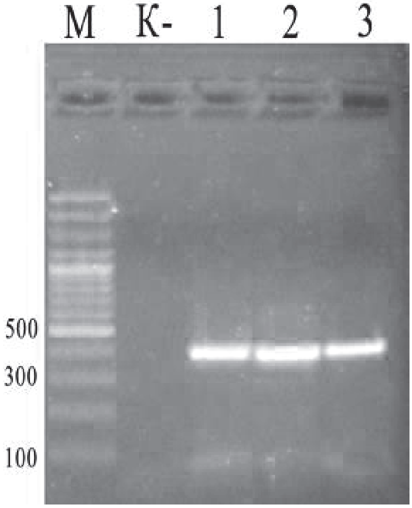

Рис. 3. Визначення ВЗМК в екстрактах квасолі методом ЗТ-ПЛР із застосуванням вірус специфічних праймерів:
1 – недозрілі боби, 2 – зародки,
3 – насіннєва оболонка,
К- – негативний контроль,
М – (GeneRuler ™ 100 bp Plus DNA Ladder SM0322) – маркер довжин фрагментів ДНК

Обробка тканин зародка гарячою (90 °С) трихлороцтовою кислотою дозволила повністю погасити світіння нуклеїнових кислот у ядрах і ядерцях і значно посилити світіння білкових включень (рис. 5, а). В окремих клітинах зернисті включення вірусів утворювали невеликі агрегації розміром 2,8-3,0 мкм. В ендотелії вони траплялися значно рідше (рис. 5, в). У клітинах нуцеллуса й ендосперму вірусних включень не виявлено (рис. 5, а, в). Найбільшу кількість клітин з вірусними включеннями було виявлено в зародку й суспензорі (рис. 5, б, г), зокрема в клітинах зародка містилося до 20-27 % включень.

Висновки та перспективи.

Отримані дані свідчать про високий рівень передавання вірусу з насінням квасолі сорту Червона шапочка. Щоби визначити, чи є такий рівень насіннєвої передачі вірусу особливістю досліджуваного ізоляту, надалі планується про-

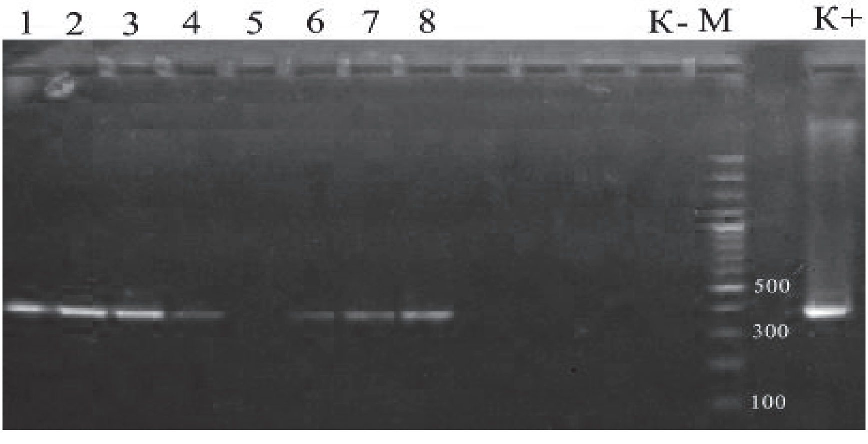

Рис.4. Визначення ВЗМК в екстрактах квасолі методом ЗТ-ПЛР із застосуванням вірус специфічних праймерів: 1 – пилок, 2 – боби, 3 – чашолистки, 5 – приквіток, 6 – пилок з фрагментами тичинки, 7 – тичинки, 8 – зав’язь, К- – негативний контроль, К+ – позитивний контроль, М – (GeneRuler ™ 100 bp Plus DNA Ladder SM0322) – маркер довжин фрагментів ДНК

