

4. Luk O.M., Skybytskyi V.H., Sobko Yu.A. *Shtam Enterovirus suis zbudnyka enterovirusnoho entsefalomielitu svynei (khvoroba Teshena) «Chernihivskiy-1» dlia vyhotovlennia vaktsyny* [Enterovirus suis strain of the pathogen enterovirus encephalomyelitis (Teschen disease) «Chernigov-1» for the manufacture of vaccines]. Ukrainian patent, no. 8892, 2005 (in Ukrainian).
5. Bova T.O. (2008). *Rozrobka imunofermentnykh test-system dlia vyiaolennia antyheni teshovirusu svynei pershoho serotyphu ta spetsyfychnykh Ig G* [Development of ELISA test kits for the detection of antigen teshovirusu pigs and first serotype specific Ig G]. Kyiv, In-t mikrobiol. i virusol. im. D.K. Zabolotnoho NAN Ukrainy, 20 p. (in Ukrainian).
6. Bogel K., Maer A. (1961). Untersuchungen uber die Chloroform-resistenz der Enteroviren des Rindes und des Schwiens Zbl. Vet. Med., Vol. 8. No. 9. pp. 908–922 (in German).
7. Reed L.J., Muench H. (1938). A simple method of estimation of fifty per cent endpoints The American Journal of Hygiene, Vol. 27, No. 3. pp. 493–497 (in English).
8. Bova T.O., Soroka V.I., Derevianko S.V. (2014). *Metodychni rekomendatsii z virusolohichnoho monitoringu enzootychno entsefalomielitu (khvoroby Teshena) svynei* [Guidelines for virological monitoring enzootic bovine encephalomyelitis (Teschen disease), swine]. Chernihiv: Publ. ChDTsNII. 18 p. (in Ukrainian).
9. Bova T.O., Volkova I.V., Derevianko S.V. *Sposib oderzhannia hiperimmunoi syrovatky krovi do virusiv tvaryn i roslyn* [A method of producing hyperimmune serum to animal and plant viruses]. Ukrainian patent, no. 58734 2011 (in Ukrainian).
10. Priskoka V.A., Sobko A.I., Manziy K.V. (1987). *Metodicheskie rekomendatsii po opredeleniyu antigennoho rodstva, razlichiy i dominantnosti virusov v serologicheskikh reaktsiyakh* [Guidelines for determination of antigenic relationship, differences and dominance virus serological tests]. Kiev, 19 p. (in Russian).
11. Holovko A.M., Derevianko S.V., Bova T.O. (2009). *Konstruiuvannia vydospetsyfychnykh praimeriv dlia molekuliarno-henetychnoi identyfikatsii teshovirusiv ta enterovirusiv svynei A i B* [Construction of species-specific primers for molecular-genetic identification of porcine teschoviruses and enteroviruses A and B]. *Silskohospodarska mikrobiolohiia: Mizhvidomchyi tematychnyi naukovyi zbirnyk* [Agricultural Microbiology: Interdepartmental thematic scientific collection]. Chernihiv: Publ. TsNTEI, Vol. 10. pp. 156–165 (in Ukrainian).
12. Derevianko S.V., Bova T.O., Soroka V.I. *Shtam Porcine teschovirus dlia vyrobnytstva veterynarnykh imunobiolohichnykh preparativ* [Strain of Porcine teschovirus for the production of veterinary immunological products]. Ukrainian patent no. 57372, 2011 (in Ukrainian).

УДК 578.864.3 /578.53

МОЛЕКУЛЯРНО-БІОЛОГІЧНА ХАРАКТЕРИСТИКА ІЗОЛЯТІВ ВІРУСУ ЖОВТОЇ МОЗАЇКИ КВАСОЛІ

А.М. Кириченко¹, І.О. Антіпов², К.В. Гринчук²

¹ Інститут мікробіології і вірусології ім. Д.К. Заболотного НАН України

² Національний університет біоресурсів і природокористування України

Наведено результати дослідження біологічних властивостей ізолятів вірусу жовтої мозаїки квасолі, що циркулюють в агроценозах України, та здійснено аналіз специфічних праймерів для індикації вірусної РНК методом полімеразної ланцюгової реакції зі зворотною транскрипцією. Обґрунтовано умови проведення ампліфікації та визначено оптимальну температуру відпалу праймерів, що дає змогу діагностувати та ідентифікувати ізоляти ВЖМК методом ЗТ-ПЛР.

