

**КИЇВСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ  
ІМЕНІ ТАРАСА ШЕВЧЕНКА**

ННЦ «Інститут біології та медицини»

Кафедра вірусології

Завідувач кафедри проф. Ірина БУДЗАНІВСЬКА

Протокол № \_\_\_\_ засідання кафедри

від « \_\_\_\_ » \_\_\_\_\_ 2026 р.

**ІДЕНТИФІКАЦІЯ ТА ХАРАКТЕРИСТИКА ВІРУСІВ, ЯКІ  
ІНФІКУЮТЬ *ZEA MAYS L.* В УКРАЇНІ**

Випускна кваліфікаційна робота  
студентки денної форми навчання  
за спеціальністю 091 «Біологія та біохімія»  
Власової Тетяни Юріївни  
науковий керівник від кафедри  
д-р біол. наук, проф. Шевченко Т.П.

Робота виконана на базі кафедри вірусології ННЦ «Інститут біології та медицини» під керівництвом наукового співробітника, канд. біол. наук  
Снігур Г.О.

Оцінка захисту роботи

---

**Київ – 2026 р.**

## ПЕРЕЛІК УМОВНИХ СКОРОЧЕНЬ

- ЗТ-ПЛР - Зворотньоотранскрипційна полімеразна ланцюгова реакція
- ІФА - імуноферментний аналіз
- BLAST - Basic Local Alignment Search Tool (Базовий інструмент локального вирівнювання послідовностей)
- BYDV - barley yellow dwarf virus (вірус жовтої карликовості ячменю)
- CYDV - cereal yellow dwarf virus (вірус жовтої карликовості зернових культур)
- DAC-ELISA - Direct Antigen Coating - Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (прямий імуноферментний аналіз)
- DAS-ELISA - Double Antibody Sandwich Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (Сендвіч метод імуноферментного аналізу)
- Dot-ELISA - Dot Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (точковий імуноферментний аналіз)
- IPM - Integrated Pest Management (Комплексна боротьба зі шкідниками)
- JGMV – Johnsongrass mosaic virus, JGMV (вірус мозаїки джонсонграсу)
- MDMV – Maize dwarf mosaic virus (вірус карликової мозаїки кукурудзи)
- NCBI - National Center for Biotechnology Information (Національний центр біотехнологічної інформації)
- NGS - Next-Generation Sequencing (секвенування нового покоління)
- SCMV – Sugarcane mosaic virus (вірус мозаїки цукрової тростини)
- SDS-PAGE - Sodium Dodecyl Sulfate–Polyacrylamide Gel Electrophoresis (Електрофорез у поліакриламідному гелі з додецилсульфатом натрію)
- SDT - Sequence Demarcation Tool (Інструмент демаркації послідовностей)
- SMM - S-Methylmethionine (S-метилметіонін)
- SrMV – Sorghum mosaic virus (вірус мозаїки сорго)
- TAS-ELISA - Triple Antibody Sandwich Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (Імуноферментний аналіз за методом потрійного сендвіча антитіл)

## ЗМІСТ

<b>ВСТУП</b> .....	4
<b>РОЗДІЛ 1.</b> Характеристика вірусів, що уражують кукурудзу.....	6
1.1.Класифікація та молекулярно-біологічна характеристика вірусів кукурудзи.....	6
1.2. Поширення, шкодочинність та заходи боротьби з вірусними хворобами кукурудзи.....	14
1.3. Дослідження вірусів кукурудзи в Україні.....	20
<b>РОЗДІЛ 2.</b> Методи досліджень у вірусології.....	24
2.1. Візуальна діагностика вірусних хвороб кукурудзи.....	24
2.2. Серологічні методи діагностики.....	28
2.3. Молекулярні методи досліджень.....	30
<b>РОЗДІЛ 3.</b> Матеріали та методи дослідження.....	32
3.1. Об'єкти досліджень.....	32
3.2. Матеріали та методи досліджень .....	33
3.2.1. Візуальна діагностика вірусних хвороб.....	33
3.2.2. Імуноферментний аналіз.....	34
3.2.3. Трансмисійна-електронна мікроскопія.....	36
3.2.4. Виділення РНК.....	37
3.2.5. Полімеразна ланцюгова реакція.....	38
3.2.6. Філогенетичний аналіз.....	40
3.2.7. Статистична обробка результатів.....	41
<b>РОЗДІЛ 4.</b> Результати досліджень та їх обговорення.....	42
4.1.Скринінг агроценозів України для виявлення вірусів кукурудзи.....	42
4.2. Ідентифікація вірусів кукурудзи імуноферментним аналізом .....	44
4.3. Електронно-мікроскопічне дослідження.....	46
4.4. Ідентифікація вірусів кукурудзи в Україні молекулярними методами.....	47
<b>ВИСНОВКИ</b> .....	56
<b>СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ</b> .....	58

## ВСТУП

Кукурудза (*Zea mays* L.) є однією з провідних стратегічних культур світового аграрного сектору, що забезпечує потреби продовольчої, кормової та біоенергетичної галузей, і займає друге місце за обсягами вирощування у світі. Україна є лідером у виробництві кукурудзи та посідає шосте місце у світі, поступаючись лише США, Китаю, Бразилії, ЄС та Аргентині. У 2018–2022 роках Україна виробляла в середньому близько 34 мільйонів тонн кукурудзи на рік (FAOSTAT, 2023), що підкреслює стратегічне значення цієї культури для економічної стабільності та експортного потенціалу нашої держави.

Серед найбільш серйозних загроз для вирощування кукурудзи є вірусні захворювання, здатні зумовлювати суттєве зниження врожайності та погіршення якості зерна. Поява нових вірусів та їхніх варіантів внаслідок генетичної еволюції, поширення інфекції з природних рослин-резерваторів, змін сільськогосподарських практик та кліматичних змін створюють постійні виклики для моніторингу вірусних хвороб рослин. Обмежена інформація про видове різноманіття вірусів, що уражують кукурудзу в Україні, вказує на необхідність глибшого вивчення біологічних особливостей та генетичної структури ізолятів. Брак вичерпних даних про молекулярно-біологічні властивості таких ізолятів в Україні та порівняльного аналізу їхніх нуклеотидних послідовностей ускладнює об'єктивну оцінку фітосанітарного стану посівів, що й обумовлює актуальність цієї роботи.

Метою даної роботи було ідентифікувати віруси, які уражують кукурудзу в Україні, та провести їх характеристику різними методами.

Для досягнення поставленої мети було визначено такі завдання:

1. Провести моніторинг посівів кукурудзи у Вінницькій та Київській областях для виявлення рослин із характерними ознаками вірусної інфекції.

2. Здійснити серологічну діагностику відібраних зразків методом імуноферментного аналізу для характеристики видового складу збудників.
3. Дослідити морфологію віріонів у симптоматичних зразках за допомогою трансмісійної електронної мікроскопії.
4. Провести молекулярно-генетичну ідентифікацію виявлених ізолятів методом зворотно-транскрипційної полімеразної ланцюгової реакції.
5. Виконати філогенетичний аналіз нуклеотидних послідовностей для встановлення еволюційної спорідненості українських ізолятів із відомими світовими штамами.

Комплексна реалізація поставлених завдань дозволить отримати нові дані щодо поширення вірусів кукурудзи в обстежених регіонах України та провести їхню первинну характеристику. Порівняння нуклеотидних послідовностей отриманих ізолятів із референтними послідовностями з міжнародних баз даних дозволить встановити ступінь їхньої генетичної спорідненості. Отримані результати, що базуються на методах імуноферментного аналізу, електронної мікроскопії та філогенетичного аналізу, поглиблюють уявлення про молекулярно-біологічну різноманітність вірусів злаків і слугуватимуть підґрунтям для подальших моніторингових досліджень, спрямованих на розробку систем захисту рослин для потреб аграрного сектору.

## РОЗДІЛ 1

### ХАРАКТЕРИСТИКА ВІРУСІВ, ЩО УРАЖУЮТЬ КУКУРУДЗУ

#### 1.1. Класифікація та молекулярно-біологічна характеристика вірусів кукурудзи

Кукурудза (*Zea mays* L.) є господарем для широкого спектра патогенів. Було показано, що загалом більше 50 вірусів здатні вражати цю культуру (Lapierre, 2004). До них належать вірус мозаїки сорго (*Sorghum mosaic virus*, SrMV), вірус мозаїки джонсонграсу (*Johnsongrass mosaic virus*, JGMV), вірус хлоротичної плямистості кукурудзи (*Maize chlorotic mottle virus*, MCMV) та вірус хлоротичної карликовості кукурудзи (*Maize chlorotic dwarf virus*, MCDV) (Shukla, 1989; Schurtleff, 1999; Seifers, 2000). За літературними даними найпоширенішим збудником хвороб кукурудзи є представник роду *Potyvirus* (Gell, 2010).

Однією з найскладніших проблем у класифікації вірусів кукурудзи тривалий час залишалася так звана «підгрупа вірусу мозаїки цукрової тростини» (SCMV subgroup). До кінця 1980-х років через подібність викликаних симптомів (мозаїка, штрихуватість, карликовість) та спільне коло хазяїв-злаків, багато вірусів помилково вважалися штамми одного виду. Зокрема, патогени, які ми зараз знаємо як MDMV, SCMV, SrMV та JGMV, часто плутали або об'єднували під загальною назвою MDMV.

Ситуація докорінно змінилася завдяки застосуванню нових на той час методів біохімічного та імунологічного аналізу. Вирішальну роль відіграли дослідження Д. Шукли (Shukla, 1989), який запропонував використовувати реактивність поліклональних антитіл, спрямованих проти вірусоспецифічних N-термінальних ділянок білків оболонки (CP). Було встановлено, що саме N-термінальна частина капсидного білка є унікальною для кожного виду, тоді як консервативний стрижневий домен молекули вірусу залишається майже незмінним у межах усієї родини. Дані, отримані за допомогою електрофорезу

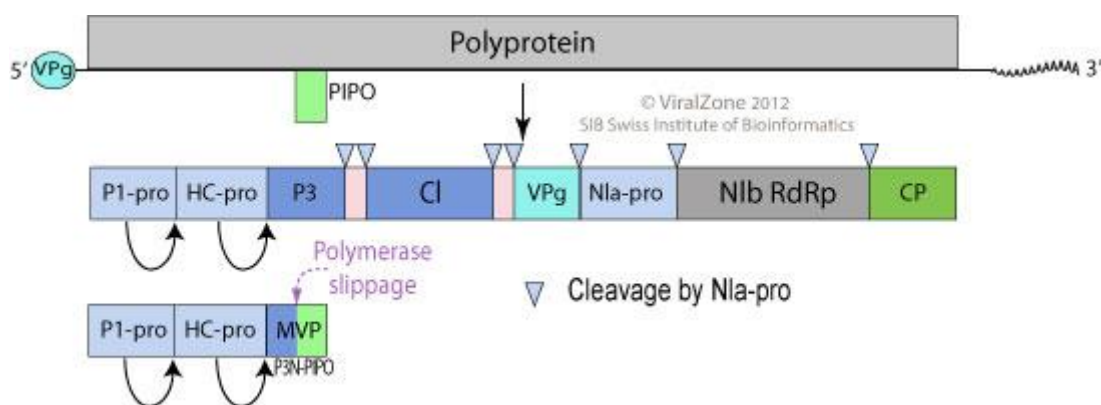
в поліакриламідному гелі (SDS-PAGE) та високоефективної рідинної хроматографії (HPLC) пептидних фрагментів, підтвердили, що ці віруси є генетично окремими об'єктами. Результати порівняльного аналізу послідовностей та серологічних властивостей показали, що рівень амінокислотної ідентичності між ними є недостатнім для об'єднання в один вид (Shukla, 1989). На основі цих молекулярних даних підгрупа SCMV була розділена на чотири самостійні види, що стало фундаментом сучасної класифікації роду *Potyvirus*.

Згідно з актуальними критеріями ICTV (2023), представники роду *Potyvirus* мають ниткоподібні гнучкі віріони зі спіральною симетрією, довжиною 680–900 нм, геном яких представлений одноланцюговою РНК позитивної полярності розміром близько 9,7–11 кб. (рис. 1.1)



**Рис. 1.1.** Схема віріонів представників роду *Potyvirus* [39]

На 5'-кінці геному розташований білок VPg, а на 3'-кінці — полі(А)-хвіст (рис. 1.2). Геном кодує єдиний поліпротеїн, що розщеплюється на десять функціональних білків. Найваріабельніша серинова протеаза Р1 визначає адаптацію до хазяя та разом із білком NS-Pro пригнічує імунітет рослини. Сам NS-Pro додатково блокує противірусний захист, перехоплюючи малі інтерферуючі РНК, і забезпечує передачу вірусу попелицями. Білок Р3 та пептиди 6К1 й 6К2 формують мембранні реплікативні комплекси, де 6К2 критичний для системного транспорту по судинах. Геліказа СІ розкручує РНК під час копіювання та допомагає вірусу долати плазмодесми. Білок VPg діє як праймер для синтезу нових ланцюгів РНК. Основна протеаза NIa-Pro здійснює точне розщеплення поліпротеїну, а RdRp-полімераза NIb безпосередньо каталізує реплікацію. Зрештою, капсидний білок СР забезпечує структурну цілісність віріона, його поширення рослиною та передачу векторами.



**Рис. 1.2.** Схема одноланцюгового РНК+ генома представників роду *Potyvirus* [39]

Попелиці відіграють роль критично важливих векторів фітовірусів, реалізуючи як персистентний, так і неперсистентний механізми трансмісії. Неперсистентний спосіб передачі характерний для понад 200 видів вірусів рослин, де основними переносниками виступають представники ряду *Homoptera*, що мають спеціалізований колючо-сисний ротовий апарат. У родині *Aphididae*, яка об'єднує м'якотілих попелиць, понад 50% видів здатні транспортувати більше 60% відомих вірусних патогенів. Неперсистентна передача SCMV здійснюється переважно кількома видами афідних векторів, серед яких ключове значення мають *Dactynotus ambrosiae*, *Hysteroneura setariae*, *Melanaphis sacchari*, *Rhopalosiphum maidis* та *Toxoptera graminum* (рис. 1.3). Окрім прямих переносників, непрямий вплив на швидкість розповсюдження інфекції можуть мати мурахи, якщо вони вступають в активний трофобіоз із колоніями попелиць на уражених полях, сприяючи їхньому виживанню та розселенню.



**Рис 1.3.** Види попелиць, що передають SCMV неперсистентно:

А- *Dactynotus ambrosiae* [56], Б- *Hysteronura setariae* [16], С - *Melanaphis sacchari* [31]

Ефективність трансмісії представників роду потівірусів залежить від низки чинників, які безпосередньо впливають на динаміку епізоотичного процесу. По-перше, встановлено, що преадаптація афідних векторів через голодування суттєво підвищує успішність передачі віріонів (до 15%) порівняно з не голодуючими особинами (5%) (Mikel, 1984). Такий ефект пояснюється звільненням травного каналу комахи від залишків рослинних компонентів, що сприяє кращій адсорбції вірусних часток. Крім того, на успішність інфікування впливає вік листя. У старих листках титр вірусу зазвичай нижчий, що пропорційно знижує імовірність його захоплення переносником.

Групова активність попелиць на рослині-хазяїні демонструє вищу результативність передачі потівірусів порівняно з поодинокими особинами. Це зумовлено коротким періодом збереження інфекційності вірусу в організмі комахи та відносно низькою швидкістю його передачі. Загалом, продуктивність трансмісії залежить від концентрації патогену *in vivo*, яка, у свою чергу, модулюється трофічними умовами, видовою належністю хазяя, температурним режимом та тривалістю інфекційного процесу. Також значну роль відіграють специфічні взаємодії між конкретними видами попелиць та відповідними вірусними штамами. Епідеміологічна ситуація додатково корелює з умовами навколишнього середовища. Наприклад, низька температура та підвищена вологість на початку вегетаційного сезону можуть ініціювати спалахи інфекції через стрімке зростання популяції *S. graminum*.

Окрім векторного способу, для представників даної групи потівірусів задокументована можливість вертикальної передачі через насінневий матеріал. Згідно з фундаментальними дослідженнями Бутройд (Boothroyd, 1977), рівень насінневої трансмісії при вірусних мозаїках кукурудзи може сягати 0,5%. Прояв інфекції у нащадків має диференційований характер:

частина рослин демонструє типову мозаїчну симптоматику, тоді як інші залишаються безсимптомними носіями. У насінні польової та цукрової кукурудзи присутність потівірусів фіксували на рівні 0,4%, а в інбредних лініях — близько 0,2% (Mikel, 1981). Проте варто зауважити, що ці дані базувалися переважно на візуальній діагностиці, тоді як подальші молекулярні дослідження реєстрували значно нижчі показники (від 0,007% до повної відсутності).

Також до числа ключових патогенів злакових культур, в тому числі кукурудзи, входять віруси групи жовтої карликовості, що входять до родини *Luteoviridae*. Лютеовіруси – економічно дуже важливі рослинні віруси з широким географічним поширенням, що спричиняють значні втрати виробництва до 100% (Domier and D'Arcy, 2008).

