

## МЕТОДИЧНІ АСПЕКТИ ОЦІНКИ РЕАКЦІЇ РОСЛИН КАБАЧКА НА ШТУЧНЕ ЗАРАЖЕННЯ ВІРУСОМ ЖОВТОЇ МОЗАЇКИ (ZYMV)

Кондратенко С. І., Ланкастер Ю. М.

### ВСТУП

В умовах інтенсифікації агропромислового виробництва істотно змінилися технології вирощування овочевих культур, збільшилися обсяги застосування мінеральних добрив, хімічних засобів захисту рослин, що призвело до серйозних зрушень в агроценозі. З'явилися нові, мало відомі Україні вірусні хвороби, а також посилилася агресивність вже ідентифікованих у попередні роки вірусів. Визначення механізмів передачі та реакції сортів, гібридів та селекційних ліній на ураження вірусним патогеном дає змогу не тільки більш повно охарактеризувати кожен зразок з огляду на його потенційну цінність для подальшої селекційної роботи, а й дає змогу прогнозувати появу та розвиток хвороби, з подальшою можливістю правильно виробити стратегію і тактику по боротьбі з нею, розробити методику запровадження нових стійких сортів і гібридів F<sub>1</sub>.

Вірус жовтої мозаїки кабачка (*Zucchini yellow mosaic virus*, ZYMV) є одним із головних фітопатогенів рослин родини *Cucurbitaceae*. У селекційній роботі вірусні вектори є високоефективними інструментами як для функціональних досліджень, так і для подальшої роботи з відбору вихідного матеріалу<sup>1</sup>. За допомогою вірусних векторів здійснюються аналіз експресії чужорідних генів та аналіз вірусного замовчування (virus-induced gene silencing – VIGS)<sup>2</sup>. Тому безпосередня процедура доставки вірусного вектора в рослину, тобто первинне зараження, є

---

<sup>1</sup> Zhang X., Jin L., Fang Q., Hui WH, Zhou ZH. 3.3 A cryo-EM structure of a nonenveloped virus reveals a priming mechanism for cell entry. *Cell*. 2010. Vol. 141(3). P. 472–482. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2010.03.041>.

<sup>2</sup> Pflieger S.P., Richard M.M.S., Blanchet S., Meziadi C., Geffroy V. R. VIGS technology: an attractive tool for functional genomics studies in legumes. *Funct Plant Biol*. 2013. Vol. 40(12). P. 1234–1248. <https://doi.org/10.1071/FP13089>.

досить критичним першим кроком у плануванні і проведенні досліджень.

У сучасній експериментальній практиці використовуються різні методики вірусного зараження. Найбільш відомими є опосередкована агробактеріями інфільтрація (агро-інокуляція), механічна інокуляція транскрибованої *in vitro* РНК або біологічна доставка інфекційної плазмідної ДНК (тобто ДНК-плазмиди, яка містить копію κДНК модифікованого вірусного геному під управлінням 35S промотора). Усі вищевказані методики зараження мають один певний недолік – високу вартість проведення, внаслідок чого вони є несумісними з широкомасштабними функціональними дослідженнями<sup>3</sup>.

Враховуючи вищесказане, запланована нами селекційно-генетична програма досліджень передбачала проведення комплексу робіт із визначення рівня стійкості селекційно-цінних генотипів кабачка до вірусу жовтої мозаїки (ZYMV) за допомогою штучної інокуляції вірусним штамом нативних тканин рослин кабачка.

### **1. Особливості застосованої схеми досліджень з оцінки реакції рослин селекційно-цінних генотипів кабачка різного географічного походження при зараженні вірусом жовтої мозаїки**

Кабачок (*Cucurbita pepo* L.) – одна з популярних і дуже цінних культур, належить до роду *Cucurbita* родини Гарбузові (*Cucurbitaceae*). Цінність кабачка зумовлена високими харчовими, дієтичними і лікарськими властивостями. Вітчизняні сорти і гібриди F<sub>1</sub> кабачка відрізняються гарними смаковими якість плодів, але більшість із них мало задовольняють потреби населення і консервної промисловості через низьку продуктивність та короткий період технічної стиглості. Ринок потребує ранньостиглих, із неперезріваючими плодами сортів і гібридів F<sub>1</sub> кабачка з компактним габітусом куща, високим урожаєм на рівні 40–45 т/га, вегетаційним періодом до настання технічної стиглості – 40–42 доби, тривалим періодом плодоношення, вмістом сухої речовини – до 8%, вмістом вітаміну С на рівні 15 мг / 100 г.