Ключові слова: потівіруси, віруси жовтої мозаїки квасолі та звичайної мозаїки квасолі, праймери, полімеразна ланцюгова реакція зі зворотною транскрипцією.

У структурі посівних площ України частка зернових і зернобобових культур становить понад 58%, у т.ч. бобові — 7,4,

сося — 22%. Віруси, як один із чинників зниження врожайності цих культур, набувають дедалі більшого значення. Вірус жовтої мозаїки квасолі (ВЖМК) — один з

© А.М. Кириченко, І.О. Антіпов, К.В. Гринчук, 2015

найбільш шкодочинних патогенів родини *Potyviridae*, що спричиняє захворювання різних бобових культур: конюшини, кормових бобів, люпину, чини, гороху, квасолі, а також декоративних рослин. Втрати врожаю внаслідок ураження цим вірусом становить 30–90% залежно від сорту рослин і умов їх вирощування.

Вірус є широко розповсюдженим і трапляється у вигляді чисельних штамів та ізолятів (понад 2000). Порівняно з іншими потівірусами, ВЖМК має відносно широке коло рослин-господарів, його ізоляти відрізняються за своєю патогенністю та серологічними властивостями. В усьому світі приділяється значна увага дослідженню штамового різноманіття ВЖМК та розробленню ефективних методів ідентифікації збудників захворювань, спричинених цим вірусом. Кількість нових штамів чи ізолятів ВЖМК зростає з кожним роком [1, 2]. В Україні в різні роки відповідними методами були виділені ізоляти із квасолі, бобів [3], конюшини та люпину [4], а також встановлені збудники в посівах цих культур за допомогою методів полімеразної ланцюгової реакції (ПЛР) та ІФА [5, 6]. Вперше в Україні нами було виділено ВЖМК із сої [7], однак дослідження молекулярно-біологічних характеристик цього ізоляту не проводились.

Тому метою нашої роботи було надати детальнішу характеристику ізолятів ВЖМК, що циркулюють в агроценозах України на посівах квасолі, сої та люпину, зокрема, дослідити коло рослин-господарів виділених ізолятів, реакції рослин-індикаторів на інфікування вірусами, підібрати праймери для детекції вірусів, а також оптимізувати ПЛР-систему ідентифікації вірусу за температурними показниками відпаду праймерів та провести молекулярно-біологічні дослідження ізолятів методом полімерної ланцюгової реакції зі зворотною транскрипцією (ЗТ-ПЛР).

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕНЬ

Вірусні ізоляти. Ізоляти ВЖМК були отримані завдяки обстеженням посівів квасолі звичайної (сорт Первомайська), сої

(сорт Оксана) та люпину жовтого кормового (сорт Обрій) на дослідному полі ВП НУБіП України «Агрономічна станція» Київської обл. Наявність інфекції було підтверджено методами DAS-ELISA та біологічного тестування.

Механічна інокуляція. Для приготування інокулюму інфіковане ВЖМК листя з системно інфікованих рослин подрібнювали в 0,01 М фосфатному буфері (1:10, г/мл), рН 7,2; екстракт втирали в попередньо опудрені карборундом листки тест-рослин на стадії чотирьох листків.

ВЖМК-специфічні праймери. У роботі використовували дві пари праймерів, розроблених авторами до ділянки послідовності білка оболонки (БО) ВЖМК: ВУМV-CPU, ВУМV-CPD та P1, P2 [8–9]. Синтез праймерів на наше замовлення виконано підприємством «Біолабтех» (Київ, Україна). Окрім того, були використані праймери ВУМV1f, ВУМV2r, розроблені нами на базі проблемної лабораторії фітовірусології та біотехнології НУБіП України [5].