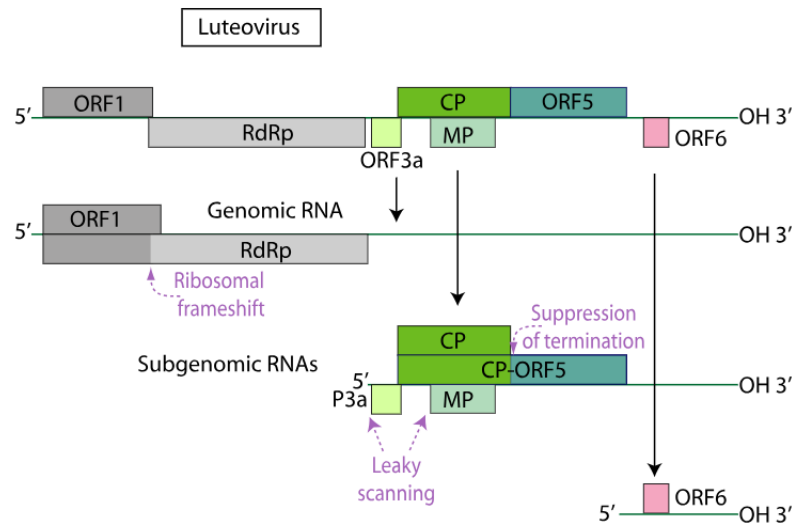
Щодо класифікації збудників групи жовтої карликовості, вона базується на комплексному аналізі їхніх генетичних характеристик, специфічності зв'язку з векторами-переносниками та колі рослин-хазяїв. Вірус жовтої карликовості ячменю (BYDV) традиційно поділяли на низку серотипів, які, згідно з сучасними молекулярно-генетичними даними та номенклатурою ICTV, наразі визнані окремими видами. Серед них найбільше епідеміологічне значення мають види BYDV-PAV, BYDV-MAV та BYDV-SGV. Характерною рисою кожного серотипу є його асоціація з конкретними видами попелиць, що забезпечують трансмісію патогену. Зокрема, встановлено, що основним вектором для BYDV-PAV виступає *Rhopalosiphum padi*, тоді як BYDV-MAV ефективно поширюється за допомогою *Sitobion avenae*, а BYDV-SGV — через *Schizaphis graminum* (Gray, 2003) (рис. 1.4). Саме така варіативність у переносниках визначає особливості територіального поширення вірусів та успішність інфікування посівів кукурудзи в різноманітних агрокліматичних зонах. Окрім векторної специфічності, серотипи суттєво різняться за рівнем вірулентності, характером прояву ознак захворювання та реакцією на захисні заходи, що створює значні перешкоди для впровадження уніфікованих систем моніторингу та протидії інфекції.



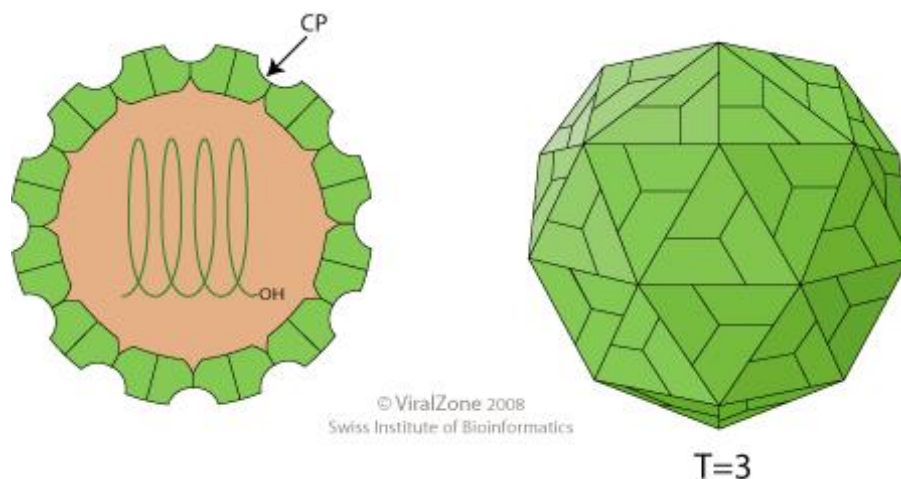
**Рис. 1.4.** Види попелиць, що переносять різні серотипи BYDV:

А- *Rhopalosiphum padi* [4], В- *Sitobion avenae* [50], С- *Schizaphis graminum* [7]

Молекулярно-генетична організація вірусів групи жовтої карликовості представлена одноланцюговою позитивно-полярною РНК (+ssRNA), протяжність якої становить від 5,3 до 5,7 тисяч нуклеотидів (Miller, 1997). Геномна структура містить низку відкритих рамок зчитування (ORF), що детермінують синтез структурних та неструктурних протеїнів, функціонально необхідних для реалізації життєвого циклу патогену (рис. 1.5). У групі структурних білків фундаментальне значення має капсидний білок (СР) з молекулярною масою приблизно 22 кДа; саме він забезпечує формування ікосаедричних віріонів, діаметр яких варіює в межах 25–30 нм (рис. 1.6). Ще одним значущим компонентом є "readthrough protein" (RTP) — білок, що синтезується шляхом трансляційного зчитування стоп-кодону в одній із ORF. Даний протеїн є критичним фактором у забезпеченні специфічної взаємодії вірусних часток із попелицями, що уможливлює трансмісію вірусу між рослинами (Gray, 2003). За реплікацію вірусного геному та посттрансляційний процесинг поліпротеїнів у клітині відповідають неструктурні білки, зокрема РНК-залежна РНК-полімераза (RdRp) та вірусна протеаза.



**Рис. 1.5.** Схема геному вірусів представників роду *Luteovirus* [38]



**Рис. 1.6.** Схема віріонів представників роду *Luteovirus* [38]

Характерною рисою геному BYDV є наявність регуляторних некодуючих послідовностей на 5'- та 3'-флангах, що модулюють процеси трансляції та реплікації вірусної РНК. Зокрема, 5'-нетрансльована ділянка (5'-UTR) містить сайти внутрішньої посадки рибосом (IRES). Це дозволяє вірусу використовувати альтернативний, незалежний від 5'-кепу, шлях ініціації трансляції, що є важливою адаптацією до стресових умов у клітині рослини, коли стандартні механізми біосинтезу білка можуть бути заблоковані (Miller, 1997). На 3'-кінці геному розташована нетрансльована область (3'-UTR), здатна формувати складні вторинні структури (шпильки та псевдовузли). Ці

конформаційні елементи забезпечують стабільність молекули РНК та її ефективну взаємодію з реплікаційним комплексом (Domier, 2008).

Специфічною ознакою патогенів вірусів групи жовтої карликовості є їхня суворе локалізація у флоемних тканинах рослин-хазяїв, що безпосередньо пов'язано з облігатною залежністю вірусу від флоемного транспорту для здійснення системної інфекції. Процеси вірусної реплікації реалізуються в цитоплазмі клітин флоєми; саме там відбувається акумуляція віріонів, які згодом розносяться по рослині разом із током асимілятів (Mayo, 1996). Така біологічна особливість суттєво обмежує можливості як своєчасної діагностики, так і ефективного контролю захворювання, оскільки вірус залишається просторово ізольованим і важкодоступним для стандартних методів детекції.

Хоча кукурудза не належить до переліку основних господарів BYDV, вона може піддаватися інфікуванню в періоди масового розмноження попелиць або за умови територіальної близькості до посівів інших злакових культур (ячменю, пшениці), які функціонують як первинні джерела інфекції. У подібних сценаріях кукурудза відіграє роль важливого природного резервуара, що забезпечує збереження вірусного потенціалу в межах агроєкосистеми та сприяє подальшому поширенню патогену (Irwin, 1990).

Глобальна геномна мінливість представників родин *Potyviriidae* та *Luteoviridae* (група жовтої карликовості) виступає фундаментом їхньої еволюційної адаптивності та патогенного потенціалу. Завдяки відсутності коригувальної активності у вірусних РНК-полімеразах та високій частоті рекомбінаційних подій, у популяціях цих вірусів безперервно виникають нові штами із диференційованими біологічними властивостями. Наприклад, ізоляти SCMV та серотипи BYDV-PAV демонструють значну генетичну гетерогенність, що безпосередньо впливає на їхню здатність ефективно інфікувати посіви кукурудзи в мінливих еколого-кліматичних умовах.

Характер і ступінь прояву візуальних ознак інфекції в посівах кукурудзи значною мірою визначається специфікою вірусного штаму, генотипом

рослини-хазяїна фазою її онтогенезу в момент зараження, а також погодними умовами довкілля (Bos, 1982). Для вірусів групи жовтої карликовості (*barley yellow dwarf virus*, BYDV) типовою симптоматикою є зміна пігментації листкових пластинок, що проявляється у вигляді дифузного пожовтіння або інтенсивного почервоніння. На сприйнятливих гібридах часто фіксується перехід від світло-червоного до темно-пурпурового забарвлення листків (D'Arcy, 1995). У разі інфікування на ранніх етапах розвитку культури спостерігається пригнічення ростових процесів, що призводить до загальної карликовості рослин (Yount, 1985). При цьому варто зауважити, що окремі сорти та гібриди кукурудзи здатні до латентного перебігу інфекції, виступаючи безсимптомними носіями патогену.

На відміну від лютеовірусів, представники роду потівірусів (зокрема SCMV та MDMV) ініціюють інший тип патологічних змін. Основним симптомом їхньої присутності є характерна мозаїчність: поява дрібних хлоротичних плям або штрихів, що орієнтовані паралельно жилкам листка. У міру прогресування хвороби ці плями зливаються, утворюючи суцільні світло-зелені або жовтуваті зони, що чергуються з нормально забарвленою тканиною (Mikel, 1981). Аналогічно до BYDV, раннє зараження потівірусами спричиняє вкорочення міжвузлів, недорозвиненість волоті та значне зниження насінневої продуктивності. Спільним для обох груп є посилення симптомів за умов абіотичного стресу, що робить візуальну діагностику критично важливою для первинної оцінки фітосанітарного стану посівів.

## **1.2. Поширення, шкодочинність та заходи боротьби з вірусними хворобами кукурудзи**

Віруси групи жовтої карликовості, зокрема вірус жовтої карликовості ячменю (*Barley yellow dwarf virus*, BYDV), та представники роду потівірусів, такі як вірус карликової мозаїки кукурудзи (MDMV) та вірус мозаїки цукрової тростини (SCMV), належать до найбільш поширених і шкодочинних патогенів

злакових культур у світі. Їхнє поширення зумовлене складною взаємодією біологічних, екологічних і антропогенних факторів, де ключову роль відіграють комахи-переносники — попелиці. Кукурудза (*Zea mays* L.), хоча й не завжди є основним господарем, часто уражається в регіонах із інтенсивним вирощуванням злаків. Передача BYDV здійснюється переважно видами *Rhopalosiphum padi*, *Sitobion avenae* та *Schizaphis graminum*, які є векторами для серотипів BYDV-PAV, BYDV-MAV і BYDV-SGV (Gray, 2003). Поширення потівірусів так само відбувається за участю понад 20 видів попелиць, включаючи *Myzus persicae* та *Brevicoryne brassicae*, які забезпечують неперсистентну трансмісію патогену.

В агроценозах поширення вірусів залежить від щільності популяції переносників, їхньої міграційної активності та наявності рослин-резерваторів. У глобальному масштабі ці віруси охоплюють усі континенти — від Північної Америки й Європи до Азії та Австралії (Irwin, 1990). У Європі, зокрема в Україні, інфекція найчастіше фіксується в зонах із помірним кліматом, де тепла весна та м'яка осінь створюють оптимальні умови для розмноження векторів. На кукурудзі зараження зазвичай відбувається внаслідок перехресного інфікування від сусідніх посівів ячменю, пшениці чи вівса, а також від дикорослих трав. У регіонах із змішаним землеробством кукурудза відіграє роль вторинного хазяїна, сприяючи збереженню вірусу в екосистемі.

Кліматичні зміни суттєво впливають на динаміку епізоотичного процесу. Підвищення середньорічних температур і подовження вегетаційного періоду сприяють збільшенню чисельності попелиць, що розширює ареал вірусів (Power, 1995). В Україні це особливо помітно в південних і центральних областях (Одеська, Миколаївська, Херсонська, Дніпропетровська), де теплий клімат і зрошувані землі створюють ідеальні умови для переносників. У північних областях (Чернігівська, Сумська) частота уражень є нижчою, проте спорадичні спалахи спостерігаються в аномально теплі роки. Сезонна динаміка поширення тісно пов'язана з життєвим циклом попелиць: навесні

масовий літ крилатих форм сприяє первинному зараженню молодих рослин, а восени можливі вторинні інфекції при міграції векторів на озимі злаки.

Шкодочинність вірусних інфекцій проявляється через комплекс прямих та опосередкованих впливів на фізіологію рослин. Для вірусів групи жовтої карликовості характерним є системне ураження флоемних тканин, що блокує транспорт асимілятів, призводить до пожовтіння листків, хлорозу, затримки росту та зменшення розміру качанів (Mahlein, 2016). Внаслідок цього порушуються процеси фотосинтезу та накопичення біомаси, що є особливо критичним на етапах формування генеративних органів. У глобальному масштабі BYDV належить до найбільш руйнівних патогенів злакових культур: у регіонах із високим інфекційним тиском щорічні втрати врожаю чутливих колосових культур зазвичай оцінюються у 10–30% (Miller, 1997). При цьому кукурудза, хоча й може зазнавати менших прямих збитків порівняно з пшеницею чи ячменем, відіграє ключову епідеміологічну роль в агроценозах, слугуючи природним літнім резервуаром для збереження вірусу та його комах-векторів (Irwin, 1990). Штам BYDV-PAV, який домінує в Європі, викликає особливо виражені фізіологічні патології, зокрема стрімке зменшення вмісту хлорофілу та активацію оксидативного стресу, що супроводжується індукованим накопиченням активних форм кисню (Miller, 1997).

Представники роду потівірусів (зокрема MDMV) чинять не менш руйнівний вплив, затримуючи розвиток рослин на ранніх стадіях на два тижні і більше (Mayhew, 1974). Висота інфікованих рослин може зменшуватися на 23%, а у чутливих інбредних ліній — до 50% порівняно зі здоровими зразками (Shepherd, 1965 ; Shukla, 1989). Кількість товарних качанів, особливо у цукрової кукурудзи, суттєво знижується, а їхня свіжа вага може зменшитися на 30% і більше. Через погане заповнення качанів та зменшення кількості ядер вага 1000 зерен скорочується на 26%. Загальна врожайність на родючих полях при ураженні потівірусами падає на 42%, а у інбредних ліній при пізньому посіві — на 75% і більше (Shukla, 1989).

Економічне значення поширення цих хвороб полягає у втратах валового збору та погіршенні якості продукції. Ослаблені вірусом тканини стають вразливими до вторинних грибкових та бактеріальних інфекцій (Irwin, 1990). У таких країнах, як США, Китай, Бразилія та Мексика, де кукурудза є стратегічним продуктом, втрати врожаю впливають на міжнародний ринок і ціни. Крім економічних наслідків, вірусні епіфітотії мають соціальний ефект, знижуючи доходи сільських господарів та підвищуючи вартість продуктів для споживачів. Також існує екологічний аспект: масове поширення хвороб змушує збільшувати використання хімічних засобів боротьби з переносниками, що може негативно впливати на стан ґрунтів, води та біорізноманіття.

Щодо механізмів поширення, крім класичної трансмісії попелицями, для потівірусів кукурудзи задокументована передача насінням на рівні до 0,5% (Boothroyd, 1977). Хоча вірус переважно локалізується в перикарпі і значно рідше проникає в зародок, такого рівня інфекції достатньо для виживання патогену між сезонами та формування первинного джерела інокулюму. Шкодочинність вірусів критично залежить від фази розвитку рослини: найбільш деструктивним є ураження на стадії 2–6 листків. За раннього інфікування (наприклад, вірусом SCMV) молода рослина не здатна компенсувати фізіологічні втрати, що призводить до затримки росту, суттєвого зменшення кількості зерен у качані та значного зниження врожайності (Munkvold, 2016). Отже, ефективна стратегія захисту кукурудзи має обов'язково базуватися на регулярному моніторингу, впровадженні резистентних гібридів та оптимізації агротехніки.