---

<sup>3</sup> Pflieger S.P., Richard M.M.S., Blanchet S., Meziadi C., Geffroy V. R. VIGS technology: an attractive tool for functional genomics studies in legumes. *Funct Plant Biol.* 2013. Vol. 40(12). P. 1234–1248. <https://doi:10.1071/FP13089>

У Державний Реєстр сортів рослин України внесено понад 30 сортів і гібридів F<sub>1</sub> кабачка вітчизняної селекції, з яких найбільш відомими є сорти Чаклун, Акробат, Аспірант, Грибовський 37, Гайдамака, Світозар, Цукеша, Зебра, Скворушка, Одеський 52 та гібриди F<sub>1</sub> – Атілла F<sub>1</sub>, Отаман F<sub>1</sub>, Садко F<sub>1</sub>, Дінар F<sub>1</sub>. Усі створені вітчизняні сорти і гібриди F<sub>1</sub> відрізняються певними господарсько-цінними властивостями, які переважно проявляються в тих агрокліматичних умовах, за якими вони були створені. Але, на жаль, у сучасних умовах постійної зміни факторів навколишнього середовища більшість із раніше створених сортів і гібридів F<sub>1</sub> вже не має всього комплексу необхідних показників, властивостей і якостей для задоволення сучасних вимог агровиробництва. Особливо це стосується адаптивного потенціалу за комплексом важливих кількісних ознак та стійкістю до біотичних факторів як за умов вирощування у зрошувальних, так і у богарних умовах. Основними обмежувачим фактором є враження фітовірусними інфекціями, які призводять до значних втрат урожайності від 45 до 80%.

Протягом останніх років серед фітовірусів в Україні поширення на гарбузових овочевих видах рослин набув вірус жовтої мозаїки кабачка (ZYMV). Найбільш дієвими заходами протистояння цьому вірусу є вчасна діагностика та проведення профілактичних засобів із виділення рослин-резерваторів інфекції, визначення високоадаптивних джерел стійкості, створення (з подальшим запровадженням) стійких сортів і гібридів F<sub>1</sub> та отримання безвірусного посадкового матеріалу.

З метою ефективного запобігання поширенню цього вірусу потрібно проводити інтенсифікацію селекційних програм по кабачку шляхом запровадження методів маркерно-асоціативної селекції, в основу яких покладено наявність зчеплення або асоціації між ДНК-маркером та цільовим геном стійкості до вірусу жовтої мозаїки кабачка (ZYMV). Аналіз закордонних досліджень показав, що генетика стійкості до вірусу жовтої мозаїки кабачка (ZYMV) безпосередньо в кабачка майже не вивчена. Ідентифіковано вісім генів, які контролюють часткову стійкість до вірусу. Ці гени були визначено в процесі вивчення популяції F<sub>2</sub>, яка отримана від схрещування дикорослого гарбуза *Nigerial Local* з культурним

сортом. У споріднених із кабачком видів – огірка, кавуна і дині – також ідентифіковано гени стійкості до цього вірусу<sup>4</sup>.

Наведена вище проблематика свідчить про доцільність та необхідність розгортання в Україні досліджень із пошуку генетичних джерел стійкості кабачка до вірусу жовтої мозаїки (ZYMV). Ці дослідження, безсумнівно, матимуть важливе як теоретичне, так і практичне значення, оскільки за їх допомогою стане можливим значно оптимізувати селекційні програми в бік прискореного створення нових вірусостійких вітчизняних сортів і гібридів F<sub>1</sub>.

Дослідження з вивчення реакції рослин кабачка на штучне зараження вірусом жовтої мозаїки в лабораторних умовах було проведено на експериментальній базі лабораторії селекції пасльонових і гарбузових культур Інституту овочівництва і баштанництва Національної академії аграрних наук України (сел. Селекційне Харківської обл. Україна) та випробувальної лабораторії ТОВ «Агроген Ново» (м. Харків, Україна). У роботі використовувалася робоча колекція ліній і гібридів F<sub>1</sub> кабачка іноземного походження (табл. 1 і табл. 2).