Наявність специфічних послідовностей вірусу виявляли за допомогою ЗТ-ПЛР. Сумарну РНК виділяли з рослинних тканин, що мали чітко виражені симптоми вірусного ураження з використанням комерційного набору «РИБО-Сорб» (AmpliSens, РФ), реакцію зворотної транскрипції проводили за допомогою комерційного набору «Реверта-L-100» (AmpliSens, РФ) згідно з протоколом виробника.

Реакційна суміш для проведення ПЛР об'ємом 15 мкл містила: 1x ПЛР-буфер з 1,5 мМ MgCl₂, 0,2 мМ дезоксинуклеозидтрифосфатів (дНТФ), 1 пкмоль кожного (прямого і зворотного) з олігонуклеотидних праймерів, 10–40 нг кДНК, 0,5U Taq полімерази. Реакцію ампліфікації проводили в ДНК-ампліфікаторі «Терцик» ТП4-ПЦР-01.

Після проведення електрофорезу результати розподілу ДНК-фрагментів у 1,5%-у агарозному гелі візуалізували (150 V, 1,30 хв) за допомогою УФ-трансліюмінатора (Т-312-С) з використанням стандартних маркерів Gene Ruller 100 bp DNA Ladder

plus (Fermentas, США). Результати вважали позитивними (за наявності вірусної інфекції в досліджуваних зразках), якщо на агарозній пластині були смуги, що відповідають розміру очікуваних фрагментів.

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

За результатами досліджень кола рослин-господарів було встановлено, що виділені ізоляти вірусу не відрізнялись за здатністю інфікувати рослини родин *Aizoaceae*, *Amaranthaceae*, *Chenopodiaceae*, *Fabaceae* та *Solanaceae*, кількістю чутливих видів та ступенем ураження інокульованих рослин. Рослини родин *Cucurbitaceae*, *Leguminosae* (*Vigna unguiculata* L.) та деякі види *Solanaceae* (*Lycopersicon esculentum* Mill., *Capsicum annuum* L., *N. tabacum* L., cvs. Samsun, *Datura stramonium* L., *Datura metel* L.) виявились не чутливими до вірусу.

Форми прояву симптомів хвороби, спричиненої ВЖМК, залежать від штаму (чи ізоляту) вірусу, виду рослини та природних умов. Так, ізоляти з гороху і більшість ВЖМК ізолятів з квасолі викликають, в основному, слабкі системні симптоми, хлоротичну плямистість листків та незначну деформацію стебла. Некротичні штами вірусу можуть спричинити некротизацію прижилкових тканин і верхівки, що призводить до загибелі рослини. Звичайні

штами спричиняють легку зелену мозаїку або посвітління жилок на кінських бобах, листя часто деформується, уражені рослини залишаються низкорослими. Загалом, загальними ознаками вірусного ураження рослин є: яскрава мозаїка — жовто-зелена плямистість листової поверхні, скручування листя, рослини сильно відстають у рості і набувають куцистої форми внаслідок вкорочення міжвузля. За вірусного ураження різко знижується врожайність.

Для дослідження реакцій рослин-індикаторів як протидія інфікуванню різними вірусними ізолятами нами застосовувався метод біологічного тестування. Було встановлено, що всі досліджувані ізоляти спричиняли посвітління жилок, хлоротичну плямистість листової пластинки, яка згодом переходила в мозаїчність, відставання в рості та кволість уражених рослин (табл. 1). Перші симптоми жовтої мозаїки проявлялись у вигляді жовтуватого посвітління жилок на молодому листі через 6–12 днів після ураження і не зникали до закінчення вегетації. Однак на рослинах *Vicia faba* L. та *Tetragonia expansa* L. симптоми та ступінь ураження варіювали залежно від ізоляту. Так, ізолят ВЖМК із сої на рослинах *Vicia faba* L. спричиняв захворювання мозаїчного типу — деформацію листків у вигляді банана, а іноді не-