Контроль вірусних хвороб кукурудзи, зокрема представників роду потівірусів та групи жовтої карликовості, вимагає впровадження комплексної стратегії, оскільки відсутність специфічних віруцидів робить неможливим пряме хімічне лікування інфікованих рослин у полі. Основна концепція захисту зосереджена на управлінні трьома критичними ланками: джерелом інфекції, вектором-переносником та стійкістю самого хазяя. Оскільки вірус

жовтої карликовості ячменю (BYDV) не передається через насіння чи механічно, стратегія боротьби з ним базується на управлінні популяцією попелиць і зменшенні природних резервуарів інфекції. Одним із найефективніших профілактичних заходів є науково обґрунтована сівозміна, яка передбачає чергування кукурудзи з культурами, що не є хазяями для вірусу, наприклад, бобовими (соя, горох) чи технічними культурами (соняшник, ріпак). Такий підхід розриває цикл передачі вірусу, зменшуючи кількість потенційних джерел патогену в межах поля (Miller, 1997). Важливою складовою профілактики є контроль бур'янів, таких як пирій повзучий (*Elytrigia repens*) та тонконіг однорічний (*Poa annua*), які є відомими резервуарами BYDV, тому їхнє знищення за допомогою гербіцидів або механічного обробітку є важливим етапом захисту (Irwin, 1990). Для потівірусів, зокрема MDMV, головним носієм є сорго алепське (гумаї), у кореневищах якого вірус перезимовує. Використання сівозміни з незерновими культурами, наприклад соєю (*Glycine max*), дозволяє застосовувати грамініциди протягом усього сезону для повного знищення гумаю без наслідків для наступних посівів. Окрім цього, важливу роль відіграє оптимізація строків сівби: ранній посів дозволяє кукурудзі пройти вразливі фази розвитку до масового льоту попелиць у травні-червні.

Хімічний контроль попелиць за допомогою системних інсектицидів, таких як імідаклоприд, тіаметоксам або лямбда-цигалотрин, дозволяє ефективно зменшувати чисельність векторів і ризик передачі інфекції (Gray, 2003). Проте використання інсектицидів не завжди має значний вплив на поширення MDMV, оскільки неперсистентний характер передачі дозволяє вектору інфікувати рослину до моменту своєї загибелі. Крім того, надмірне застосування хімікатів провокує розвиток резистентності у шкідників (Kerns, 2018) та шкодить корисній ентомофауні, тому дедалі більшої популярності набувають інтегровані системи захисту (IPM). У Європі та США активно застосовується біологічний контроль, зокрема випуск паразитоїдів *Aphidius colemani* та *Aphidius ervi*, які паразитують на попелицях *Rhopalosiphum padi* і

*Sitobion avenae* (Nault, 1997), а також використання хижих сонечок (*Coccinellidae*), що здатні знищувати до 50 особин шкідника на день (Power, 1995). Перспективним напрямом є також використання ентомопатогенних грибів, таких як *Beauveria bassiana*, які інфікують попелиць без шкоди для навколишнього середовища (Kerns, 2018).

Інноваційним підходом у боротьбі з вірусним стресом є попередня обробка рослин S-метилметіоніном (SMM), який стимулює анаболізм захисних сполук, таких як поліаміни та етилен. SMM активує фенілпропаноїдний шлях, що сприяє виробленню фенолів та антоціанів з високими антиоксидантними властивостями. Дослідження Людмерського (Ludmerszki, 2014, Ludmerszki, 2017) показали, що SMM посилює експресію захисного білка GF14-6, який сприяє руйнуванню білка оболонки вірусу та постраскрипційному мовчанню РНК. Також обробка SMM запобігає втраті хлорофілу під час стресу, що підтверджується вимірюваннями флуоресценції та стабільністю значень Fv/Fm. Використання комбінованої молекули S-метилметіонін саліцилату (MMS) дозволяє знизити активність антиоксидантних ферментів, таких як аскорбатпероксидаза (APX), що свідчить про підвищення рівня резистентності рослини.

Найбільш стійким методом захисту залишається селекція резистентних гібридів. Встановлено, що стійкість до MDMV контролюється домінантними QTL на 3 та 10 хромосомах, а також мінорними генами-модифікаторами, які впливають на рівень зараження в поколіннях F1 та BC1. Ідентифіковано повністю стійкі інбредні лінії (D21, D32, FAP1360A), а найбільш відомим джерелом резистентності є лінія Pa405. У стійких рослин існує бар'єр для системного поширення вірусу по судинній системі листя (Law, 1989). Гібриди з генами стійкості не завжди проявляють безсимптомну реакцію; симптоматичні відповіді можуть залежати від умов довкілля або концентрації інокулята. Поряд із класичною селекцією розвивається генна інженерія, зокрема технологія РНК-інтерференції (RNAi). Введення в геном кукурудзи антисмислових послідовностей або самокомплементарної шпилькової РНК

(hpRNA), гомологічної генам протеази (P1) або білка оболонки (CP), забезпечує постраскрипційне «мовчання» вірусних генів. Довжина інвертованих повторів у таких конструкціях має критичне значення для стабільності захисного ефекту. Таким чином, інтеграція агротехнічних методів, біохімічної стимуляції та використання сучасних генетичних розробок, адаптованих до регіональних особливостей України, є єдиним надійним способом забезпечення стабільної врожайності кукурудзи.

### 1.3. Дослідження вірусів кукурудзи в Україні

Віруси групи жовтої карликовості, зокрема вірус жовтої карликовості ячменю (*Barley yellow dwarf virus*, BYDV), та представники роду потівірусів становлять серйозну загрозу для злакових культур в Україні, включаючи кукурудзу (*Zea mays* L.). Як один із провідних світових виробників цієї культури, що продукує близько 34 млн тонн зерна щорічно (FAOSTAT, 2023), Україна гостро потребує глибокого вивчення вірусних патогенів для зменшення втрат урожаю та забезпечення продовольчої безпеки (Vlasova, 2023). Історія вірусологічних досліджень кукурудзи в Україні бере свій початок ще з 1970-х років. Першим офіційно зареєстрованим та ідентифікованим патогеном на цій культурі став вірус карликової мозаїки кукурудзи (MDMV), який був детально описаний Л. А. Науменко у 1973 році (Науменко, 1973). Протягом наступних десятиліть основна увага вітчизняних дослідників-фітопатологів була зосереджена переважно на вірусах озимої пшениці та ячменю, тоді як віруси, що здатні інфікувати кукурудзу залишалися відносно маловивченими. Відновлення активних наукових досліджень вірусів, що здатні інфікувати кукурудзу відбулося протягом останніх десятиліть, і на сьогодні українські науковці системно та цілеспрямовано досліджують віруси кукурудзи, а також вивчають епідеміологію інших вірусів злакових культур.

Останніми роками вперше в Україні було ідентифіковано низку вкрай небезпечних вірусних патогенів кукурудзи: вірус мозаїки цукрової тростини

(Snihur, 2021), вірус мозаїки пшениці Високих рівнин (Pozhylov, 2022) та вірус жовтої карликовості ячменю PAV, який раніше виявляли в нашій країні виключно на зернових колосових культурах (Snihur, 2026). Крім того, в Україні було ідентифіковано вірус жовтої карликовості ячменю GPV в рослинах пшениці — новий збудник для Європи (Snihur, 2026), що викликає обґрунтовані питання щодо ризиків поширення даного патогену на інших злакових рослинах, зокрема й кукурудзі. Паралельно з епідеміологічним моніторингом, науковцями закладені міцні основи для дослідження ролі насінневої передачі у поширенні актуальних для України вірусів зернових культур (Snihur, 2025; Kurychenko, 2026), а також вивчення молекулярно-біологічних властивостей окремих збудників, здатних до такого способу передачі (Shevchenko, 2026).

Протягом вегетаційних періодів 2021–2023 років українськими науковцями було проведено фітовірусологічні обстеження у трьох важливих регіонах України: Вінницькій, Київській та Харківській областях (Vlasova, 2024). Зібрані зразки кукурудзи з ознаками карликовості, пожовтіння, почервоніння та мозаїки тестували за допомогою методу імуноферментного аналізу (ІФА) на наявність 11 поширених вірусів, серед яких SCMV, вірус хлоротичної плямистості кукурудзи (MCMV), вірус смугастої мозаїки пшениці (WSMV), вірус штрихуватої мозаїки ячменю (BSMV) та BYDV-PAV (Vlasova, 2024). Результати скринінгу підтвердили, що однією з найголовніших загроз для кукурудзи залишається SCMV. В агроценозах Київської області цей потівірус був виявлений у 28–35% рослин із симптомами ураження (Vlasova, 2023; Vlasova, 2024). Загальна частка інфікованих SCMV зразків становила від 12,5% до 19,7% залежно від року дослідження (Vlasova, 2023; Vlasova, 2024). Рослини, інфіковані цим патогеном, демонстрували яскраво виражені симптоми у вигляді штрихуватої або смугастої мозаїки, а також значну затримку росту та карликовість. Присутність вірусу була додатково підтверджена методами електронної мікроскопії. У соку

симптоматичних рослин було виявлено типові гнучкі ниткоподібні віріони довжиною близько 750 нм та діаметром 12–13 нм (Vlasova, 2024).

Вірус жовтої карликовості ячменю штаму PAV (BYDV-PAV) був ідентифікований у Вінницькій (4,3–6% інфікованих зразків) та Київській (8–11%) областях (Vlasova, 2023; Vlasova, 2024). Характерними симптомами ураження кукурудзи цим вірусом є пожовтіння або почервоніння листкових пластинок, на деяких гібридах — темно-червоне чи пурпурове (антоціанове) забарвлення листків, затримка росту та карликовість, що особливо проявляється за умов раннього інфікування (Vlasova, 2024).

Дослідження показують, що поширення BYDV на кукурудзі в Україні суттєво залежить від кліматичних умов і агротехнічних факторів. Вірус передається переважно попелицями, зокрема *Rhopalosiphum padi* та *Sitobion avenae*, які масово поширені в усіх зерносіючих регіонах країни. У південних регіонах теплий клімат сприяє інтенсивному розмноженню векторів, що посилює передачу вірусу в період активної вегетації кукурудзи (травень–червень). У цих зонах кукурудза часто уражається через просторове сусідство з посівами пшениці чи ячменю, де накопичується інфекція. У центральних і північних регіонах України активність попелиць зазвичай нижча через прохолодніший клімат, але в роки з теплою осінню чи весною фіксуються локальні спалахи інфекції. Кліматичні зміни безпосередньо впливають на епідеміологію вірусів: подовження теплої осені в Україні сприяє успішній перезимівлі попелиць на озимих культурах і дикорослих злаках, що перетворює їх на потужне джерело інфекції для кукурудзи наступного сезону. У роки з теплою та сухою погодою спостерігається підвищена активність векторів, що значно прискорює поширення патогенів.

Діагностика BYDV та потівірусів на кукурудзі в Україні еволюціонувала від візуального огляду до застосування передових лабораторних методів. ІФА широко застосовується для масового моніторингу посівів, тоді як полімеразна ланцюгова реакція (ПЛР) використовується для точної ідентифікації штамів.

Заходи боротьби з вірусними хворобами кукурудзи включають просторову ізоляцію посівів від інших злаків (на відстані щонайменше 500 м), своєчасне знищення бур'янів-резерваторів та обробку посівів інсектицидами для контролю чисельності попелиць. Використання стійких гібридів кукурудзи розглядається як найбільш перспективний напрям, хоча повністю резистентних до всього комплексу вірусів сортів наразі немає. Ситуація ускладнюється тим, що в Харківській області під час обстежень було знайдено рослини кукурудзи з яскраво вираженими симптомами інфекції, проте жоден із 11 протестованих вірусів у них не було ідентифіковано (Vlasova, 2024). Це підкреслює потребу в подальшому розширенні переліку досліджуваних вірусів на *Zea mays* в Україні та впровадженні комплексних підходів до молекулярного моніторингу й захисту агроценозів.

## РОЗДІЛ 2

### МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕНЬ У ВІРУСОЛОГІЇ

#### 2.1. Візуальна діагностика вірусних хвороб кукурудзи

Візуальна діагностика є одним із базових та первинних методів виявлення вірусних хвороб рослин. Цей метод ґрунтується на спостереженні за зовнішніми симптомами, що проявляються на вегетативних та генеративних органах, і не потребує спеціального обладнання, що робить його незамінним та доступним для польових умов. Основна перевага візуальної діагностики полягає у можливості швидко оцінити фітосанітарний стан посівів і виявити осередки інфекції без значних початкових затрат часу чи ресурсів. Ефективність методу напряму залежить від систематичного моніторингу посівів, особливо у критичні фази сходів і цвітіння, коли кукурудза найбільш вразлива. Візуальна діагностика часто доповнюється оцінкою просторового розподілу симптомів: наприклад, вірусні інфекції, що передаються попелицями, зазвичай утворюють яскраво виражені осередки ураження вздовж маршрутів міграції комах-векторів.

Хвороби, викликані представниками роду *Potyvirus*, можуть проявлятися у різних формах. Прояв симптомів залежить від багатьох факторів: виду та штаму вірусу, генетичних особливостей гібрида, стадії онтогенезу рослини на момент інфікування та умов навколишнього середовища. Зазвичай перші ознаки захворювання стають помітними вже протягом декількох днів після успішної інокуляції.

Загалом, рослини кукурудзи, інфіковані вірусом карликової мозаїки (MDMV), демонструють характерні мозаїчні візерунки, які першочергово з'являються на нижніх листках і виглядають нерівномірними та розмитими. На ранніх стадіях розвитку хвороба проявляється у зниженні інтенсивності росту, пожовтінні та закручуванні листків, появі блідих хлоротичних плям та

коротких штрихів шириною від 0,5 до 1,5 мм. На новоутворених листках можуть формуватися специфічні цятки або кільця. У разі пізніх інфекцій симптоми хвороби локалізуються переважно на верхніх листках дорослих рослин (рис. 2.1). У толерантних або частково стійких гібридів патологічний процес обмежується розвитком коротких хлоротичних плям або смуг лише на одному-двох листках.



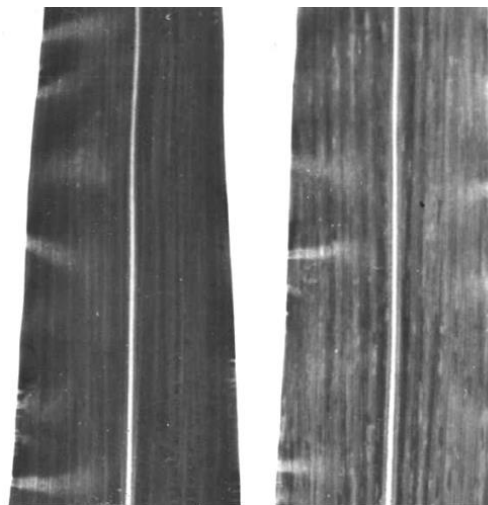
**Рис 2.1.** Симптоми мозаїки на верхніх листках кукурудзи (Malisa Totic) [28]

На пізніших стадіях онтогенезу спостерігається суттєве зниження врожайності. На листках, стеблах та обгортках качанів формуються жовто-зелені плями або смуги різних форм та розмірів, які з часом збільшуються та зливаються у суцільні хлоротичні зони (Mikel, 1981). Може спостерігатись деформація листкових пластинок; зелені фотосинтезуючі зони стають зімкненими, що критично порушує процеси дихання та живлення. Інфіковані рослини відстають у рості, часто залишаються безплідними та стають вразливими до корневих гнилей і вторинних грибкових інфекцій. Затримка росту, зменшення загальної біомаси, маси та діаметра качана (рис. 2.2), а також погіршення виповненості зерна є типовими системними проявами MDMV.



**Рис. 2.2.** Качани рослин кукурудзи, інфікованих MDMV, порівняно зі здоровим качаном (праворуч) (Malisa Tosis) [28]

Специфічний штам MDMV-A зазвичай викликає мозаїку у вигляді смуг, що проходять паралельно між жилками листя (рис. 2.3). Хлоротичні смуги (або форма «А») виникають, коли хлоротичні області зливаються у безперервні лінії вздовж жилок. Мозаїка може розпочинатися з жовтуватих смуг по краю листка. Цікавою особливістю є явище температурного маскування: симптоми можуть зникати під час спекотної погоди, замінюючись загальним хлорозом. Старі рослини часто мають лише хлоротичні ознаки на верхніх ярусах та, іноді, червоні штрихи на зрілих листках.



**Рис. 2.3.** Симптоми мозаїки на листі *Zea mays*, інфікованому штамом А

вірусу карликової мозаїки кукурудзи (праворуч), порівняно зі здоровим листком (ліворуч) [46]

Симптоматика вірусу мозаїки цукрової тростини (SCMV) багато в чому подібна до проявів MDMV. Симптоматичні листки вкриті численними жовтими та світло-зеленими крапками, смугами або плямами, що чергуються з нормальними паралельними жилками (ці ознаки стають особливо контрастними на яскравому сонячному світлі). Тяжко інфіковані листки можуть ставати повністю жовтими або білими, залишаючи лише поодинокі «зелені острівці» або невелику кількість червоного точкового некрозу. Кінчики нових листків часто аномально закручуються.

Симптоматика ураження вірусами групи жовтої карликовості (BYDV/CYDV) На відміну від потівірусів, лютеовіруси індукують інший спектр патологічних змін. Характерні симптоми вірусу жовтої карликовості ячменю (BYDV) на кукурудзі включають дифузне пожовтіння листків, системний хлороз, затримку росту та зменшення розміру качанів. На деяких сприйнятливих гібридах спостерігається інтенсивне накопичення антоціанів, що призводить до формування темно-червоного або пурпурового забарвлення листкових пластинок (рис. 2.4). Пожовтіння зазвичай починається з країв листя або поширюється вздовж жилок і на пізніших етапах патогенезу може супроводжуватися некротизацією тканин.