Дослідження зі штучного зараження проводилися в лабораторних умовах протягом 2017–2019 років із використанням чергового покоління індухт-ліній кабачка. На час початку проведення досліджень у 2017 році усі лінійні зразки мали покоління F<sub>6</sub>I<sub>6</sub>. Аналогічним чином, гібридні зразки кабачка досліджувалися щороку після проведення попередньої гібридизації батьківських компонентів і одержання чергового покоління гібридів F<sub>1</sub>, які потім вивчалися в лабораторних умовах.

У роботі було задіяно колекцію ліній кабачка загальною кількістю 24 зразки (табл. 1) і гібридів першого покоління – 20 зразків (табл. 2). Зразки кожної групи кабачка (лінії або гібриди F<sub>1</sub>) було оцінено порівняно з відповідними стандартами лінії із сортом-стандартом вітчизняної селекції Чаклун, який занесений до Державного Реєстру сортів рослин України. При оцінці гібридного матеріалу за стандарт використовувався гібрид англійської селекції – Patriot F<sub>1</sub>.

---

<sup>4</sup> Brown R.N., Bolanos-Herrera A., Myers J.R. et al. Inheritance of resistance to four cucurbit viruses in *Cucurbita moschata*. *Euphytica*. 2003. Vol. 129. P. 253–258. <https://doi.org/10.1023/A:1022224327064>.

Таблиця 1

**Колекційні зразки ліній кабачка, задіяні в експерименті  
із зараження вірусом жовтої мозаїки в лабораторних умовах**

№ з/п	Лінії	Походження
1.	сорт Чаклун, st (K-1768)	Україна
2.	ЛК 17-1 (K-1891)	Великобританія
3.	ЛК 17-2 (K-1901)	Великобританія
4.	ЛК 17-4 (K-1907)	Великобританія
5.	ЛК 17-5 (K-1918)	Великобританія
6.	ЛК 17-7 (K-1928)	Великобританія
7.	ЛК 17-8 (K-1939)	Великобританія
8.	ЛК 17-10 (K-1953)	Великобританія
9.	ЛК 17-11 (K-1963)	Великобританія
10.	ЛК 17-42 (K-2112)	Великобританія
11.	ЛК 17-44 (K-2019)	Італія
12.	ЛК 17-45 (K-2043)	Італія
13.	ЛК 17-47 (K-2037)	США
14.	ЛК 17-48 (K-2038)	Італія
15.	ЛК 17-49 (K-2113)	Італія
16.	ЛК 17-50 (K-1964)	Великобританія
17.	РВЛ-19 (K-1972)	Великобританія
18.	ВЛ-90 (K-1986)	Іспанія
19.	ВЛ-91 (K-1994)	Іспанія
20.	ВЛ-92 (K-2005)	Іспанія
21.	Vedi (K-2024)	Італія
22.	NGB 556.1 (K-2136)	Великобританія
23.	Zelena ( <i>C. pepo</i> var. <i>giromontiina</i> ) (K-2137)	Великобританія
24.	Waitham Butternut (K-2138)	Великобританія

Для оцінки вихідного матеріалу кабачка на стійкість до вірусу жовтої мозаїки (ZYMV) в штучних умовах було використано класичний протокол швидкої, дешевої та простої методики механічного щеплення векторів вірусу жовтої мозаїки кабачка шляхом розтирання інфекційної плазмідної ДНК за методикою Гіббса та Гаррісона, наведеної в роботі Хулла<sup>5</sup>. Після отримання заражених рослин було використано інфікований сік листя для подальшого зараження здорових рослин кабачка.

<sup>5</sup> Hull R. Mechanical inoculation of plant viruses. *Curr Protoc Microbiol.* 2009. Chapter 16: P. 16B.6.1–16B.6.4. <https://doi.org/10.1002/9780471729259.mc16b06s13>.