Таблиця 1

Реакції рослин-індикаторів на інокуляцію різними ізолятами ВЖМК*

Вид рослини	Ізоляти		
	ВЖМК (соя)	ВЖМК (квасоля)	ВЖМК (люпин)
<i>Tetragonia expansa</i> L.	Численні місцеві некрози через 1–2 тижні після інфікування	Некротичні локальні ураження	Посвітління жилок, світло-жовта мозаїка, деформація стебла
<i>Gomphrena globosa</i> L.	Локальні некрози з червоним краєм	Локальні некрози з червоним краєм	Локальні некрози з червоним краєм
<i>Chenopodium album</i> L.	Хлоротичні локальні некрози	Хлоротичні локальні некрози	Хлоротичні локальні некрози
<i>Ch. amaranticolor</i> (Coste & A. Reyn.)	Хлоротичні локальні некрози, системне пожовтіння жилок, скручування листків	Хлоротичні локальні некрози інокульованих і відрослих листків	Хлоротичні локальні некрози інокульованих і відрослих листків

Вид рослини	Ізоляти		
	ВЖМК (соє)	ВЖМК (квасолі)	ВЖМК (люпин)
<i>Phaseolus vulgaris</i> L.	Системна жовта мозаїка, деформація листкової пластинки, некротизація листка, низькорослість	Плямистість. Листкова пластинка рівна. Некротизація листка та верхівки, системна мозаїка	Системна жовта мозаїка, некротизація листка
<i>Vicia faba</i> L.	Яскрава жовто-зелена мозаїка, коричневі некрози з рівним краєм	Жовто-зелена плямистість, тотальна некротизація листків та верхівки	Яскрава жовто-зелена мозаїка, деформація, системне поширення вірусу
<i>Lupinus luteus</i>	Некротичні локальні ураження	Вузьколистість, деформація, мозаїка листка	Вузьколистість, деформація, мозаїка листка
<i>Pisum sativum</i> L.	Системне ураження, деформація верхівки, коротковузля	Системне ураження, деформація верхівки, коротковузля	Системне ураження, деформація верхівки, коротковузля

Примітка: * За механічної інокуляції рослин в умовах теплиці.

кротичну плямистість. Некрози, зумовлені цим ізолятом, мали локальний характер у

формі характерних концентричних кілець або кільцевих плям, тоді як за інокуляції рослин *Vicia faba* L. ізолятами із квасолі та люпину спостерігалось системне поширення вірусу, жовто-зелена мозаїка з подальшою тотальною некротизацією стебла та верхівки, що призводило до загибелі інфікованої рослини (рис. 1). Через 8 днів після інфікування ВЖМК (соє) на інокульованих листках ново-зеландського шпинату *Tetragonia expansa* з'являлись чисельні дрібні некрози, тоді як ВЖМК із квасолі та люпину спричиняв системну інфекцію у вигляді посвітління жилок, жовтих плям, деформації листків та вкорочення міжвузля (рис. 2).

Після детального аналізу літературних джерел та скринінгу літературних даних щодо діагностики вірусів методом ПЛР для ампліфікації консервативної області в ко-

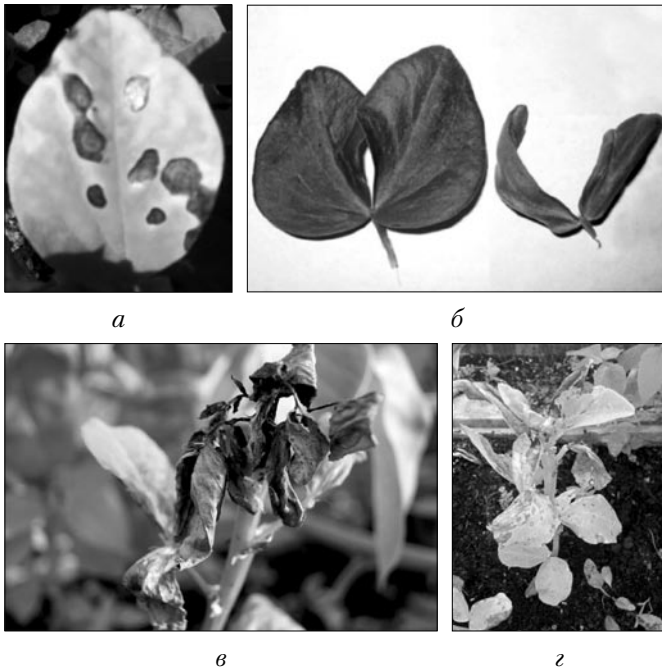


Рис. 1. Рослини *Vicia faba* L.: а, б — інфіковані ВЖМК (соє), в, г — ВЖМК (квасолі)