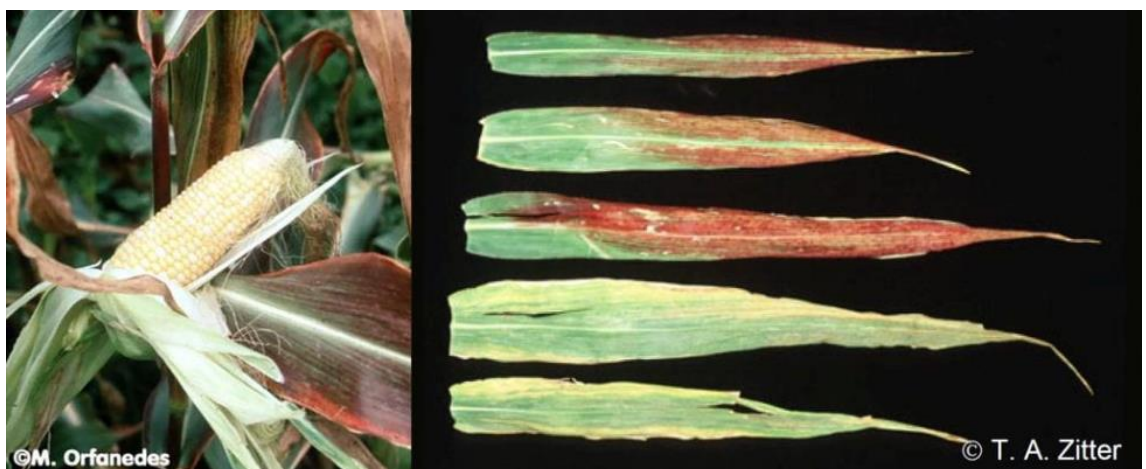


Рис. 2.4. Симптоми змішаної інфекції BYDV/CYDV на рослині *Zea*

*maus*: А — почервоніння листків та погане виповнення качана; В — почервоніння та пожовтіння листових пластинок [15]

У молодих рослин ці ознаки є значно виразнішими, ніж у зрілих, де інфекція може перебігати у стертій формі. Важливо враховувати екологічні тригери: у теплі та вологі періоди, що сприяють піковій активності попелиць-переносників, симптоми стають чіткими та масовими, тоді як за умов посухи чи низьких температур вони можуть бути прихованими (Снігур, 2014). Досвідчений фітопатолог здатен диференціювати вірусні симптоми антоціанозу від проявів абіотичних стресів (наприклад, дефіциту фосфору) або грибкових уражень, проте остаточний діагноз вимагає лабораторного підтвердження.

Логічним лабораторним доповненням до візуальної діагностики є метод рослин-індикаторів. Як диференційні тест-рослини найчастіше використовують проростки специфічних ліній кукурудзи, вівса та сорго алепського (гумаю). За допомогою розсади сорго алепського можна ефективно розрізнити MDMV та SCMV: MDMV легко системно інфікує цю рослину, тоді як SCMV та SrMV уражають її вкрай рідко. Овес, у свою чергу, є сприйнятливим виключно до SrMV.

## 2.2. Серологічні методи діагностики

Серологічні методи, зокрема різноманітні модифікації імуноферментного аналізу (ELISA), відіграють ключову роль у сучасній вірусології завдяки своїй чутливості, швидкості та економічності. Метод базується на специфічній взаємодії вірусних антигенів із антитілами, дозволяючи виявляти патоген навіть за дуже слабкої візуальної симптоматики. Серед поширених варіантів застосовують ІФА з прямим нанесенням антигену (DAC-ELISA), точковий імуноаналіз (Dot-ELISA/DIBA) та сендвіч-метод із подвійними антитілами (DAS-ELISA).

Більшість дослідників віддають перевагу методу DAS-ELISA. Його принцип полягає в тому, що на тверду фазу мікропланшета наносять специфічні «захоплюючі» антитіла, які іммобілізують вірус із підготовленого рослинного екстракту. Потім додають другі антитіла, кон'юговані з ферментом (найчастіше лужною фосфатазою), що після додавання субстрату викликає кольорову ферментативну реакцію за наявності вірусу. Для уникнення перехресних реакцій із білками здорових рослин, властивих поліклональним антисироваткам, у сучасній діагностиці дедалі частіше використовують високоспецифічні моноклональні антитіла.

Інтерпретація результатів DAS-ELISA здійснюється за допомогою мікропланшетного рідера шляхом вимірювання оптичної густини при довжині хвилі 405 нм. Зразок вважається позитивним, якщо його показник поглинання (A405) щонайменше вдвічі перевищує середнє значення здорових контролів. Практичне застосування ІФА демонструє його високу надійність: тестування інфікованих MDMV рослин кукурудзи показало 100% точність контролів, а загальна чутливість методу у 100 разів перевищує класичні біотести на інфекційність. В Україні ELISA є базовим інструментом для масового моніторингу посівів завдяки своїй точності та простоті. Дослідження вітчизняних науковців підтвердили ефективність ІФА для виявлення BYDV-PAV у кукурудзі навіть за слабких візуальних симптомів.

Незважаючи на значні переваги та можливість кількісної оцінки вірусного навантаження, метод має певні обмеження: він потребує спеціалізованого лабораторного обладнання та підготовлених спеціалістів. Крім того, у регіонах із високою генетичною мінливістю вірусів значним викликом залишається потреба у високоякісних антитілах, специфічних саме до локальних штамів патогену.

### 2.3. Молекулярні методи діагностики

Сучасна діагностика вірусів базується насамперед на технологіях ампліфікації нуклеїнових кислот. Для виявлення РНК-вмісних вірусів кукурудзи, таких як потівіруси (MDMV, SCMV) та віруси групи жовтої карликовості (BYDV), безальтернативним стандартом є полімеразна ланцюгова реакція зі зворотною транскрипцією (ЗТ-ПЛР). Цей метод є найсучаснішим і найточнішим способом діагностики, який активно та успішно застосовується в Україні.

Процедура ЗТ-ПЛР складається з кількох взаємопов'язаних етапів. Спочатку проводять гомогенізацію зразка рослинної тканини та хімічну екстракцію загальної РНК. Далі виділена РНК слугує матрицею для синтезу комплементарної ДНК (кДНК) за допомогою ферменту зворотної транскриптази. Наступним кроком є ампліфікація специфічних ділянок вірусного геному з використанням цільових праймерів у термоциклері. Отримані ПЛР-продукти візуалізують за допомогою гель-електрофорезу. Подальше секвенування цих ампліконів та порівняння їх з міжнародними базами (GenBank) шляхом множинного вирівнювання дозволяє точно ідентифікувати штам і простежити його еволюційне походження.

Молекулярні методи мають беззаперечні переваги над серологічними (ELISA). Насамперед це надвисока чутливість (здатність виявляти одиничні копії вірусного геному), специфічність за роботи з мікрооб'ємами матеріалу та незалежність від наявності антитіл. Дизайн праймерів можна швидко адаптувати до нових генетичних варіантів вірусів.

Разом із тим, ПЛР має певні обмеження: вона вимагає дороговартісного обладнання, надзвичайної чистоти реактивів для уникнення контамінації та високої кваліфікації персоналу. Крім того, аналіз займає більше часу порівняно з рутинними ІФА-тестами. У перспективі молекулярні методи можуть бути доповнені техніками секвенування нового покоління (NGS), які дозволяють не лише діагностувати, а й детально характеризувати геном вірусу. Це допоможе краще зрозуміти його еволюцію та адаптацію до

кукурудзи в українських умовах, сприяючи розробці ефективних заходів контролю.

## РОЗДІЛ 3

### МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

#### 3.1. Об'єкти досліджень

Нещодавно в Україні був виявлений новий патоген Sugarcane mosaic virus, який викликає хворобу карликової мозаїки кукурудзи (Snihur, 2021), тому було вирішено зосередити свою увагу на збудниках даної хвороби – за літературними даними це група потівірусів, що складається з чотирьох вірусів:

- maize dwarf mosaic virus (MDMV);
- sugarcane mosaic virus (SCMV);
- sorghum mosaic virus (SrMV);
- Johnsongrass mosaic virus (JGMV).

Крім того, вважалось за необхідне провести дослідження на barley yellow dwarf virus-PAV( BYDV-PAV), поширений в Україні на інших культурах.

Дослідження проводилися на посівах кукурудзи у Вінницькій та Київській областях, які є ключовими регіонами вирощування культури в Україні. Вибір регіонів зумовлений їхньою агрономічною значущістю та активністю попелиць, що сприяють поширенню вірусу.

Зразки рослин із симптомами ураження та безсимптомні рослини збиралися у період вегетації (червень–серпень 2025 року). Загалом зібрано 28 зразки для серологічного та молекулярного аналізу, із них 10 зразків – з Вінницької області, 18 – з Київської. Загальна статистика зразків включала ці регіони.

## 3.2. Матеріали та методи досліджень

### 3.2.1. Візуальна діагностика вірусних хвороб

Візуальна діагностика використовувалася як первинний метод для польового скринінгу та попереднього виявлення вірусних інфекцій на рослинах кукурудзи. Огляд посівів проводився впродовж критичних фаз онтогенезу культури: починаючи від стадії 4–8 листків і до періоду дозрівання зерна. Цей метод було обрано завдяки його доступності, простоті та можливості оперативно оцінювати фітосанітарний стан великих площ і виявляти осередки уражених рослин безпосередньо у польових умовах.

Під час маршрутних обстежень увагу фіксували на специфічних симптомах, характерних для двох основних груп патогенів. Зокрема, віруси групи жовтої карликовості (BYDV) ідентифікували за наявністю дифузного пожовтіння, пурпурового (антоціанового) забарвлення листкових пластинок та загальної затримки росту рослин. Водночас потівіруси визначали за такими ознаками, як зменшення інтенсивності росту, карликовість, закручування листків, а також типова мозаїка у вигляді жовтуватих смуг і штрихів, що проходять між паралельними жилками листя.

Незважаючи на економію часу та зручність для первинного скринінгу, метод візуальної діагностики має суттєві обмеження, оскільки виключно за зовнішніми симптомами неможливо достовірно визначити конкретний вид вірусу або ідентифікувати приховані змішані інфекції. Крім того, цей підхід вимагає від дослідника високого рівня професійних знань і практичних навичок, адже вираженість та інтенсивність прояву симптомів сильно варіюють залежно від умов навколишнього середовища, явища температурного маскування, абіотичних стресів та сортових особливостей гібрида (Jones, 2012). З огляду на ці обмеження, візуальна діагностика слугувала виключно базовим етапом дослідження для цілеспрямованого відбору симптоматичних зразків рослинної тканини з метою їх подальшого тестування точнішими лабораторними методами.

### 3.2.2. Імуноферментний аналіз

Метод імуноферментного аналізу у форматі подвійного сендвіча антитіл (DAS-ELISA) є одним із базових та найбільш поширених підходів для серологічної ідентифікації фітопатогенів. Принцип його дії ґрунтується на послідовному виконанні чотирьох ключових етапів. Спочатку тверду фазу (лунки мікропланшета) сенсibiliзують специфічними антитілами (IgG), які здатні розпізнавати цільовий вірусний антиген. Далі, під час внесення досліджуваного зразка, наявний у ньому антиген специфічно зв'язується з іммобілізованими антитілами, формуючи первинний імунний комплекс. На третьому етапі до цього комплексу додають комплементарні антитіла, мічені ферментом (лужною фосфатазою), що завершує утворення специфічного «сендвіча». Заключним кроком є внесення субстрату (4-нітрофенілфосфату), який під дією ферменту гідролізується до 4-нітрофенолу, забарвлюючи розчин у жовтий колір. Інтенсивність забарвлення прямо корелює з кількістю вірусу та фіксується візуально або спектрофотометрично за довжини хвилі 405 нм.

Практичне виконання аналізу здійснювалося з використанням комерційної тест-системи Complete Kit Standard DAS-ELISA виробництва компанії LOEWE. Робочий процес розпочинався зі складання схеми заповнення мікропланшета, розрахунку об'ємів необхідних реагентів та приготування буферних розчинів. На етапі сорбції антитіл оригінальний препарат IgG розводили у карбонатно-бікарбонатному буфері (КБК) у співвідношенні 1:200 та ретельно перемішували. Отриманий робочий розчин вносили по 0,2 мл у відповідні лунки планшета. Після цього планшет герметично заклеювали спеціальною плівкою та залишали для інкубації на ніч у холодильнику. Завершували цей етап видаленням незв'язаних антитіл шляхом чотириразового промивання лунок відмивним буфером за допомогою шейкера.

Наступна стадія передбачала екстракцію та внесення рослинних зразків. Відібраний симптоматичний матеріал масою по 500 мг гомогенізували в

попередньо промаркованих ступках із додаванням екстракційного буфера у пропорції 1:20 (об/об). Для уникнення перехресної контамінації робочі інструменти (зокрема ножиці) обов'язково дезінфікували етиловим спиртом після обробки кожної проби. Отримані гомогенати переносили в мікропробірки, попарно врівноважували та центрифугували протягом 15 хв при швидкості 3000 об/хв. Паралельно готували позитивний та негативний контрольі LOEWE®, розчиняючи їх у 2 мл буфера для зразків. Відцентрифугований супернатант (екстракт) та контрольні розчини вносили по 0,2 мл у призначені лунки. Планшет знову герметизували стрічкою та інкубували протягом ночі в холодильнику, після чого проводили стандартну процедуру чотириразового промивання за допомогою автоматичного шейкера.

Після відмивання антигенів, що не зв'язалися, переходили до етапу додавання кон'югату. Специфічні антитіла, мічені лужною фосфатазою, розводили у відповідному буфері у співвідношенні 1:200. Приготований робочий розчин обережно перемішували та вносили по 0,2 мл у кожну робочу лунку мікропланшета. Як і на попередніх етапах, планшет заклеювали і залишали на ніч у холодильнику для формування повноцінного імунного комплексу. Згодом незв'язаний кон'югат видаляли відмивним буфером під час чотирьох циклів промивання.

Завершальним етапом дослідження було проведення ферментативної реакції. Безпосередньо перед використанням готували розчин субстрату (з розрахунку 1 мг/мл) в 1х субстратному буфері. Розчин, приготовлений безпосередньо перед використанням, вносили по 0,2 мл у лунки та залишали для інкубації в темному місці за температури близько 25 °С. Через 1 год після внесення субстрату здійснювали облік результатів: наявність жовтого забарвлення оцінювали візуально, а показники оптичної щільності розчинів вимірювали фотометрично при довжині хвилі 405 нм.

### 3.2.3. Трансмійна електронна мїкроскопїя

Дослїдження морфологїї вїрусних часточок проводили за допомогою методу трансмісійної електронної мїкроскопїї з застосуванням технїки негативного контрастування. Процедура пїдготовки зразкїв розпочиналася з виготовлення формварових опорних плївок. Для цього ретельно очищенї предметнї скельця занурювали у розчин формвару на 20 секунд з подальшим висушуванням за кїмнатної температури. З метою успїшного зняття утвореної полїмерної плївки її краї акуратно надрїзали лезом, пїсля чого скельце плавно занурювали в посудину з водою пїд кутом близько 45 градусїв. Завдяки поверхневому натягу плївка поступово вїдшаровувалася вїд скла та залишалася плавати на поверхнї рїдини. На отриману плаваючу пїдкладку за допомогою пїнцета обережно розкладали стандартнї електронно-мїкроскопїчнї сїточкї. Сформовану конструкцїю зїмали з водної поверхнї, обережно прикладаючи зверху смужку щїльного фїльтрувального паперу, та помїщали у чашкї Петрї для подальшого зберїгання.

Безпосереднє приготування препаратїв полягало у нанесеннї краплї очищеної вїрусної суспензїї на заздалегїдь пїдготовленї сїткї з формваровою пїдкладкою. Пїсля однохвилинної їнкубацїї, яка є необхідною для адсорбцїї вїрусних часточок на полїмернїй плївцї, надлишок рїдини обережно видаляли, доторкаючись до краю сїтки шматочком фїльтрувального паперу, та повнїстю висушували зразкї на повїтрї. На заключному етапї пїдготовки застосовували барвник для негативного контрастування: на сїтку наносили краплю 2% водного розчину уранїацетату. Тривалїсть експозицїї контрастуючої речовини також становила 1 хвилину. Пїсля цього надлишок уранїацетату остаточно адсорбували фїльтрувальним папером, а готовї сїточкї ретельно просушували, пїсля чого вони були повнїстю придатнї для вїзуалїзацїї в колонї електронного мїкроскопа.