Таблиця 2

**Колекційні зразки гібриди F<sub>1</sub> кабачка, задіяні в експерименті із зараження вірусом жовтої мозаїки в лабораторних умовах**

№ з/п	Назва гібриду F <sub>1</sub>	Походження
1.	Patriot F <sub>1</sub> , st (K-2119)	Великобританія
2.	Alfresco F <sub>1</sub> (K-2115)	Великобританія
3.	Best of British F <sub>1</sub> (K-2116)	Великобританія
4.	Defender F <sub>1</sub> (K-2117)	Великобританія
5.	Rimini F <sub>1</sub> (K-2118)	Великобританія
6.	Eight Ball F <sub>1</sub> (K-2120)	Великобританія
7.	Midnight F <sub>1</sub> (K-2121)	Великобританія
8.	Firenze F <sub>1</sub> (K-2122)	Великобританія
9.	Tuscany F <sub>1</sub> (K-2123)	Великобританія
10.	Parador F <sub>1</sub> (K-2124)	Великобританія
11.	Gold Rush F <sub>1</sub> (K-2125)	Великобританія
12.	Afrodite F <sub>1</sub> (K-2126)	Великобританія
13.	SV 1118 YG F <sub>1</sub> (K-2140)	США
14.	Celeste F <sub>1</sub> (K-2127)	Італія
15.	Alexander F <sub>1</sub> (K-2128)	Іспанія
16.	Mikinos F <sub>1</sub> (K-2129)	США
17.	Jaguar F <sub>1</sub> (K-2130)	США
18.	Cronos F <sub>1</sub> (K-2131)	США
19.	Paychek F <sub>1</sub> (K-2132)	США
20.	Ambassador F <sub>1</sub> (K-2139)	Великобританія

Вирощування і зараження рослин кабачка вірусом ZYMV передбачало виконання етапів, наведених нижче. Часова послідовність виконання етапів наведена в таблиці 3.

1. Пророщування рослин у рулонах:

- 50 шт. насінин кожного дослідного зразка;
- стерилізація насіння – у 6% розчині H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> протягом 15 хв.;
- промивка H<sub>2</sub>O 3 рази по 5 хв.;
- висаджування в рулони по 50 шт. (ДСТУ 4138-2002).

2. Пересадка проростків у контейнери із субстратом через 3 доби (Субстрат ТМ RichLand «Поліський», склад: N – 100–200 мг/л; P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> – 140–260 мг/л; K<sub>2</sub>O – 120–200 мг/л, рН 5,5–6,5).

3. Проведення інокуляції через 10–15 діб:

– для розмноження інфікованого матеріалу в необхідному для зараження колекційних зразків об'ємі використано рослину кабачка сорту Чаклун української селекції;

– використано інокулюм PV-0416 з Leibniz Institute DSMZ (German collection of microorganisms and cell cultures) у поєднанні з фосфатним буфером рН 7,0; 0,03 М + Sodiumdiethyldithiocarbamate;

– листя зараженої вірусом жовтої мозаїки кабачка рослини з вираженими симптомами було зібрано та перемолено з додаванням фосфатного буферу рН 7,0; 0,03 М + Sodiumdiethyldithiocarbamate для створення гомогенного інокулюму;

– інокуляцію проводили на сім'ядолях рослин колекційних зразків у віці 7–10 діб після обробки їх карбідом кремнію (SiC).

4. Пересадка рослин у ґрунт через 3 доби.

5. Проведення оцінки через 20 діб після обробки.

Наприкінці робіт на дослідній ділянці з висадженими у ґрунт зразками землю, реманент і тару дезінфікували хімічним способом (хлорним вапном). Усі післязбиральні рештки були знищені на місці проведення дослідю.

Таблиця 3

**Послідовність виконання дослідю за етапами**

<b>Варіанти</b>	<b>День дослідю</b>	<b>Процедура</b>
Контроль	0	Висадка насіння в рулони
Буфер	0	Висадка насіння в рулони
Вірус	0	Висадка насіння в рулони
Контроль	4	Пересадка з рулону в субстрат
Буфер	4	Пересадка з рулону в субстрат
Вірус	4	Пересадка з рулону в субстрат
Контроль	7	Інокуляція вірусом
Буфер	7	Інокуляція вірусом
Вірус	7	Інокуляція вірусом
Контроль	10	Пересадка рослин в ґрунт
Буфер	10	Пересадка рослин в ґрунт
Вірус	10	Пересадка рослин в ґрунт
Контроль	27	Оцінка ступеню ураження
Буфер	27	Оцінка ступеню ураження
Вірус	27	Оцінка ступеню ураження