дувальній частині білка оболонки нами були відібрані три пари праймерів. Вибрані праймери відносяться до С-кінцевої області білка оболонки (БО) вірусу та ампліфікують лише ВЖМК [8]. Набори праймерів (ВУМВ-СРУ, ВУМВ-СПД та Р1, Р2) [9, 10] дають змогу ампліфікувати фрагмент довжиною 907 та 800 пар основ відповідно, ВУМВ1 f, ВУМВ2 r – 266 (табл. 2).

Нам не вдалось виявити ВЖМК в екстрактах інфікованих рослин сої, квасолі та люпину з використанням праймерів ВУМВ СПД/СРУ при температурі відпалу 45–55°C [9], що може свідчити про низьку специфічність цієї пари праймерів до вказаних ізолятів (дані не наведено). За результатами ПЛР-аналізу було встановлено, що праймери Р1/Р2 є ефективними щодо виявлення ізолятів ВЖМК (квасоля) та ВЖМК (люпин) лише при низьких температурах відпалу (45–50°C), до того ж із підвищенням температури кількість продуктів ампліфікації зменшується, про що свідчить зниження інтенсивності смуг за УФ-опромінення гелю (рис. 3).

При низькій температурі (45°C) виявляється незначна кількість продукту ПЛР в екстрактах рослин квасолі, інфікованої вірусом звичайної мозаїки квасолі (ВЗМК) (лінія 5), про що свідчить слабка лінія на електрофореграмі. Тобто ця пара праймерів при температурі 45°C надає можливість діагностувати як ВЖМК, так і ВЗМК. Праймери ВУМВ1/ВУМВ2 ефективно виявляють ампліфіковані копії геному ВЖМК

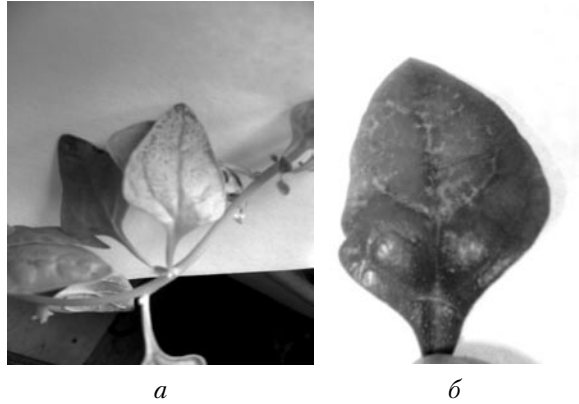


Рис. 2. Рослини *Tetragonia expansa* L.: а — інфіковані ВЖМК (соя) та б — ВЖМК (квасоля)

у діапазоні температур 45–60°C, про що свідчить наявність продуктів ампліфікації розміром 266 п.н. При низькій температурі фіксувався слабкий сигнал неспецифічного відпалу праймерів ВУМВ Р1/Р2 і ВУМВ1/ВУМВ2 на матриці ВЗМК, що обумовлено неспецифічною взаємодією частини геному ВЗМК з праймерами ВУМВ1/ВУМВ2 за м'яких умов ампліфікації.