### 3.2.4. Виділення РНК

Екстракцію загальної РНК із досліджуваних зразків рослинної тканини проводили з використанням комерційного набору Gene JET Plant RNA Purification Mini Kit виробництва компанії Thermo Scientific [12]. Принцип дії цієї системи ґрунтується на лізисі клітин із подальшим вибіркоvim зв'язуванням молекул РНК із кремнієвою мембраною (силіка-гелем) мікроколонки в середовищі хаотропних солей. Процедура виділення охоплювала кілька послідовних стадій.

Робочий процес розпочинали з підготовки матеріалу: наважки листкових тканин кукурудзи масою близько 100 мг ретельно розтирали в рідкому азоті до стану гомогенного дрібного порошку. Для цього використовували ступки, які попередньо знезаражували етиловим спиртом для інактивації РНКаз. Заморожений гомогенат негайно поміщали в мікропробірку, додавали 500 мкл лізуючого буфера (Lysis buffer) з комплекту та залишали інкубуватися за кімнатної температури протягом 5 хв. Після цього для осадження білків і вторинних метаболітів до суміші вносили 130 мкл преципітаційного розчину (Precipitation solution). Вміст пробірки інтенсивно перемішували на вортексі та центрифугували впродовж 5 хв за швидкості 12 000 об/хв. Надосадову рідину обережно переносили в нову чисту пробірку, суворо слідкуючи за тим, щоб не захопити утворений осад.

Для забезпечення оптимальних умов сорбції нуклеїнових кислот на колонці, до відібраного супернатанту додавали один об'єм (приблизно 500–600 мкл) абсолютного етанолу (96–100%) та акуратно перемішували методом інверсії. Отриману суміш кількісно переносили на фільтрувальну міні-колонку, розміщену в спеціальній збірній пробірці (Collection tube), після чого центрифугували 1 хв при 12 000 об/хв. Наступним етапом було очищення зв'язаної РНК від домішок, що здійснювалося шляхом серії промивань. Спочатку на колонку наносили 700 мкл першого промивного буфера (Wash Buffer 1), центрифугували 1 хв за аналогічних умов і повністю відкидали фільтрат. Згодом процедуру повторювали двічі з використанням 500 мкл

другого промивного буфера (Wash Buffer 2), який містив етанол. Для гарантованого видалення залишків спирту, що можуть інгібувати подальші реакції, колонку піддавали додатковому центрифугуванню протягом 1–2 хв.

На фінальній стадії очищену міні-колонку встановлювали в нову стерильну мікропробірку для елюції цільового продукту. Для цього безпосередньо на центр кремнієвої мембрани наносили 30–50 мкл води, вільної від РНКаз (RNase-free water), яку попередньо нагрівали до температури 65 °С. Після двохвилинної інкубації за кімнатної температури проводили центрифугування (1 хв, 12 000 об/хв), в результаті якого отримували розчин очищеної загальної РНК. Отримані елюати негайно заморожували та зберігали за температури -80 °С до моменту проведення подальших молекулярно-біологічних аналізів.

### 3.2.5. Полімеразна ланцюгова реакція

Оскільки досліджувані фітовіруси мають РНК-вмісний геном, молекулярна діагностика базувалася на методі полімеразної ланцюгової реакції зі зворотною транскрипцією (ЗТ-ПЛР). На першому етапі здійснювали синтез комплементарної ДНК (кДНК) на матриці виділеної вірусної РНК, використовуючи комерційний набір RevertAid First Strand cDNA Synthesis Kit (Thermo Scientific) [42]. Надалі отримана кДНК слугувала матрицею для класичної ПЛР — високоспецифічного процесу ампліфікації цільових фрагментів геному за допомогою термостабільної ДНК-полімерази в умовах циклічної зміни температур.

Для проведення реакції ампліфікації використовували набір Thermo Scientific PCR Kit. Базовим компонентом реакційної суміші був готовий оптимізований розчин PCR Master Mix (2×), який містить у своєму складі необхідні концентрації термостабільної Taq-полімерази, дезоксинуклеотидтрифосфатів (dNTPs), іонів магнію (MgCl<sub>2</sub>) та специфічного

буфера. Під час приготування сумішей застосовували дві пари праймерів, що фланкують ділянки генів капсидних білків (ср) відповідних вірусів. Для детекції вірусу жовтої карликовості ячменю застосовували специфічні праймери ВУсрF (5'-ССАСТАGAGAGGGTGGTGAATG-3') та ВУсрR (5'-ССGGTGTGAGGAGTСТАСС-3') (Kundu, 2008). Виявлення вірусу мозаїки цукрової тростини (SCMV) здійснювали з використанням праймерів SCMVср-F (5'-GGATACGТАGАAGACTACAATG-3') та SCMVср-R (5'-ATTATAGGТАCTGCAAACAG-3') (Trzmiel, 2022).

Приготування реакційних сумішей проводили в суворих асептичних умовах для уникнення контамінації. Кінцевий об'єм кожної проби становив 25 мкл. Суміш складалася з таких компонентів: 12,5 мкл 2× PCR Master Mix; по 1 мкл прямого (Forward) та зворотного (Reverse) праймерів із робочою концентрацією 10 мкМ; 3 мкл розчину матричної кДНК та 7,5 мкл води, вільної від нуклеаз (nuclease-free water). Після внесення всіх реагентів мікропробірки герметично закривали кришками та піддавали короткочасному центрифугуванню (spin-down) для збирання крапель зі стінок на дно.

Ампліфікацію проводили в автоматичному термоциклері за стандартизованим температурним профілем. Програма розпочиналася з первинної денатурації ДНК за температури 95 °С протягом 3 хв. Далі слідували 30–35 робочих циклів ампліфікації, кожен з яких включав три стадії: денатурацію (95 °С протягом 30 с), відпал або аннелінг праймерів (55 °С протягом 30 с) та елонгацію ланцюга (72 °С протягом 45 с). Завершувалася реакція стадією фінальної елонгації при 72 °С впродовж 5 хвилин для повноцінної добудови всіх ампліконів. Після закінчення програми зразки автоматично охолоджувалися до 4 °С. Отримані ПЛР-продукти зберігали в морозильній камері за температури -20 °С до етапу їхньої візуалізації методом електрофорезу в агарозному гелі.

### 3.2.6. Філогенетичний аналіз

Філогенетичний аналіз є завершальним і критично важливим етапом молекулярної ідентифікації фітовірусів. Цей підхід дозволяє порівняти отримані нуклеотидні послідовності з депонованими в міжнародних базах даних ізолятами, встановити ступінь їхньої генетичної спорідненості та реконструювати еволюційні зв'язки.

У рамках даного дослідження філогенетичний аналіз проводили для двох нуклеотидних послідовностей, що кодують капсидні білки вірусів, виділених зі зразків інфікованої кукурудзи, зібраних на території Київської області. Перша послідовність належала ізоляту вірусу жовтої карликовості ячменю (BYDV-PAV) і мала довжину 598 пар нуклеотидів. Друга послідовність, що відповідала вірусу мозаїки цукрової тростини (ізолят SCMV UA Kyiv 24), мала довжину 1013 пар нуклеотидів.

На початковому етапі обробки даних використовували алгоритм BLAST (Basic Local Alignment Search Tool) на платформі NCBI для пошуку максимально гомологічних нуклеотидних послідовностей серед світових зразків. Завдяки цьому було сформовано репрезентативні вибірки референсних ізолятів BYDV-PAV та SCMV різного географічного походження для подальшого порівняння. Для наочної візуалізації рівня генетичної подібності між досліджуваними ізолятами та світовими штамами застосовували програмне забезпечення Sequence Demarcation Tool v1.3 (SDT v1.3) [35]. За допомогою цієї програми було побудовано матриці попарної ідентичності (heatmaps), значення в яких розраховувалися автоматично на базі попередньо вирівняних послідовностей із використанням стандартних налаштувань.

Безпосередню реконструкцію філогенетичних дерев здійснювали у програмному середовищі MEGA 7. Еволюційні відстані та топологію дендрограм моделювали із застосуванням методу максимальної правдоподібності (Maximum Likelihood). Для статистичної оцінки надійності отриманих кластерів і вузлів розгалуження проводили бутстреп-аналіз

(Bootstrap test) із генерацією 1000 псевдореплік. Побудовані філогенетичні дерева дозволили точно позиціонувати українські ізоляти серед світової різноманітності вірусів, підтвердивши їхній видовий статус та визначивши еволюційну спорідненість із закордонними штамми.

### **3.2.7. Статистична обробка результатів**

Для статистичної обробки даних розраховували середні значення і стандартні похибки за допомогою Microsoft Excel. Всі біологічні дослідження проводилися щонайменше три рази.

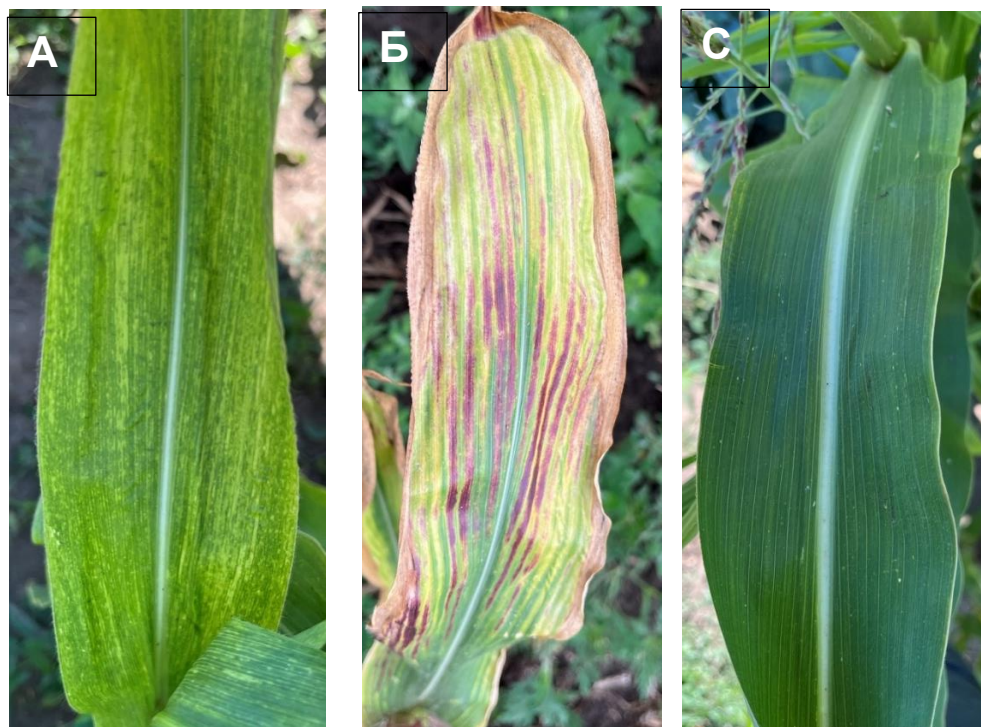
## РОЗДІЛ 4

### РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕНЬ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

#### 4.1. Скринінг агроценозів України для виявлення вірусів кукурудзи

Маршрутні обстеження посівів кукурудзи проводилися в період інтенсивної вегетації культури — з червня по серпень 2025 року. Для візуального моніторингу та відбору рослинного матеріалу було обрано агроценози (як промислові поля, так і приватні присадибні ділянки) на території двох областей: Вінницької та Київської. Під час огляду рослин основну увагу звертали на наявність характерних візуальних симптомів вірусної інфекції.

У результаті польових обстежень було виявлено та відібрано зразки зі специфічними вірусоподібними симптомами. Для обох досліджуваних регіонів найбільш типовими виявилися симптоми мозаїки, яка проявлялася у вигляді світло-зелених поздовжніх смуг уздовж жилок, а також вираженого антоціанового почервоніння листкових пластинок (рис. 4.1, рис. 4.2).



**Рис.4.1.** Симптоми мозаїки (А) і почервоніння (Б) на рослинах кукурудзи у Вінницькій області; рослина без симптомів (С)



**Рис. 4.2.** Симптоми мозаїки (А) і почервоніння (Б) на рослинах кукурудзи в Київській області; рослина без симптомів (С)

Такі патологічні зміни є класичними симптомами інфікування рослин, зокрема збудниками карликової мозаїки та вірусами групи жовтої карликовості.

Як видно з наведених фотографій (див. рис. 4.1), на обстежених рослинах в основному фіксувалися два різні типи патологічних змін порівняно зі здоровим контрольним листком. Зокрема, формування хлоротичної смугастої мозаїки на тлі зеленого листка є типовим симптомом інфікування потівірусами, що викликають хворобу карликової мозаїки кукурудзи (наприклад, MDMV або SCMV). Водночас, виражене антоціанове почервоніння листкової пластинки найчастіше є індикатором порушення провідної системи рослини, що є класичною ознакою ураження вірусами групи жовтої карликовості (зокрема, BYDV). Аналогічна картина з

мозаїчністю та пурпуровими некротизованими ділянками спостерігалася і на рослинах з Київщини (див.рис. 4.2).

Таким чином, візуальне обстеження посівів кукурудзи підтвердило ймовірну циркуляцію вірусних хвороб зі схожими симптомами в обох досліджуваних регіонах, що стало підґрунтям для подальшого лабораторного тестування зібраного матеріалу.

#### **4.2. Ідентифікація вірусів кукурудзи імуноферментним аналізом**

Серологічне тестування зразків рослинного матеріалу, відібраних за результатами візуального обстеження посівів кукурудзи у двох областях України (Вінницькій та Київській), проводили з метою виявлення комплексу вірусних патогенів. Зокрема, скринінг здійснювали на наявність збудників карликової мозаїки: вірусу карликової мозаїки кукурудзи (MDMV), вірусу мозаїки цукрової тростини (SCMV), вірусу мозаїки сорго (SrMV), вірусу мозаїки джонсонграсу (JGMV), а також вірусу жовтої карликовості ячменю (BYDV). Для точної ідентифікації збудників застосовували метод імуноферментного аналізу в модифікації DAS-ELISA (метод сендвіча). Усі дослідження виконувалися із застосуванням комерційних наборів тест-системи Complete Kit Standard DAS-ELISA виробництва LOEWE Biochemica та DSMZ (Німеччина) відповідно до стандартного протоколу.

За результатами проведених досліджень встановлено, що з п'яти протестованих вірусів у симптоматичних зразках кукурудзи було ідентифіковано два збудники: вірус мозаїки цукрової тростини (SCMV) та вірус жовтої карликовості ячменю штаму PAV (BYDV-PAV) (табл. 4.1). Важливо відзначити, що обидва патогени були виявлені на території обох обстежених регіонів — як у Вінницькій, так і в Київській областях.

Таблиця 4.1

**Результати ідентифікації вірусів в зразках кукурудзи відібраних в 2025 році**

Регіон/ № зразка	ОГ 405/630 нм*				
	MDMV	SCMV	SrMV	JGMV	BYDV-PAV
<b>Вінницька область</b>					
1	0,017±0,002	0,014±0,003	0,012±0,001	0,011±0,001	0,022±0,003
2	0,019±0,003	0,018±0,004	0,016±0,003	0,014±0,003	0,021±0,003
3	0,025±0,002	0,026±0,003	0,015±0,002	0,012±0,002	0,019±0,002
4	0,033±0,001	0,505±0,004	0,021±0,001	0,011±0,001	0,018±0,002
5	0,031±0,003	1,117±0,005	0,016±0,002	0,010±0,002	2,799±0,007
6	0,027±0,002	0,826±0,004	0,014±0,002	0,009±0,002	3,548±0,009
7	0,042±0,002	0,931±0,006	0,022±0,003	0,008±0,003	0,028±0,003
8	0,038±0,004	0,827±0,005	0,023±0,003	0,013±0,003	3,805±0,008
9	0,031±0,003	0,836±0,007	0,011±0,001	0,006±0,001	2,007±0,007
10	0,039±0,004	0,915±0,006	0,013±0,002	0,008±0,002	1,379±0,006
<b>Київська область</b>					
1	0,037±0,002	0,021±0,003	0,021±0,003	0,018±0,002	0,026±0,003
2	0,040±0,003	0,027±0,004	0,019±0,002	0,017±0,002	0,019±0,002
3	0,042±0,004	0,016±0,001	0,016±0,002	0,021±0,003	2,629±0,007
4	0,027±0,002	0,022±0,002	0,020±0,003	0,024±0,003	3,807±0,009
5	0,038±0,003	1,307±0,008	0,017±0,002	0,015±0,002	0,029±0,004
6	0,031±0,002	1,201±0,006	0,015±0,002	0,019±0,003	0,034±0,004
7	0,054±0,005	1,523±0,006	0,012±0,001	0,023±0,003	3,187±0,008
8	0,033±0,003	1,408±0,007	0,020±0,003	0,013±0,002	3,216±0,007
9	0,051±0,002	1,622±0,008	0,015±0,002	0,014±0,002	0,024±0,004
10	0,029±0,003	1,304±0,005	0,013±0,002	0,020±0,003	0,029±0,003
11	0,034±0,003	0,928±0,004	0,016±0,002	0,015±0,002	0,025±0,003
12	0,019±0,001	0,019±0,001	0,019±0,003	0,013±0,002	0,023±0,002
13	0,025±0,002	0,034±0,002	0,017±0,002	0,018±0,002	0,021±0,002
14	0,028±0,002	0,019±0,002	0,015±0,002	0,021±0,003	0,018±0,001
15	0,032±0,004	0,022±0,003	0,020±0,003	0,015±0,002	0,019±0,001
16	0,023±0,003	0,026±0,003	0,021±0,003	0,020±0,003	0,037±0,003
17	0,021±0,003	0,018±0,001	0,015±0,002	0,018±0,002	0,022±0,002
18	0,036±0,005	1,269±0,005	0,014±0,002	0,017±0,002	0,021±0,002
<b>КОНТРОЛІ</b>					
k +	1,231	1,519	1,176	3,109	3,834
k- сік	0,023	0,025	0,020	0,021	0,024
k-буфер	0,018	0,019	0,011	0,013	0,017