Оцінка стійкості експериментальних зразків кабачка до вірусу жовтої мозаїки кабачка проводилася на основі «Методики проведення фітопатологічних досліджень за штучного зараження»<sup>6</sup>. Згідно із цією методикою, в процесі проведення наукової роботи була використана 9-бальна шкала оцінки ступеню стійкості рослин

<sup>6</sup> Методика проведення фітопатологічних досліджень за штучного зараження рослин. Затверджено Наказом Міністерства аграрної політики та продовольства України 12 грудня 2016 р. № 540. 76 с. URL: <https://sops.gov.ua/uploads/page/5a5f418eb746e.pdf>.

кабачка до вірусу жовтої мозаїки кабачка (див. схему на табл. 4). Максимальна стійкість відповідає 9 балам, мінімальна стійкість – 1 балу. Розвиток хвороби визначили за 9-бальною шкалою ураження з градаціями ознак: ураження поверхні рослини або окремого органу відсутнє (високостійкий зразок, бал 9 шкали РЕВ); слабе ураження, хворобою уражено від 0,1 до 10% листового апарату рослин (стійкий, бал 7); середнє ураження від 10,1 до 25% рослин (середньостійкий, бал 5); сильне – від 26,1 до 50% рослин (сприйнятливий, бал 3); дуже сильне – понад 50,1% (високосприйнятливий, бал 1).

Таблиця 4

**Класифікація стійкості/ураження/пошкодження за технічної експертизи генотипів рослин щодо їх придатності до поширення**

Інфекційний клас	Бал		Клас пошкодження	Бал	
	стійкості	ураження		стійкості	ураження
відсутнє або дуже слабе (1–10%)	9 (високостійкі)	1	відсутнє або дуже слабе	9 (високостійкі)	1
слабе (11–25%)	7 (стійкі)	3	слабе (10–30%)	7 (стійкі)	3
середнє (26–50%)	5 (середньостійкі)	5	середнє (31–50%)	5 (середньостійкі)	5
сильне (51–75%)	3 (не стійкі або сприйнятливі)	7	сильне (51–70%)	3 (не стійкі або сприйнятливі)	7
дуже сильне (> 75%)	1 (дуже нестійкі)	9	дуже сильне (> 70%)	1 (дуже нестійкі)	9

Наявність вірусу жовтої мозаїки кабачка в кожному опрацьованому зразку була підтверджена проведеним імуноферментативним аналізом (використано набір (Bioreba DAS-ELISA)<sup>7</sup>.

<sup>7</sup> EPPO (2015) PM7/125 (1) ELISA tests for viruses. EPPO Bulletin. Vol. 45. P. 445–449. <https://doi.org/10.1111/epp.12259>.



## **2. Результати лабораторної оцінки ступеню стійкості до вірусу жовтої мозаїки лінійних і гібридних зразків кабачка**

У таблиці 4 наведено дані щодо розподілу проаналізованих ліній кабачка за стійкістю до вірусу жовтої мозаїки за бальною шкалою після проведеного тестування. За результатами трирічних спостережень найвищим рівнем стійкості відзначилися три лінійні генотипи – ЛК 17-7, ВЛ-90 та ВЛ-91 (9 балів). До стійких форм на рівні 7 балів слід зарахувати три лінійні генотипи – ЛК 17-11, ЛК 17-42 та ВЛ-92. Найбільша кількість лінійних генотипів, загальною кількістю 12 зразків, продемонстрували середню стійкість до ураження вірусом (5 балів за класифікаційною шкалою, наведеною на рис. 1). До цієї групи зразків належить сорт-стандарт української селекції Чаклун. Середньостійкими виявилися такі лінії – ЛК 17-1, ЛК 17-2, ЛК 17-8, ЛК 17-10, ЛК 17-44, ЛК 17-45, ЛК 17-47, ЛК 17-49, ЛК 17-50, NGB 556.1, Zelena, РВЛ-19. Найбільш сприйнятливими до ураження вірусом виявилися 4 лінії – ЛК 17-4, ЛК 17-5, Waitham Butternut та Vedi. Як свідчать дані таблиці 4, окремі лінійні генотипи в певні роки досліджень мали різну реакцію на штучне ураження рослин вірусом жовтої мозаїки. Про це свідчать різні значення балу стійкості, одержані в певні роки проведення досліду. Для подальшої селекційної роботи важливо виділити ті лінійні зразки, які відзначилися найбільшою стабільністю прояву ознаки стійкості. Якщо проаналізувати лінійний матеріал за цим критерієм, то найбільш стабільним серед високостійких генотипів варто визнати зразок ЛК 17-7. Серед стійких ліній найбільш стабільну реакцію продемонстрували два зразки – ЛК 17-11 і ЛК 17-42. Серед середньостійких ліній стабільністю прояву цієї ознаки визначилися сорт-стандарт Чаклун та ще п'ять зразків – ЛК 17-1, ЛК 17-8, ЛК 17-44, ЛК 17-47 і Zelena. До найбільш нестійких ліній слід зарахувати зразок Vedi (табл. 5).