Слід наголосити, що при такій температурі (45°C) ВЖМК не виявлявся в зразках інфікованої сої, однак при температурі відпалу 42°C з'являється продукт ампліфікації розміром 800 п.н., що відповідає розміру очікуваних фрагментів (рис. 4). За таких умов (42°C) спостерігається утворення чітких смуг продуктів ампліфікації з розмірами, характерними для відповідних праймерів — ВУМВ Р1/Р2 та ВУМВ1/ВУМВ2. Наявність неспецифічних продуктів ампліфікації

Таблиця 2

Праймери, використані для ідентифікації ВЖМК

Праймер	Послідовність	п.н.	Автори
Р1	5' ttgaatctgaactgaagtatt 3'	800	R. Vunsh, A. Rosner, A. Stein (1990) [8]
Р2	5' ctctctttctacaaatggaca 3'		
СРУ	5' gtgcatttcaatccgacaag 3'	907	M. Al-Khalaf, S.G. Kumari, A.H. Kasem, K.M. Makkouk, A. Abdel-Baset (2008) [9]
СПД	5' ggaggtgaaacctactaatac 3'		
ВУМВ1 f	5' ccaacattccgcaataat 3'	266	І.О. Антіпов, К.В. Гринчук, О.П. Сидоренко (2014) [5]
ВУМВ2 r	5' tctgtccaacattgccatc 3'		

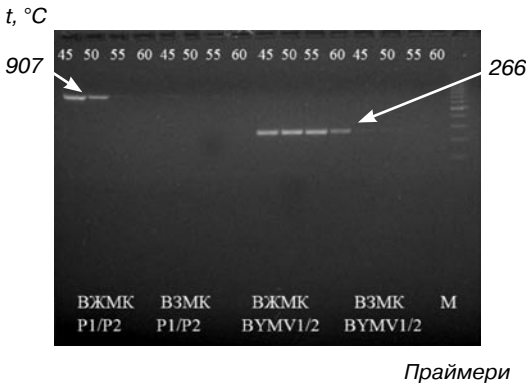


Рис. 3. Електрофореграма продуктів ЗТ-ПЛР ВЖМК в агарозному гелі при різній температурі відпалу праймерів: трек 1–4 — праймери ВЖМК P1/P2, матриця ВЖМК; трек 5–8 — праймери ВЖМК P1/P2, матриця ВЗМК; трек 9–12 — праймери ВУМV1/ВУМV2, матриця ВЖМК; трек 13–16 — праймери ВУМV1/ВУМV2, матриця ВЗМК; М — маркери (Gene Ruller 100 bp DNA Ladder plus)

ліфікації за використання ВУМV P1/P2 може свідчити про утворення деяких мутацій (ймовірно, інстелів), зокрема в частині вірусного геному, що кодує БО, оскільки мінливість саме в цій області часто обумовлює важливі аспекти життєвого циклу та функцій вірусів — рух вірусів у рослинах, здатність передаватись попелицями та накопичуватись в клітинах.

Отже, для діагностики ізолятів ВЖМК за критеріями чутливості і специфічності найефективнішою є ПЛР з використанням праймерів ВУМV1/ВУМV2. Праймери CPU/CPD до ВЖМК [9] (продукт ампліфікації 907 п.н.) не забезпечують детектування вірусу за різних температурних режимів. Пара розроблених праймерів [10] не є обов'язково специфічною щодо діагностики ВЖМК методом ПЛР, оскільки при низьких температурах їх відпалу виявляли як ВЖМК, так і неспецифічні продукти ампліфікації.

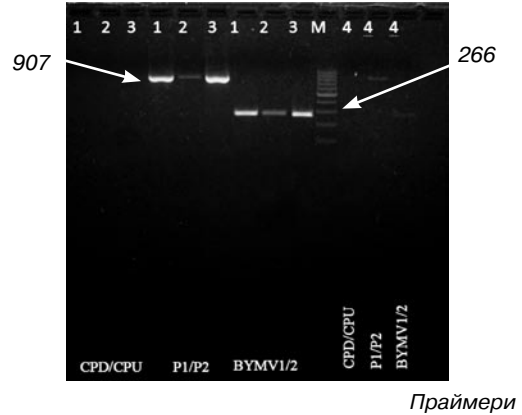


Рис. 4. Електрофореграма продуктів ЗТ-ПЛР ВЖМК в агарозному гелі при температурі відпалу праймерів, що становила 42°C: трек 1–3, 11 — праймери ВУМV-CPD/CPU; трек 4–6, 12 — праймери ВУМV P1/P2; трек 7–9, 13 — праймери ВУМV1/ВУМV2; 1 — ВЖМК (люпин); 2 — ВЖМК (соя); 3 — ВЖМК (квасоля); 4 — ВЗМК (квасоля); М — маркери

Для встановлення генетичних взаємозв'язків між ізолятами та проведення філогенетичного аналізу планується визначити нуклеотидні послідовності гена капсидного білка ізолятів ВЖМК, що циркулюють на території України.