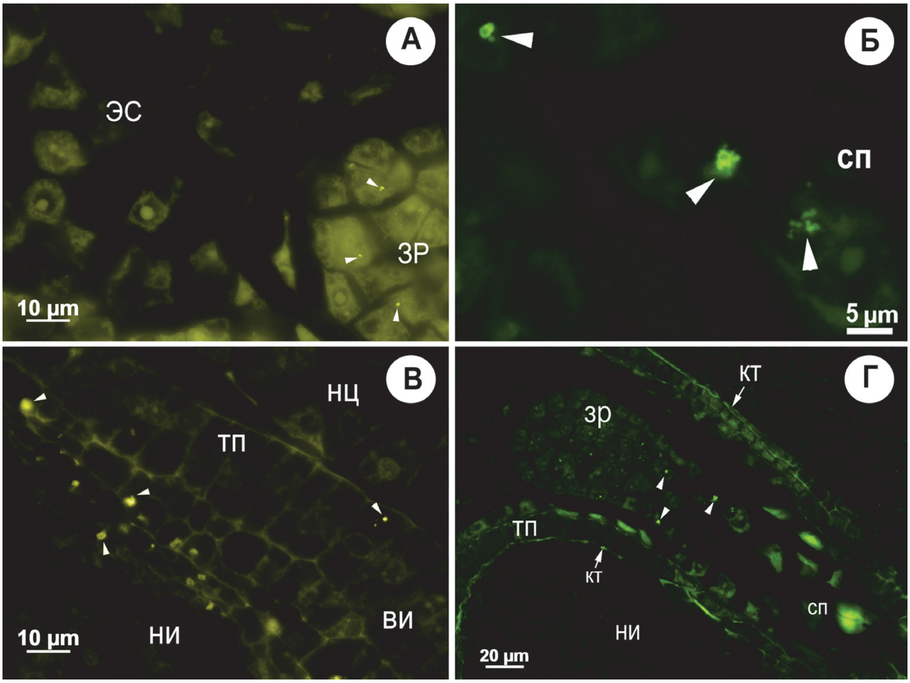

Рис. 5. Вірусні включення в тканинах зародка і сімязародків Phaseolus vulgaris L.: А – локалізація ядерних вірусних включень у зародку й їх відсутність в ендоспермі; Б – дифузні вірусні включення в клітинах суспензорія; В – вірусні включення в зовнішніх шарах клітин внутрішнього интегумента; Г – відкладення кутину й локалізація вірусних включень у базальній частині зародка; ТП – інтегументальний тапетум, КТ – відкладення кутину на зовнішніх і внутрішніх периклиніальних стінках ендотелію; НИ – зовнішній интегумент; ВИ – внутрішній інтегумент, НЦ – нуцеллус; ЗР – зародок; ЕС – ендосперм; СП – суспензорія; стрілками показані вірусні включення. Фарбування акридиновим помаранчевим (1 : 10 000)

вести подібні дослідження з використанням насіння різних сортів квасолі, особливо тих, що вирощуються в Україні. На основі отриманих результатів можна зробити висновок, що насіння, уражене вірусом, має велике значення в поширенні хвороби. Саме тому стратегії менеджменту та контролю вірусних захворювань, спричинених ВЗМК потребують значної переоцінки. Позаяк штами ВЗМК інфікують обмежений діапазон рослин, а основними хазяями є, як правило, однорічні рослини, передавання вірусу з насінням може слугувати одним з основних способів виживання вірусу від сезону до сезону та джерелом інфекції в природних екосистемах. Методом ПЛР було встановлено наявність вірусної РНК у генеративних органах рослини й деяких частинах насінини та квітки. Результати досліджень свідчать про високу чутливість ПЛР та використаних праймерів, які можна успішно застосувати для діагностики вірусів у програмах сертифікації та/або дослідженнях карантинних служб. Вивчення локалізації вірусних включень у тканинах під час розвитку/

дозрівання насіння може бути корисним для встановлення ймовірних шляхів переміщення вірусу в рослині.