Як свідчать дані таблиці 5, гібриди  $F_1$  мали більш високий генетичний потенціал стійкості до штучного ураження вірусом жовтої мозаїки. Серед дослідженої групи гібридів  $F_1$  іноземного походження три зразки відзначилися найбільшою стійкістю на рівні 9 балів – Mikinos  $F_1$ , Cronos  $F_1$  та Afrodite  $F_1$ . Група стійких гібридних зразків налічувала 6 зразків – Celeste  $F_1$ , SV 1118 YG  $F_1$ , Defender  $F_1$ , Firenze  $F_1$ , Eight Ball  $F_1$ , Tuscany  $F_1$ . Як і у випадку з лінійними зразками, найбільша частка гібридів першого покоління належить до групи середньостійких. До цієї групи входять гібрид-стандарт Patriot  $F_1$  та ще дев'ять зразків – Alexander  $F_1$ , Gold Rush

F<sub>1</sub>, Midnight F<sub>1</sub>, Best of British F<sub>1</sub>, Jaguar F<sub>1</sub>, Parador F<sub>1</sub>, Paycheck F<sub>1</sub>, Ambassador F<sub>1</sub>, Alfresco F<sub>1</sub>. І лише один гібридний зразок Rimini F<sub>1</sub> виявився нестійким на штучне ураження вірусом жовтої мозаїки.

За стабільністю прояву ознаки стійкості на штучне ураження серед високостійких генотипів лідерство належить гібриду Mikinos F<sub>1</sub>.

Таблиця 5

**Розподіл ліній кабачка на групи  
за стійкістю до вірусу жовтої мозаїки**

№ з/п	Зразок (лінії)	Бал стійкості			Бал стійкості за середніми даними по роках досліджень
		2017 р.	2018 р.	2019 р.	
1.	ЛК 17-7	7	9	9	9
2.	ВЛ-91	9	7	9	9
3.	ВЛ-90	7	7	9	9
4.	ЛК 17-42	7	7	7	7
5.	ЛК 17-11	7	7	7	7
6.	ВЛ-92	7	7	5	7
7.	ЛК 17-49	5	5	7	5
8.	ЛК 17-50	5	5	7	5
9.	ЛК 17-2	5	5	7	5
10.	NGB 556.1	5	7	5	5
11.	ЛК 17-45	3	7	7	5
12.	Сорт Чаклун, st	5	5	5	5
13.	ЛК 17-47	5	5	5	5
14.	ЛК 17-8	5	5	5	5
15.	ЛК 17-44	5	5	5	5
16.	Zelena ( <i>C. pepo</i> var. <i>giromontiina</i> )	5	5	5	5
17.	ЛК 17-1	5	5	5	5
18.	РВЛ-19	5	3	5	5
19.	ЛК 17-10	5	5	1	5
20.	ЛК 17-5	3	3	5	3
21.	ЛК 17-4	5	3	3	3
22.	Waitham Butternut	9	1	1	3
23.	ЛК 17-48	5	1	5	3
24.	Vedi	1	1	5	3

До групи стійких генотипів слід зарахувати п'ять зразків – Celeste F<sub>1</sub>, SV 1118 YG F<sub>1</sub>, Defender F<sub>1</sub>, Firenze F<sub>1</sub> і Eight Ball F<sub>1</sub>.