ВИСНОВКИ

Ізоляти ВЖМК, виявлені в Україні на посівах квасолі, сої та люпину, відрізнялись між собою за характером симптомів, індукованих на рослинах *Vicia faba* L. та *Tetragonia expansa* L.

За реакціями рослин-індикаторів на інокуляцію вірусом ізоляти із квасолі та люпину можна віднести до некротичних штамів ВЖМК, тоді як ВЖМК із сої — до групи середньопатогенних.

Праймери ВУМV1/ВУМV2 є оптимальними для ідентифікації ізолятів ВЖМК, що циркулюють в Україні, методом ПЛР і можуть бути рекомендованими для створення відповідних діагностичних тест-систем.

ЛІТЕРАТУРА

1. *Kehoe M.A.* Plant virology and next generation sequencing: experiences with a Potyvirus / M.A. Kehoe, B.A. Coutts, B.J. Buirchell // *PLoS One*. — 2014. — No. 9 (8). — P. 1–8.
2. Phylogenetic analysis of *Bean yellow mosaic virus* isolates from four continents: relationship between the seven groups found and their hosts and origins / S.J. Wylie, B.A. Coutts, M.G.K. Jones, R.A.C. Jones // *Plant Dis*. — 2008. — No. 92. — P. 1596–1603.
3. *Жмурко Л.И.* Ізоляты вірусу жёлтої мозаїки фасолі, поражающего кормової люпин в условиях Украины / Л.И. Жмурко, О.В. Молчанец, Н.Б. Порембская // 7-й съезд Украинского микробиологического общества. — Ч. 2. — Черновцы, 1989. — С. 171–172.
4. *Баратова П.Ф.* Про властивості ізолятів вірусу жовтої мозаїки квасолі із конюшини / П.Ф. Баратова // *Мікробіологічний журнал*. — 1971. — Т. 33, вип. 1. — С. 114–117.
5. *Антіпов І.О.* ПЛР діагностика та ідентифікація вірусу жовтої мозаїки квасолі (*Bean yellow mosaic virus*) / І.О. Антіпов, К.В. Гринчук, О.П. Сидоренко // Збірник наукових праць V Всеукраїнської науково-практичної конференції молодих учених і студентів «Біологічні дослідження — 2014».
- Житомир: Вид-во ЖДУ ім. І. Франка, 2014. — С. 22–23.
6. *Пиріг О.В.* Ідентифікація та дослідження властивостей ізоляту ВЖМК, виділеного з люпину жовтого в Чернігівській області / О.В. Пиріг, О.О. Дмитрук, Т.О. Бова // Матеріали X наукової конф. молодих вчених «Мікробіологія в сучасному сільськогосподарському виробництві». — Чернігів: Сівер-Друк, 2014. — С. 95–98.
7. *Кириченко А.Н.* Характеристика вірусу жёлтої мозаїки фасолі, виділеного із сої / А.Н. Кириченко // *Мікробіологічний журнал*. — 2013. — Вип. 75 (3). — С. 68–73.
8. *Hammond J.* Molecular cloning, sequencing and expression in *Escherichia coli* of the bean yellow mosaic virus coat protein gene / J. Hammond, R.W. Hammond // *J Gen Virol*. — 1989. — No. 70 (8). — P. 1961–1974.
9. Molecular characterization of a Bean yellow mosaic virus isolate from Syria / M. Al-Khalaf, S.G. Kumari, A.H. Kasem et al. // *Phytopathol. Mediterr*. — 2008. — Vol. 47. — P. 282–285.
10. *Vunsh R.* The use of polymerase chain reaction (PCR) for the detection of bean yellow mosaic virus in gladiolus / R. Vunsh, A. Rosner, A. Stein // *Annals of Biology*. — 1990. — Vol. 117. — P. 561–569.