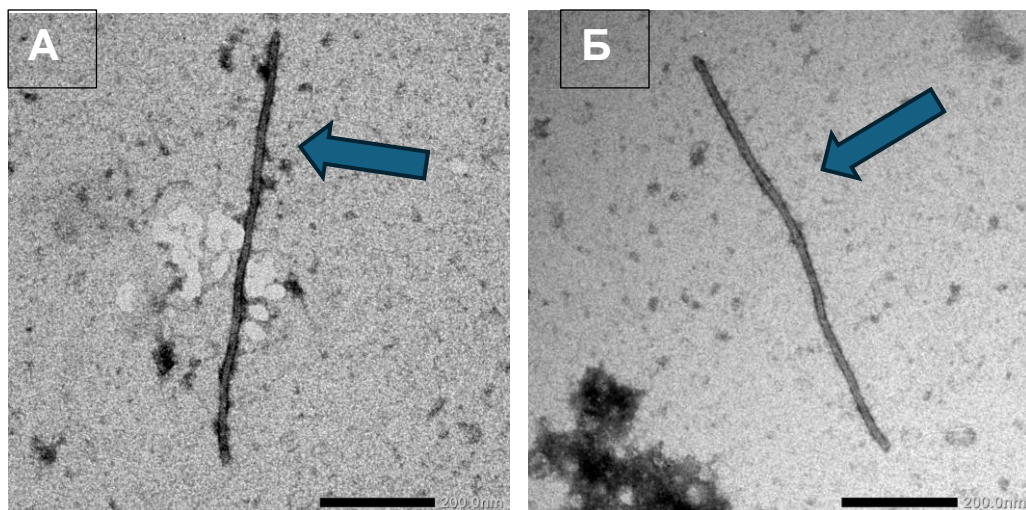
\* оптична густина, середнє значення

Загальна частка рослин, інфікованих SCMV, серед усіх протестованих симптоматичних зразків склала 54%, тоді як загальний рівень ураженості вірусом BYDV-PAV становив 32%.

Отже, результати імуноферментного аналізу підтверджують активну циркуляцію SCMV та BYDV-PAV в агроценозах кукурудзи досліджуваних регіонів. Аналіз регіонального розподілу показав, що частка рослин, позитивних на наявність SCMV, у Київській області сягала 44,4%, а у Вінницькій — 70%. Водночас рівень інфікування вірусом BYDV-PAV на Київщині склав 22,2%, тоді як на Вінниччині цей показник становив 50%. Слід зазначити, що SCMV та BYDV-PAV уражували рослини кукурудзи як в моноінфекції так і в сумісній інфекції.

### 4.3. Електронно-мікроскопічне дослідження

З метою додаткового підтвердження результатів, отриманих серологічним методом, зразки соку рослин, які продемонстрували позитивну реакцію в імуноферментному аналізі на вірус мозаїки цукрової тростини, піддавали подальшому дослідженню за допомогою трансмісійної електронної мікроскопії. Під час аналізу препаратів, виготовлених із симптоматичних рослин кукурудзи, зібраних на території Київської та Вінницької областей, було виявлено специфічні вірусні частки (рис. 4.3).



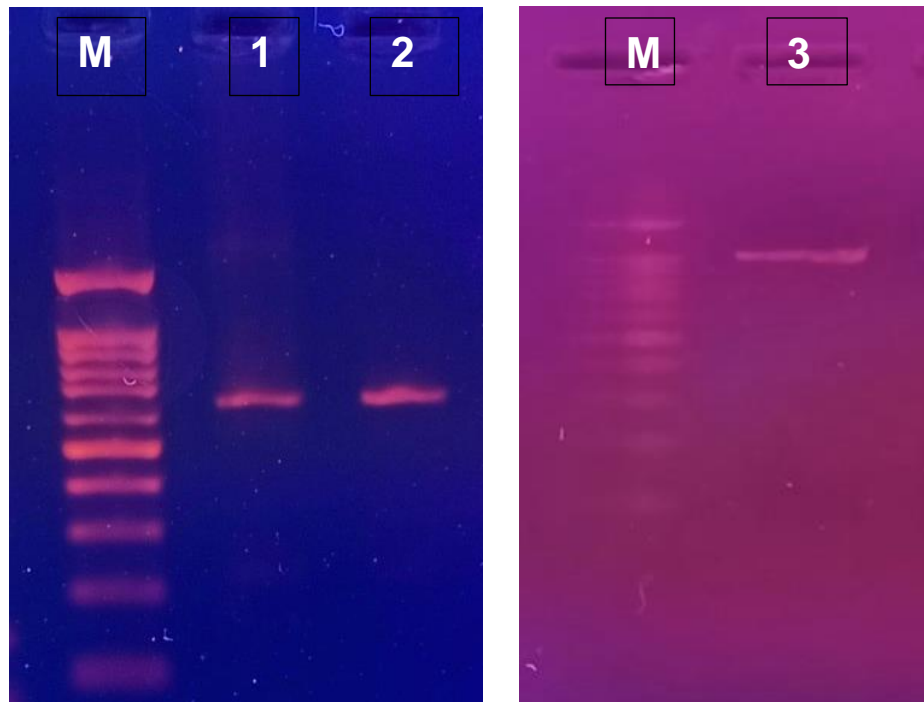
**Рис. 4.3** Вірусні частинки SCMV в соці хворих рослин кукурудзи, відібраних в Вінницькій (а) та Київській (б) областях (лінійка 200 нм)

Морфологічно виявлені вірусні частки являли собою гнучкі ниткоподібні утворення, довжиною близько 750 нм і 13 нм в діаметрі, що є класичною ознакою вірусів роду *Potyvirus*.

Отримані морфологічні характеристики повністю узгоджуються з відомими літературними даними щодо морфології віріонів SCMV. Таким чином, результати електронно-мікроскопічних досліджень цілком корелюють із даними імуноферментного аналізу, достовірно підтверджуючи факт інфікування обстежених рослин кукурудзи вірусом мозаїки цукрової тростини.

#### **4.4. Ідентифікація вірусів кукурудзи в Україні молекулярними методами**

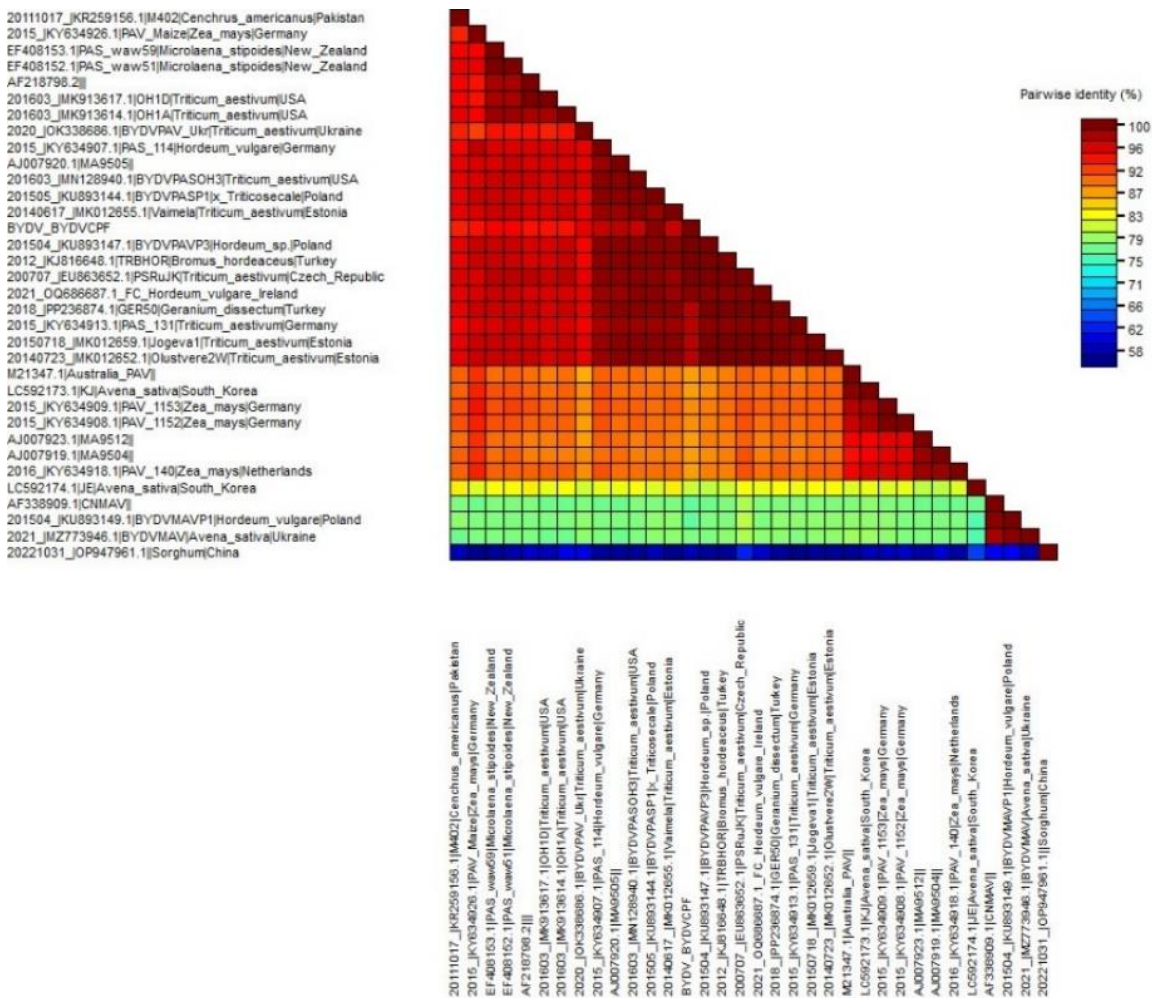
Для остаточної молекулярно-біологічної ідентифікації патогенів, виявлених у симптоматичних рослинах кукурудзи, було застосовано метод зворотньоїотранскрипційної полімеразної ланцюгової реакції (ЗТ-ПЛР). Ампліфікацію цільових ділянок вірусних геномів здійснювали з використанням специфічних пар праймерів до генів капсидних білків обох збудників. Для ідентифікації BYDV-PAV застосовували праймери BYspF (5'-CCACTAGAGAGGTGGTGAATG-3') та BYspR (5'-CCGGTGTGAGGAGTCTACC-3') за Кунду (Kundu, 2008). Водночас детекцію вірусу мозаїки цукрової тростини (SCMV) проводили за допомогою специфічних праймерів SCMVsp-F (5'GGATACGTAGAAGACTACAATG3') та SCMVsp-R (5'ATTATAGGТАCTGCAAACAG3') за Тшмель (Trzmiel, 2022). Візуалізація продуктів реакції методом електрофорезу в агарозному гелі підтвердила наявність специфічних ампліконів очікуваного розміру для обох досліджуваних вірусів (рис. 4.4).



**Рис. 4.4.** Електрофореграма продуктів ЗТ-ПЛР. М–ДНК маркер (CSL-MDNA-100BP, Cleaver Scientific), 1 – κДНК BYDV-PAV із *Zea mays*, 2 – k+, 3– κДНК SCMV із *Zea mays*

Отримані продукти було секвеновано та проведено філогенетичний аналіз ділянки гена білка оболонки SCMV та BYDV-PAV відповідно. Довжина відсеквенованого фрагмента українського ізоляту вірусу жовтої карликовості ячменю, який отримав назву BYDV-PAV-Corn/*Zea mays*/Ukraine, склала 598 п.н., тоді як розмір послідовності ізоляту вірусу мозаїки цукрової тростини (SCMV-UA-Київ-24) становив 1013 п.н. Первинний пошук гомологічних послідовностей за допомогою алгоритму BLAST у міжнародній базі даних NCBI продемонстрував, що ізолят BYDV-PAV-Corn/*Zea mays*/Ukraine має найвищий рівень генетичної подібності з ізолятами з Естонії, Польщі, Чехії, Ірландії та Туреччини. Широке коло рослин-хазяїв цих референтних штамів (ячмінь, пшениця, кукурудза) підтверджує значну адаптивність вірусу. Натомість, результати BLAST-аналізу нуклеотидної послідовності ізоляту SCMV-UA-Київ-24 продемонстрували її найвищий рівень генетичної спорідненості з ізолятами з Китаю, що дозволило відібрати найбільш релевантні світові ізоляти потівірусів для подальшого порівняльного та філогенетичного аналізу.

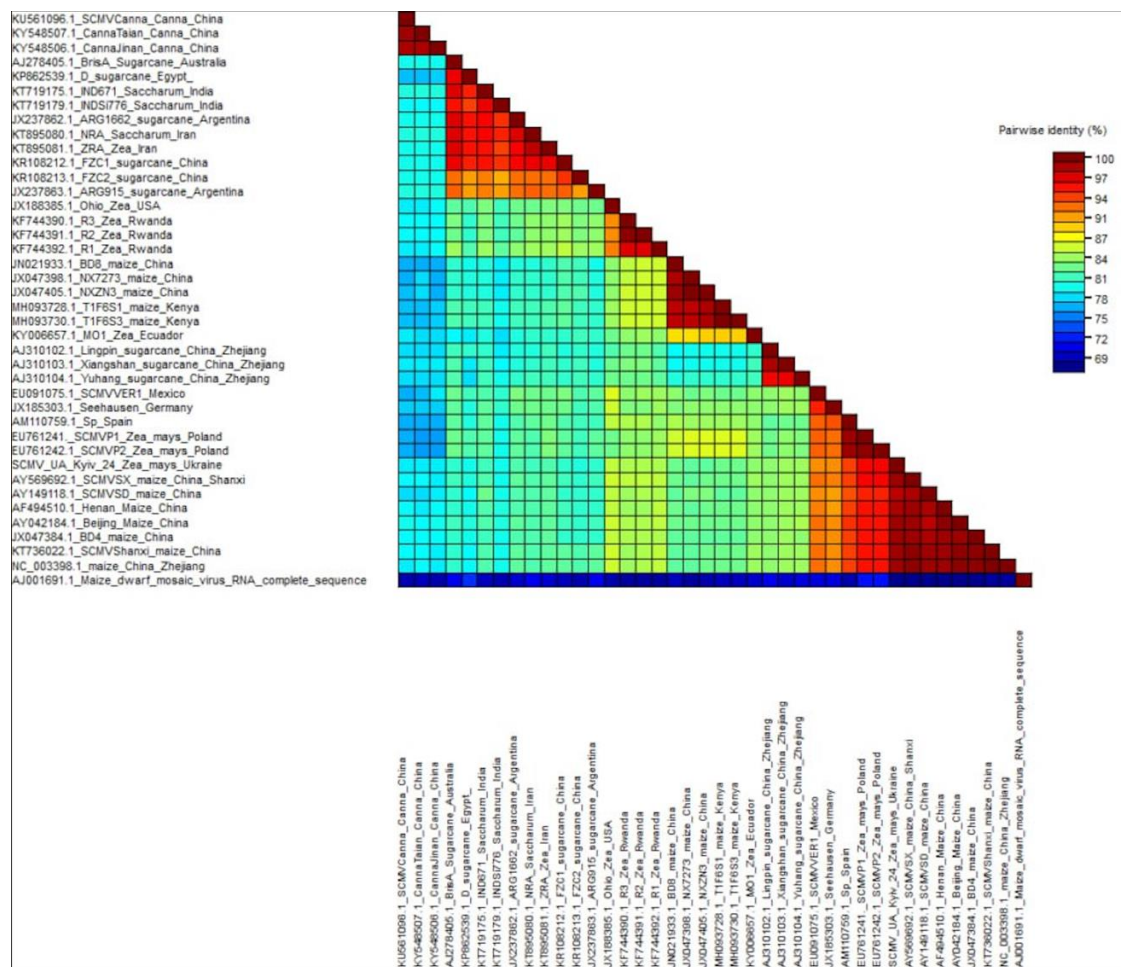
З метою об'єктивної візуалізації рівня попарної ідентичності між виділеними ізолятами та світовими представниками застосовували програмний пакет Sequence Demarcation Tool (SDT v1.3). Аналіз теплової матриці, побудованої для вірусу жовтої карликовості ячменю (рис. 4.5), дозволив чітко розмежувати філогенетичні групи та засвідчив кластерування досліджуваного ізоляту BYDV-PAV-Corn/Zea mays/Ukraine з представниками кладу Ia. Це підтверджує його високу нуклеотидну гомологію із вказаною групою ізолятів.