Оскільки вірус передається насінням із високою частотою, використання безвірусного посівного матеріалу може запобігти первинному зараженню культури. Ефективним захистом від ВЗМК може бути вирощування сортів із геном стійкості «I»; позаяк цей ген перешкоджає утворенню вірус-інфікованого насіння, даний підхід може бути дієвим засобом для уникнення епідемічної ситуації, спричиненої ВЗМК.

References

1. Antipov, I., Hrynchuk, K., Duplyak, O. (2016). Rozrobka PLR-system dlya identyfikatsiyi virusu zvychaynoyi mozayiky kvasoli [Development of PCR systems for identification of bean common mosaic virus]. Naukovyy visnyk NUBIP Ukrayiny - Scientific herald of NULES of Ukraine. Series: biology, biotechnology, ecology. 234, 40–46 [in Ukrainian]. Режим доступу: http://nbuv.gov.ua/UJRN/nvnau_biol_2016_234_7.
2. Bos, L. (1971). Bean Common Mosaic Virus. C.M.I. A.A.B. Description of Plant Viruses, 73, 4. режим доступу: http://www.dpvweb.net/dpv/showdpv.php?dpvno=073
3. Deligoz, I., Soken, M.A. (2013). Differentiation of Bean Common Mosaic Virus (BCMV) and Bean Common Mosaic Necrosis Virus (BCMNV) strains infecting common bean in Samsun province. J Turk Phytopath. 7, 1–14. режим доступу: https://dergipark.org.tr/en/download/article-file/72887
4. Dospekhov, B.A. (1985). Metodika polevogo opyta (s osnovami statisticheskoy obrabotki rezul'tatov issledovaniy) [Field Experience Method]. Agropromizdat, Moscow. 416 p. [in Russian].
5. Goldin, M.I. (1963), Virusnye vkljuienija v rastitelnoj kletke i priroda virusov. [Viral inclusions in plant cell and the nature of viruses]. Izdat. AN SSSR, Moskva - Akad. Nauk USSR, Moscow. 204 p. [in Russian].
6. Hampton, R., Waterworth, H., Goodman, R.M., Lee, R. (1982). Importance of seedborne viruses in crop germplasm. Plant Dis. 66, 977–978. режим доступу: http://europepmc.org/abstract/AGR/IND82118564
7. Hema, M., Sreenivasulu, P., Patil, B.L., Kumar, P.L., Reddy, D.V.R. (2014). Tropical food legumes: virus diseases of economic importance and their control. Adv Virus Res. 90, 431–505. doi: 10.1016/B978-0-12-801246-8.00009-3.
8. Kyrychenko, A.N., Kovalenko, A.G. (2018). Bean common mosaic in the Kiev region: etiology of disease and pathogen identification. Mikrobiol. Z.; 80(4), 96–107. DOI: 10.15407/microbiolj80.04.096.
9. Maule, A.J., Wang, W. (1996). Seed transmission of plant viruses: a lesson in biological complexity. Trends in Microbiol. 4(4), 153–158. doi: 10.1016/0966-842x(96)10016-0.
10. Mockovets', S.M., Kraev, V.G., Porembc'ka, N.B., Bilyk, L., Baratova, D.F. (1971). Virusy ta virusni zakhvoryuvannya kul'tur bobovykh v Ukrayini [Viruses and virus diseases of legume cultures in Ukraine]. Naukova dumka, Kyiv. 136 p. [in Ukrainian].
11. Nordenstedt, N., Marcenaro, D., Chilagane, D., Mwaipopo, B., Rajamaki, M.L., Nchimbi-Msolla, S., Njau, P.J.R., Mbanzibwa, D.R., Valkonen, J.P.T. (2017). Pathogenic seedborne viruses are rare but Phaseolus vulgaris endornaviruses are common in bean varieties grown in Nicaragua and Tanzania. PLoS ONE. 12:e0178242. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0178242
12. Pausheva Z.P. Praktikum po tsitologii rasteniy. – 4-e izd., pererab. i dop. – M.: Agropromizdat, 1988. – 271 s.;
13. Sastry, K.S. (2013). Seed-borne plant virus diseases. Springer Publishers, New Delhi, pp 327. doi: 10.1007/978-81-322-0813-6
14. Schmidt, H.E. (1992). Bean mosaics. In: Chaube H.S., Singh U.S., Mukhopadhyay