REFERENCES

1. *Kehoe M.A., Coutts B.A.* (2014). Buirchell B.J. Plant virology and next generation sequencing: experiences with a Potyvirus. *PLoS One*. No. 9 (8), p. 1–8 (*in English*).
2. Wylie S.J., Coutts B.A., Jones M.G.K., Jones R.A.C. (2008). Phylogenetic analysis of Bean yellow mosaic virus isolates from four continents: relationship between the seven groups found and their hosts and origins. *Plant Dis*. No. 92, p. 1596–1603 (*in English*).
3. Zhmurko L.I., Molchanets O.V., Porembskaya N.B. (1989). *Izolyaty virusa zheltoy mozaiki fasoli, porazhayushchego kormovoy lyupin v usloviyakh Ukrainy* [Isolated yellow mosaic virus bean, striking the aft lupine in the conditions of Ukraine]. 7-y sezhd ukrainskogo mikrobiologicheskogo obshchestva [7th Congress of the Ukrainian Society for Microbiology]. Chernovtsy, part 2, pp. 171–172 (*in Russian*).
4. Baratova P.F. (1970). *Pro vlastyosti izolyativ virusu zhovtoi mozaiky kwasoli iz koniushyny* [Properties of the yellow mosaic virus isolates from bean clover]. *Mikrobiologichnyi zhurnal* [Microbiological magazine], pp. 114–116 (*in Ukrainian*).
5. Antipov I.O., Hrynchuk K.V., Sydorenko O.P. (2014). *PLR diagnostyka ta identyfikatsiya virusu zhovtoi mozaiky kwasoli* (Bean yellow mosaic virus) [PCR diagnosis and identification of the virus of yellow bean mosaic (Bean yellow mosaic virus)]. *Zbirnyk naukovykh prats V vseukrainskoi naukovopraktychnoi konf. molodykh uchenykh i studentiv* [Proceedings of V All-Ukrainian scientific conference of young scientists and students]. Pp. 22–23 (*in Ukrainian*).
6. Pyrih O.V., Dmytruk O.O., Bova T.O. (2014). *Identyfikatsiya ta doslidzhennia vlastyosteі izolyatu VZhMK, vydilenoho z liupynu zhovtoho v Chernihivskii oblasti* [Identification and study of properties of Whack isolates isolated fr Materials XV scientific conference. young Scientists om yellow lupine in Chernihiv region]. *Mikrobiologhiia v suchasnomu silskohospodarskomu vyrobnytstvi* [Microbiology in modern agricultural production]. *Materialy X naukovoі konf. molodykh vchenykh* [Materials XV scientific conference. young Scientists]. Chernihiv. pp. 95–98. (*in Ukrainian*).
7. Kirichenko A.N. (2013). *Kharakteristika virusa zheltoy mozaiki fasoli, vydilenoogo iz soi* [Characteristics of mosaic virus yellow beans, extracted from soy]. *Mikrobiologichnyi zhurnal* [Microbiological magazine]. Iss. 75 (3), pp. 68–73 (*in Russian*).
8. Hammond J., Hammond R. W. (1989). Molecular cloning, sequencing and expression in *Escherichia coli* of the bean yellow mosaic virus coat protein gene. *J Gen Virol*. No. 70 (8), pp. 1961–1974 (*in English*).
9. Al-Khalaf M., Kumari S.G., Kasem A.H., Makkouk K.M., Abdel-Baset A. (2008). Molecular characterization of a Bean yellow mosaic virus isolate from Syria. *Phytopathol. Mediterr*. Vol. 47, pp. 282–285 (*in English*).
10. Vunsh R., Rosner A., Stein A. (1990). The use of polymerase chain reaction (PCR) for the detection of bean yellow mosaic virus in gladiolus. *Annals of Biology*. Vol. 117, pp. 561–569 (*in English*).