**Рис. 4.5.** Теплова матриця ідентичності нуклеотидних послідовностей ізолятів BYDV.

Аналогічним чином було побудовано матрицю попарної ідентичності для нуклеотидної послідовності вірусу мозаїки цукрової тростини (рис. 4.6).

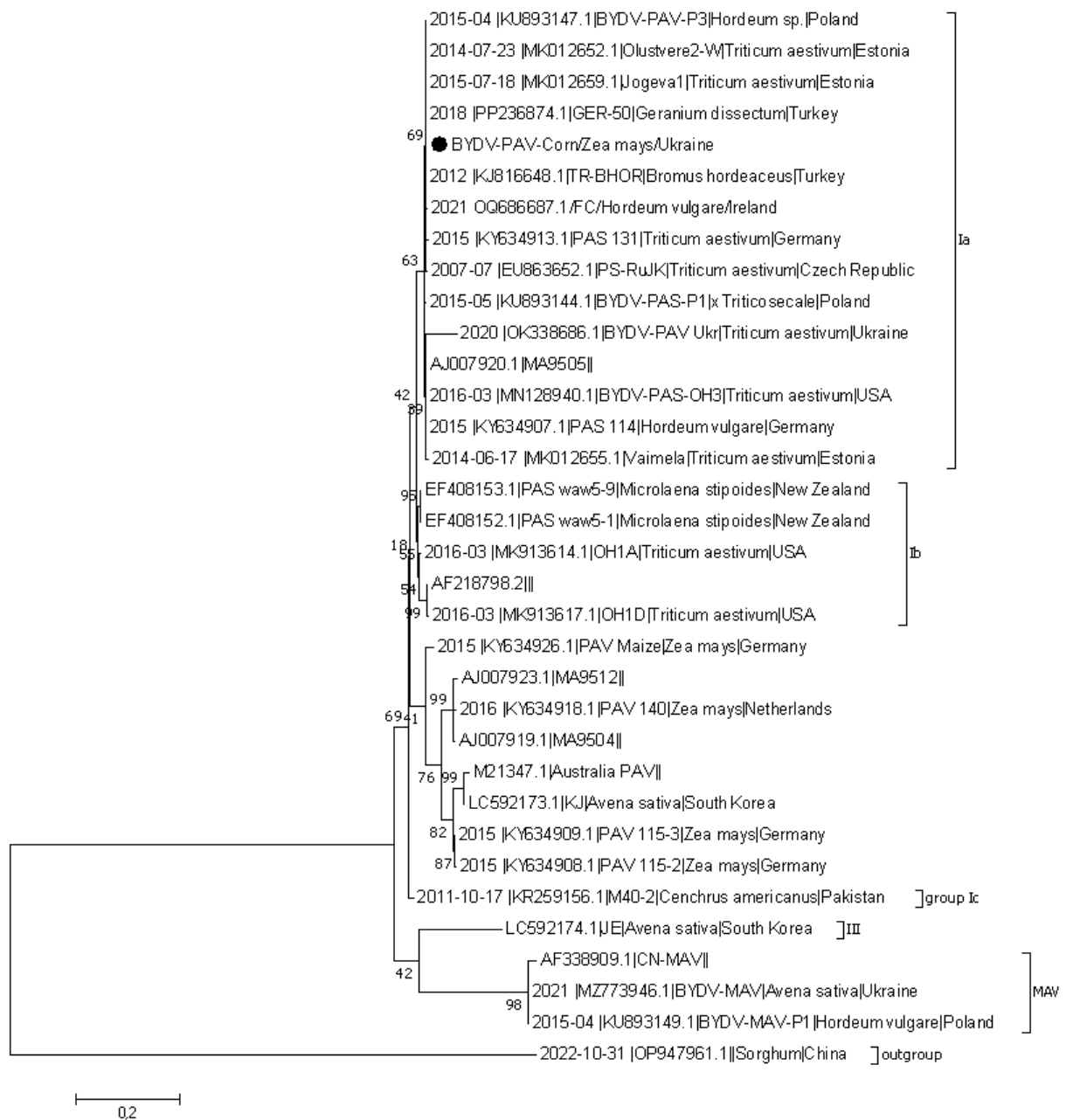
Отримані за допомогою програми SDT значення попарної ідентичності дозволили провести точну кількісну оцінку рівня гомології вітчизняного ізоляту SCMV-UA-Kyiv-24 з іншими депонованими в базі послідовностями. Своєю чергою, побудована теплова матриця слугувала наочною графічною візуалізацією цих розрахунків, підтвердивши високу спорідненість нашого ізоляту з представниками азійського походження та чітко відокремивши відповідний кластер.



**Рис. 4.6.** Теплова матриця ідентичності нуклеотидних послідовностей ізолятів SCMV.

Філогенетичне дерево будувалося на основі методу максимальної правдоподібності (Maximum Likelihood) за допомогою відповідного програмного забезпечення MEGA 7 (Kumar, 2016). Для підвищення надійності розгалужень проводився бутстреп-аналіз із 1000 повторів. Отримане

філогенетичне дерево демонструє філогенетичні зв'язки між ізолятами BYDV-PAV (рис. 4.7). Ізолят BYDV-PAV-Corn/Zea mays/Ukraine кластеризується разом із ізолятами з Німеччини, США та Естонії, що свідчить про можливий спільний шлях поширення або еволюційне походження. Висока підтримка гілок (bootstrap values) підтверджує надійність отриманих зв'язків. Це вказує на необхідність подальшого моніторингу даного вірусу в Україні для розуміння його потенційного впливу на врожайність злакових.



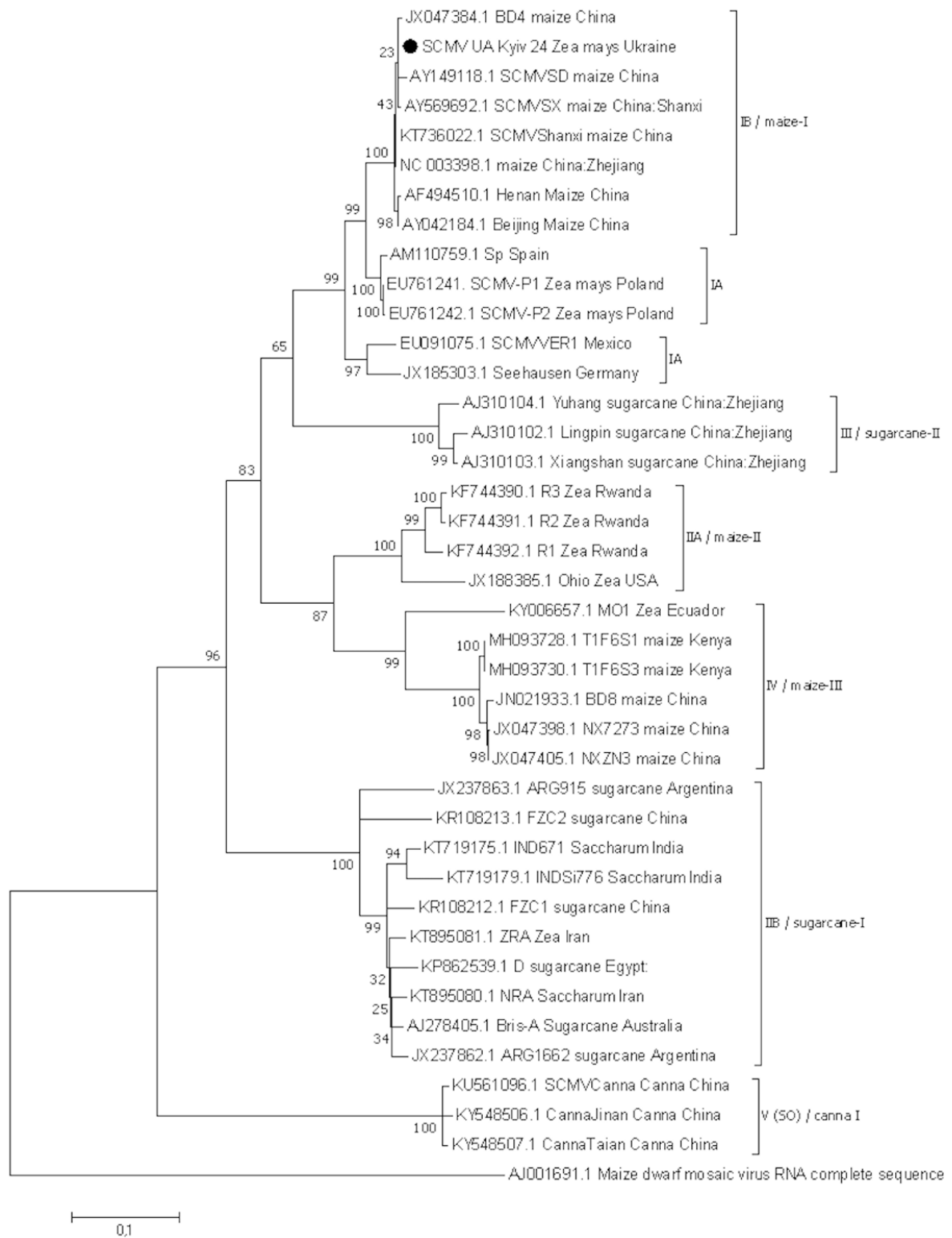
**Рис. 4.7.** Філогенетичне дерево за методом максимальної правдоподібності, що демонструє філогенетичні зв'язки між ізолятами BYDV-PAV. Цифрами

біля вузлів розгалуження вказано значення бутстреп-підтримки у відсотках (на основі 1000 повторів).

Класифікація ізолятів на класи Ia, Ib, Ic і MAV базується на генетичній мінливості геному BYDV-PAV (Kerns, 2018). Ізоляти груп Ia, Ib та MAV формують окремі кластери. Така кластеризація підтверджує високий рівень генетичної спорідненості ізолятів з однієї класи, незважаючи на їхнє географічне походження. Водночас формування окремих кластерів іншими ізолятами вказує на наявність кількох еволюційних ліній BYDV-PAV, що циркулюють у різних регіонах.

Отже, ізолят BYDV-PAV-Corn/Zea mays/Ukraine виділений з кукурудзи має високий рівень подібності з європейськими ізолятами та розміщений в класі Ia. Належність українського ізоляту до класи Ia може свідчити про його інтродукцію з Європи через міграцію попелиць або обмін насіннєвим матеріалом, що узгоджується з літературними даними про глобальне поширення BYDV-PAV (Irwin, 1990). Висока генетична подібність із ізолятами з Польщі та Естонії підкреслює необхідність регіонального моніторингу для відстеження шляхів поширення вірусу в Україні.

За аналогічним алгоритмом було побудовано філогенетичне дерево для вірусу мозаїки цукрової тростини (рис. 4.8). Дане філогенетичне дерево остаточно підтвердило видовий статус вітчизняного ізоляту SCMV-UA-Kyiv-24 та дозволило чітко визначити його еволюційне положення серед глобальної популяції потівірусів. Як видно з рисунка, український ізолят кластеризується в межах філогенетичної класи IB/maize-I. Таке просторове позиціонування на філогенетичному дереві повністю корелює з отриманими раніше кількісними даними попарної ідентичності та додатково засвідчує його тісний еволюційний зв'язок з ізолятами азійського походження, зокрема тими, що циркулюють на території Китаю.



**Рис. 4.8.** Філогенетичне дерево за методом максимальної правдоподібності, що демонструє філогенетичні зв'язки між ізолятами SCMV. Цифрами біля вузлів розгалуження вказано значення бутстреп-підтримки у відсотках (на основі 1000 повторів).

Аналіз топології цього філогенетичного дерева (див. рис. 4.8) виявив надзвичайно цікаву епідеміологічну закономірність. Попри географічну наближеність України до інших європейських держав, ізоляти з яких (зокрема з Польщі, Німеччини та Іспанії) формують окрему наближену філогенетичну кладу IA, вітчизняний ізолят SCMV-UA-Kyiv-24 впевнено кластеризується в межах класу IB/maize-I разом зі зразками виключно китайського походження. Таке нетипове філогенетичне позиціонування свідчить про те, що поширення SCMV не завжди підпорядковується правилу географічної близькості, і дозволяє висунути кілька гіпотез щодо походження української популяції вірусу.

По-перше, виявлена кластеризація може вказувати на незалежний шлях інтродукції цієї еволюційної лінії вірусу на територію України. Враховуючи інтенсифікацію глобальних торговельних зв'язків, найбільш вірогідним механізмом такого трансконтинентального перенесення є міжнародний обмін насіннєвим матеріалом. Хоча насіннєва передача потівірусів відбувається з відносно низькою частотою, імпорт інфікованих селекційних ліній або комерційного насіння кукурудзи з країн Азії міг стати первинним джерелом інфекції, яка згодом адаптувалася в місцевих агроценозах.

По-друге, не можна виключати фактор сортової специфічності. Можливо, гібриди кукурудзи, що культивуються в досліджуваному регіоні Київської області, мають спільну генетичну базу з азійськими сортами, що робить їх більш сприйнятливими саме до вірусів класу IB/maize-I. Таким чином, антропогенний фактор (глобалізація торгівлі) може відігравати значно більшу роль у формуванні сучасного ареалу SCMV, ніж природна міграція вірусу через кордони сусідніх європейських країн.

Підсумовуючи результати проведеного молекулярно-біологічного та філогенетичного аналізів, варто наголосити на їхньому вагомому прикладному значенні для вітчизняного сільського господарства. В умовах глобальних кліматичних змін, які сприяють інтенсивному розмноженню комах-векторів, ризик масових спалахів вірусних хвороб суттєво зростає.

Надійна молекулярна ідентифікація BYDV-PAV та SCMV у зразках кукурудзи за допомогою ЗТ-ПЛР свідчить про нагальну потребу у запровадженні регулярного фітосанітарного моніторингу агроценозів, особливо в регіонах із високою чисельністю попелиць. Для мінімізації економічних втрат доцільно застосовувати доступні системи ранньої діагностики (зокрема TAS-ELISA та DAS-ELISA), а також інтегровані підходи для захисту посівів, що поєднують контроль популяцій переносників і раціональну сівозміну.

Перспективними напрямками подальших наукових досліджень є суттєве розширення географії обстежень посівів кукурудзи. Особливої уваги потребують південні області України, де агрокліматичні умови є найбільш сприятливими для перезимівлі та масового розмноження попелиць. Надзвичайно актуальним залишається також вивчення кореляції між погодними коливаннями та динамікою популяцій комах-переносників, що у перспективі дозволить створювати математичні моделі прогнозування спалахів вірусних інфекцій та оптимізувати графіки превентивних захисних заходів (Irwin, 1990).

Загалом, отримані молекулярні дані є фундаментальною базою для подальшого дослідження шляхів поширення вірусів кукурудзи в Україні. Проведений філогенетичний аналіз продемонстрував відмінність у походженні ідентифікованих вірусів: якщо український ізолят BYDV-PAV виявив тісні еволюційні зв'язки з європейськими лініями, то ізолят SCMV продемонстрував високу спорідненість з азійською популяцією потівірусів. Це свідчить про складні, багатовекторні механізми міграції патогенів, що потребують подальшого детального вивчення. У підсумку, результати дослідження не лише сприятимуть удосконаленню систем моніторингу та діагностики, але й слугуватимуть цінним вихідним матеріалом для селекційних програм, спрямованих на створення нових, високорезистентних до вірусних інфекцій гібридів кукурудзи.

## ВИСНОВКИ

Проведене дослідження дозволило суттєво поглибити розуміння особливостей поширення, молекулярної ідентифікації та генетичної характеристики вірусів, що уражують посіви кукурудзи в Україні, зокрема вірусу жовтої карликовості ячменю (BYDV-PAV) та вірусу мозаїки цукрової тростини (SCMV). Отримані дані є фундаментальними для розробки сучасних науково обґрунтованих стратегій захисту посівів та мінімізації економічних збитків в аграрному секторі. Результати молекулярно-біологічного аналізу підтвердили активну циркуляцію обох патогенів у вітчизняних агроценозах. У результаті візуального обстеження посівів кукурудзи в двох регіонах України (Вінницька та Київська області), було виявлено симптоми, що характерні для вірусних хвороб кукурудзи, а саме смугасту і штрихувату мозаїку, плямистість, почервоніння листків.