A.N., Kumar J., editors. Plant Diseases of International Importance. Vol. II, Prentice Hall, New Jersey; 40–73.

15. Sipahioğlu, H.M., Ocak M., Usta M. (2007). Comparison of three conventional extraction methods for the detection of plant virus/viroid RNAs from heat dried high-phenolic host leaves. Asian J. Plant Sci. 6(1), 102–107. doi: 10.3923/ajps.2007.102.107.
16. State register of plant varieties suitable for dissemination in Ukraine in 2018. (2018). Retrieved from https://sops.gov.ua/uploads/page/5bbdf6a297647.pdf [in Ukrainian]
17. Varma, A. (1988). The economic impact of filamentous viruses. In: Milne R.G. editor. The Plant Viruses: The Filamentous Plant Viruses, Plenum Press, New York and London; p. 331–407.
18. Walters, E.C. (1962a). Thirty eight years behind the times and still they germinate. Assoc Off Seed Anal News. 36, 8.
19. Worrall, E.A., Wamonje, F.O., Mukeshimana, G., Harvey, J.J.W., Carr, J.P., Mitter N. (2015). Bean common mosaic virus and Bean common mosaic necrosis virus: relationships, biology and prospects for control. Adv. Virus Res. 93, 1–46. doi: 10.1016/bs.aivir.2015.04.002

Angelina Kyrychenko, Kateryna Hrynchuk, Ihor Antipov, Artur Likhanov (2020). SEED TRANSMISSION OF BEAN COMMON MOSAIC VIRUS IN PHASEOLUS VULGARIS CV CHERVONA SHAPOCHKA. *BIOLOGICAL SYSTEMS: THEORY AND INNOVATION, 11(1): 69-78. http://journals.nubip.edu.ua/index.php/Biologiya/article/view/13993. https://doi.org/. https://doi.org/10.31548/biologiya2020.01.069.*

Abstract. *Bean common mosaic virus (BCMV) is one of the most harmful and widespread bean viruses. The pathogen can be transmitted with seeds and pollen with a fairly high frequency. With efficient spread by vectors to susceptible crops, even a low level of seed infection can lead to an epidemic situation. In Ukraine BCMV is widespread in all dry bean growing areas and may cause serious crop losses. The aim of this study was to investigate the level of Bean common mosaic virus seed transmission in Phaseolus vulgaris cv Chervona shapochka. Whereas high incidence of seed transmission occurred in direct relation to virus invasion of an immature embryo we tended to follow the virus infection in reproductive tissues of bean. To determine the possibility of vertical transmission of BCMV via pollen, detection of virus RNA in pollen grains by PCR has been carried out. In the study biological methods (mechanical inoculation of viruses, detection of virus infectivity in indicator plants) and molecular biological techniques (total RNA extraction from the plant tissues, reverse transcription polymerase chain reaction) were used. It was shown P. vulgaris cv Chervona shapochka transmitted the BCMV strain in 77 % of the seed produced by infected plants. The date obtained indicates a high level of seed transmission of the virus. According to the findings virus infected seeds have a great value in disease spreading. The viral RNA has been detected in plant generative organs and some components of the seed and flower. Also virus particles were found in pollen grains of Phaseolus vulgaris plants. Diffuse granular viral inclusions were detected in the cytoplasm and nucleus of developing embryo cells.*

Keywords: *Bean common mosaic virus (BCMV), seed infection, reverse transcription polymerase chain reaction (RT-PCR)*