1. Тестування дослідних зразків рослин за допомогою імуноферментного аналізу ідентифікувало sugarcane mosaic virus та barley yellow dwarf virus-PAV в рослинах кукурудзи з обох регіонів. Частка рослин, уражених SCMV у загальній кількості досліджених проб становила 54%, BYDV-PAV – 32%. Інші віруси, що викликають хворобу мозаїки кукурудзи не були ідентифіковані.
2. У результаті електронно-мікроскопічних досліджень соку рослин уражених SCMV виявлено гнучкі ниткоподібні вірусні частки довжиною  $750 \pm 1$  нм і  $13 \pm 1$  нм в діаметрі, що характерно для представника роду *Potyvirus*.
3. За допомогою молекулярних методів вперше в Україні ідентифіковано BYDV-PAV у кукурудзі. Філогенетичний аналіз довів належність вітчизняного ізоляту до клади Ia та його спільне еволюційне походження з європейськими представниками.
4. Вперше молекулярними методами підтверджено присутність SCMV в українських агроценозах. Виявлений ізолят кластеризується в межах

клади IB/maize-I, демонструючи найтісніші філогенетичні зв'язки з ізолятами з Китаю.

## СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. ДУ «Одеська обласна фітосанітарна лабораторія», n.d. Вірусні хвороби злаків (*Viral Diseases of Cereals*). Available at: <https://lab.gov.ua/virusni-hvoroby-zlakiv/>
2. Науменко, Л.А. (1973). Ідентифікація вірусу мозаїки кукурудзи. Мікробіологічний журнал, 35(4), 468–472.
3. Снігур, Г.О., Поліщук, В.П. та Коваленко, О.О. (n.d.) 'Віруси і вірусні хвороби кукурудзи та заходи боротьби з ними', *Пропозиція*. Доступно за посиланням: <https://propozitsiya.com/ua/virusi-i-virusni-hvorobi-kukurudzi-ta-zahodi-borotbi-z-nimi> (Дата звернення: 1 травня 2026).
4. *Aphid - rhopalosiphum padi - bugguide.net*. Available at: <https://bugguide.net/node/view/84884> (Accessed: 01 May 2026).
5. Boothroyd, C. W. (1977). Seed transmission of Maize dwarf mosaic virus in sweet corn and yield reduction in plants from an infected seed lot. In *Am. Phytopathol. Soc* (Vol. 4, p. 184).
6. Bos, L. (1982) 'Crop losses caused by viruses', *Crop Protection*, 1(3), pp. 263–282. doi:10.1016/0261-2194(82)90002-3.
7. Contributors to Wikimedia projects, (2015). *Schizaphis graminum* - Wikipedia [online]. *Wikipedia, the free encyclopedia*. [Viewed 1 May 2026]. Available from: [https://en.wikipedia.org/wiki/Schizaphis\\_graminum](https://en.wikipedia.org/wiki/Schizaphis_graminum)
8. D'Arcy, C.J. (1995) 'Symptomology and host range of Barley yellow dwarf', in D'Arcy, C. and Burnett, P. (eds.) *Barley yellow dwarf: 40 years of progress*. St. Paul, MN: American Phytopathological Society, pp. 9–28.
9. Domier, L.L. and D'Arcy, C.J. (2008) 'Luteoviruses', *Encyclopedia of Virology*, pp. 231–238. doi:10.1016/b978-012374410-4.00438-6.
10. *Faostat*. Available at: <https://www.fao.org/faostat/en/#data/QCL> (Accessed: 01 May 2026).

11. Gell, G., Balázs, E. and Petrik, K. (2010) 'Genetic diversity of Hungarian maize dwarf mosaic virus isolates', *Virus Genes*, 40(2), pp. 277–281. doi:10.1007/s11262-009-0434-2.
12. GeneJET Plant RNA Purification Kit 50 Aufreinigungen | Thermo Scientific™ [online], (no date). *Thermo Fisher Scientific - DE*. [Viewed 1 May 2026]. Available from: <https://www.thermofisher.com/order/catalog/product/K0801>
13. Genus: *Potyvirus* (no date) *ICTV*. Available at: <https://ictv.global/report/chapter/potyviridae/potyviridae/potyvirus> (Accessed: 01 May 2026).
14. Gray, S. and Gildow, F.E. (2003) 'Luteovirus -aphid Interactions', *Annual Review of Phytopathology*, 41(1), pp. 539–566. doi:10.1146/annurev.phyto.41.012203.105815.
15. Home (no date) *Cornell Vegetables*. Available at: <https://www.vegetables.cornell.edu/pest-management/disease-factsheets/virus-diseases-of-sweet-corn/> (Accessed: 01 May 2026).
16. *Hysteroneura setariae* (no date) *Hysteroneura setariae (Rusty plum aphid) identification, images, ecology, control*. Available at: [https://influentialpoints.com/Gallery/Hysteroneura\\_setariae\\_rusty\\_plum\\_aphid.htm](https://influentialpoints.com/Gallery/Hysteroneura_setariae_rusty_plum_aphid.htm) (Accessed: 01 May 2026).
17. Irwin, M.E. and Thresh, J.M. (1990) 'Epidemiology of Barley Yellow Dwarf: A study in ecological complexity', *Annual Review of Phytopathology*, 28(1), pp. 393–424. doi:10.1146/annurev.py.28.090190.002141.
18. Jones, R.A. and Barbetti, M.J. (2012) 'Influence of climate change on plant disease infections and epidemics caused by viruses and bacteria.', *CABI Reviews*, pp. 1–33. doi:10.1079/pavsnnr20127022.
19. Kerns, M.R. and Stewart, C.L. (2018) Insecticide resistance in aphid vectors of plant viruses. *Pest Management Science*, 74(5), pp. 1019–1027. Available at: <https://doi.org/10.1002/ps.4779>

20. Kumar, S., Stecher, G. and Tamura, K. (2016) ‘Mega7: Molecular evolutionary genetics analysis version 7.0 for bigger datasets’, *Molecular Biology and Evolution*, 33(7), pp. 1870–1874. doi:10.1093/molbev/msw054.
21. Kundu, J. K., (2008). First Report of Barley yellow dwarf virus-PAS in Wheat and Barley Grown in the Czech Republic. *Plant Disease* [online]. 92(11), 1587. [Viewed 1 May 2026]. Available from: doi: 10.1094/pdis-92-11-1587b
22. Kyrychenko, A. M., Snihur, H. O. and Shcherbatenko, I. S., (2026). Seed-transmitted viruses of cereal crops in Ukraine: epidemiology, mechanisms of spread and phytosanitary control strategies. *Karantin i zahist roslyn* [online]. (1), 29–35. [Viewed 1 May 2026]. Available from: doi: 10.36495/2312-0614.2026.1.29-35
23. Lapierre, H., (2004). *Virus and virus diseases of Poaceae (Gramineae)*. Edited by Signoret Pierre A and Institut national de la recherche agronomique (France). Paris: Institut National de la Recherche Agronomique (France).
24. Law, M. D., (1989). Effect of Host Resistance on Pathogenesis of Maize Dwarf Mosaic Virus. *Phytopathology* [online]. 79(7), 757. [Viewed 1 May 2026]. Available from: doi: 10.1094/phyto-79-757
25. Ludmerszki, E., Chounramany, S., Oláh, C., Kátay, G., Rácz, I., Almási, A., Solti, Á., Bélai, I. and Rudnóy, S., (2017). Protective role of S-methylmethionine-salicylate in maize plants infected with Maize dwarf mosaic virus. *European Journal of Plant Pathology* [online]. 149(1), 145–156. [Viewed 1 May 2026]. Available from: doi: 10.1007/s10658-017-1174-0
26. Ludmerszki, E., Rácz, I. and Rudnóy, S. (2014) “S-methylmethionine alters gene expression of candidate genes in Maize dwarf mosaic virus infected and drought stressed maize plants”, *Acta Biologica Szegediensis*, 58(1), pp. 1–5. Available at: <https://abs.bibl.u-szeged.hu/index.php/abs/article/view/2809> (Accessed: 1 May 2026).
27. Mahlein, A.-K., (2016). Plant Disease Detection by Imaging Sensors – Parallels and Specific Demands for Precision Agriculture and Plant

- Phenotyping. *Plant Disease* [online]. 100(2), 241–251. [Viewed 1 May 2026]. Available from: doi: 10.1094/pdis-03-15-0340-fe
28. Maize dwarf mosaic virus (dwarf mosaic of maize), (2022). *CABI Compendium* [online]. CABI Compendium. [Viewed 1 May 2026]. Available from: doi: 10.1079/cabicompendium.8157
29. Mayhew, D. E. and Ford, R. E., (1974). Detection of ribonuclease-resistant RNA in chloroplasts of corn leaf tissue infected with maize dwarf mosaic virus. *Virology* [online]. 57(2), 503–509. [Viewed 1 May 2026]. Available from: doi: 10.1016/0042-6822(74)90189-5
30. Mayo, M.A. and Ziegler-Graff, V. (1996) 'Molecular biology of luteoviruses', *Advances in Virus Research*, 46, pp. 413–460. doi: 10.1016/S0065-3527(08)60077-9.
31. *Melanaphis Sacchari & Melanaphis Sorghi* (no date) *Melanaphis sacchari, sorghi (Sugarcane aphid) identification, images, ecology, control*. Available at: [https://influentialpoints.com/Gallery/Melanaphis\\_sacchari\\_sugarcane\\_aphid.htm](https://influentialpoints.com/Gallery/Melanaphis_sacchari_sugarcane_aphid.htm) (Accessed: 01 May 2026).
32. Mikel, M. A., (1981). Yield Response of Sweet Corn to Maize Dwarf Mosaic Virus. *Plant Disease* [online]. 65(11), 900. [Viewed 1 May 2026]. Available from: doi: 10.1094/pd-65-900
33. Mikel, M.A., D'Arcy, C.J. and Ford, R.E. (1984) 'Seed transmission of maize dwarf mosaic virus in sweet corn', *Journal of Phytopathology*, 110(3), pp. 185–191. doi: 10.1111/j.1439-0434.1984.tb00746.x.
34. Miller and , W. A. and Rasochová, L., (1997). Barley Yellow Dwarf Viruses. *Annual Review of Phytopathology* [online]. 35(1), 167–190. [Viewed 1 May 2026]. Available from: doi: 10.1146/annurev.phyto.35.1.167
35. Muhire, B. M., Varsani, A. and Martin, D. P., (2014). SDT: A Virus Classification Tool Based on Pairwise Sequence Alignment and Identity Calculation. *PLoS ONE* [online]. 9(9), article no: e108277. [Viewed 1 May 2026]. Available from: doi: 10.1371/journal.pone.0108277

36. Munkvold, G.P. and White, D.G. (eds.) (2016) *Compendium of corn diseases*. 4th edn. St. Paul, MN: American Phytopathological Society.
37. Nault, L. R., (1997). Arthropod Transmission of Plant Viruses: a New Synthesis. *Annals of the Entomological Society of America* [online]. 90(5), 521–541. [Viewed 1 May 2026]. Available from: doi: 10.1093/aesa/90.5.521
38. Philippe Le Mercier, C.H. (no date) *Luteovirus (taxid:12036)*, *Luteovirus ~ ViralZone*. Available at: <https://viralzone.expasy.org/609> (Accessed: 01 May 2026).
39. Potyvirus ~ ViralZone [online], (no date). *ViralZone root ~ ViralZone*. [Viewed 1 May 2026]. Available from: <https://viralzone.expasy.org/50>
40. Power, A.G. and Gray, S.M. (1995) 'Aphid transmission of barley yellow dwarf viruses: interactions between viruses, vectors, and host plants', in D'Arcy, C.J. and Burnett, P.A. (eds.) *Barley yellow dwarf: 40 years of progress*. St. Paul, MN: APS Press, pp. 259–291.
41. Pozhylov I., Snihur H., Shevchenko T., Budzanivska I., Liu W., Wang X., Shevchenko O. (2022). Occurrence and Characterization of Wheat Streak Mosaic Virus Found in Mono- and Mixed Infection with High Plains Wheat Mosaic Virus in Winter Wheat in Ukraine. *Viruses*, 14, 1220. <https://doi.org/10.3390/v14061220>
42. RevertAid Erststrang-cDNA-Synthesekit 100 Reaktionen | Thermo Scientific™ [online], (no date). *Thermo Fisher Scientific - DE*. [Viewed 1 May 2026]. Available from: <https://www.thermofisher.com/order/catalog/product/K1622>
43. Seifers, D. L., Salomon, R., Marie-Jeanne, V., Alliot, B., Signoret, P., Haber, S., Loboda, A., Ens, W., She, Y. M. and Standing, K. G., (2000). Characterization of a Novel Potyvirus Isolated from Maize in Israel. *Phytopathology*® [online]. 90(5), 505–513. [Viewed 1 May 2026]. Available from: doi: 10.1094/phyto.2000.90.5.505
44. Shepherd R.J., Holdeman Q.L. (1965). Seed transmission of the Johnsongrass strain of the *Sugarcane mosaic virus* in Corn. *Plant Dis. Report*. 49:468–469.

45. Shevchenko T., Snihur H., Pozhylov I., Kyrychenko A. (2026). Biological characterization and phylogenetic analysis of Ukrainian barley stripe mosaic virus isolates. *Journal of Plant Diseases and Protection* 133, 38. <https://doi.org/10.1007/s41348-026-01234-1>
46. Shukla, D.D. (1989) 'Sugarcane mosaic virus', *Descriptions of Plant Viruses*, No. 341. Available at: <https://www.dpvweb.net/dpv/showdpv/?dpvno=341> (Accessed: 1 May 2026).
47. Shukla, D.D. and Ward, C.W. (1989) 'Structure of potyvirus coat proteins and its application in the taxonomy of the potyvirus group', *Advances in Virus Research*, 36, pp. 273–314. doi: 10.1016/S0065-3527(08)60587-4.
48. Shukla, D.D., Tomic, M., Jilka, J., Ford, R.E., Toler, R.W. and Langham, M.A.C. (1989) 'Taxonomy of potyviruses infecting maize, sorghum, and sugarcane in Australia and the United States as determined by reactivities of polyclonal antibodies directed towards virus-specific N-termini of coat proteins', *Phytopathology*, 79(2), pp. 223–231. doi: 10.1094/Phyto-79-223.
49. Shurtleff, M.C. (ed.) (1999) *Compendium of corn diseases*. 2nd edn. St. Paul, MN: APS Press. ISBN 0890540292.
50. Sitobion avenae (English Grain Aphid) identification, images, ecology [online], (no date). *InfluentialPointsDotCom: Statistics and Aphids, things that Bite and Suck*. [Viewed 1 May 2026]. Available from: [https://influentialpoints.com/Gallery/Sitobion\\_avenae\\_English\\_Grain\\_aphid.htm](https://influentialpoints.com/Gallery/Sitobion_avenae_English_Grain_aphid.htm).
51. Snihur H., Kharina A., Kaluzhna M., Chumak V., Budzanivska I. (2021). First report of Sugarcane mosaic virus in *Zea mays* L. in Ukraine. *Mikrobiolohichnyi zhurnal*. 83, (5), 58-66. doi:<https://doi.org/10.15407/microbiolj83.05.058>
52. Snihur H., Shevchenko T., Kyrychenko A., Pozhylov I. (2026). First report of barley yellow dwarf virus-GPV naturally infecting wheat in Ukraine. *Journal of Plant Pathology*. <https://doi.org/10.1007/s42161-025-02111-w>

53. Snihur H., Shevchenko T., Shevchenko O., Kyrychenko A. (2025). The role of seed transmission in the spread of cereal viruses: global challenges and prevalent threats in Ukraine. *Plant Protection Science*, 61, (3), 201–221. <https://doi.org/10.17221/51/2025-PPS>
54. Snihur H., Vlasova T., Pozhylov I., Kharina A., Shevchenko T. (2026). First report of barley yellow dwarf virus-PAV infecting maize in Ukraine. *Journal of Plant Pathology*. <https://doi.org/10.1007/s42161-026-02173-4>
55. Trzmiel, K. and Hasiów-Jaroszewska, B. (2022) 'Development of reverse transcription-loop-mediated isothermal amplification assay for the detection of genetically different isolates of maize dwarf mosaic virus', *Journal of Plant Protection Research*, 62(3), pp. 302–306. Available at: <https://doi.org/10.24425/jppr.2022.142138>.
56. *Uroleucon pseudambrosiae* (no date) *Uroleucon pseudambrosiae* (Wild lettuce aphid) identification, images, ecology, control. Available at: [https://influentialpoints.com/Gallery/Uroleucon\\_pseudambrosiae\\_wild\\_lettuce\\_aphid.htm](https://influentialpoints.com/Gallery/Uroleucon_pseudambrosiae_wild_lettuce_aphid.htm) (Accessed: 01 May 2026).
57. Vlasova T., Snihur H., Shevchenko T. (2024). Diversity of viruses infecting *Zea mays* L. in Ukraine. *Bulletin of Taras Shevchenko National University of Kyiv. Series: Biology*, 2(97), 10-15. <https://doi.org/10.17721/1728.2748.2024.97.10-15>
58. Vlasova T., Snihur H., Shevchenko T. Identification of viruses infecting *Zea mays* L. in Ukraine. X International Conference «Bioresources and Viruses», Kyiv, Ukraine. 11-13 Sept. 2023. P. 89.
59. Yount, D.J., Martin, J.M., Carroll, T.W. and Zaske, S.K. (1985) 'Effects of barley yellow dwarf virus on growth and yield of small grains in Montana', *Plant Disease*, 69(6), pp. 487–491.