До стабільно середньостійких форм кабачка за даними трирічних досліджень слід зарахувати чотири зразки – Parador F<sub>1</sub>, Paycheck F<sub>1</sub>, Ambassador F<sub>1</sub> і Alfresco F<sub>1</sub>.

Таблиця 6

**Розподіл гібридів F<sub>1</sub> кабачка на групи за стійкістю до вірусу жовтої мозаїки**

№ з/п	Зразок (гібриди F <sub>1</sub> )	Бал стійкості			Бал стійкості за середніми даними по роках досліджень
		2017 р.	2018 р.	2019 р.	
1.	Mikinos F <sub>1</sub>	9	9	9	9
2.	Cronos F <sub>1</sub>	9	7	9	9
3.	Afrodite F <sub>1</sub>	7	9	9	9
4.	Celeste F <sub>1</sub>	7	7	7	7
5.	SV 1118 YG F <sub>1</sub>	7	7	7	7
6.	Defender F <sub>1</sub>	7	7	7	7
7.	Firenze F <sub>1</sub>	7	7	7	7
8.	Eight Ball F <sub>1</sub>	7	7	7	7
9.	Tuscany F <sub>1</sub>	7	5	7	7
10.	Alexander F <sub>1</sub>	5	7	7	5
11.	Gold Rush F <sub>1</sub>	7	5	7	5
12.	Midnight F <sub>1</sub>	7	5	5	5
13.	Patriot F <sub>1</sub> , st	7	5	5	5
14.	Best of British F <sub>1</sub>	7	5	5	5
15.	Jaguar F <sub>1</sub>	5	5	7	5
16.	Parador F <sub>1</sub>	5	5	5	5
17.	Paycheck F <sub>1</sub>	5	5	5	5
18.	Ambassador F <sub>1</sub>	5	5	5	5
19.	Alfresco F <sub>1</sub>	5	5	5	5
20.	Rimini F <sub>1</sub>	3	3	5	3

Окрім бальної оцінки рівня стійкості досліджених зразків кабачка, було проведено їх аналіз за ступенем розвитку хвороби за інфекційними класами, наведеними на схемі на рисунку 1. Цей аналіз дає змогу проаналізувати рівень стійкості генотипів кабачка за параметричними методами статистики, оскільки розмахи варіювання цих інфекційних класів являють собою чисельні показники, до яких можна застосовувати традиційну статистичну обробку даних. У таблицях 7 і 8 висвітлено дані щодо ступеню розвитку хвороби лінійних і гібридних зразків кабачка відповідно. Як критерій рівня варіювання показника ступеня розвитку хвороби

за роками досліджень у роботі використовувалися два статистичних показника – коефіцієнт варіації ( $V$ ) та помилка середньої арифметичної ( $m_x$ ).

Аналіз ступеню розвитку хвороби в лінійних зразків дав змогу більш детально їх диференціювати за рівнем стабільності цього показника по роках досліджень. Особливо це важливо для тих генотипів, які за бальною шкалою відрізнялися рівнем стійкості до ураження вірусом жовтої мозаїки на рівні балів 7 і 9. Як свідчать дані таблиці 6, найменший рівень коефіцієнта варіації ( $V < 5\%$ ) належить єдиному зразку ЛК 17-44, який належить до групи середньостійких генотипів. Виділилася група лінійних зразків, в яких варіація цього показника була помірною ( $V = 6\text{--}16\%$ ). Серед них – ЛК 17-11, ЛК 17-47, ЛК 17-50, Zelena, з яких зразок ЛК 17-11 належить до групи стійких, інші – до групи середньостійких. Інші два зразки, які позначилися стійкістю до ураження вірусом на рівню балу 7 (табл. 5), мали такі показники розвитку хвороби: ЛК 17-42 ( $20,7 \pm 2,83\%$ ,  $V = 23,76\%$ ), ВЛ-92 ( $21,6 \pm 3,02\%$ ,  $V = 24,26\%$ ). Ці лінії мали порівняно високі значення коефіцієнту варіації, але вони продемонстрували достатній прогнозований результат і можуть бути безпосередньо залучені в селекційну роботу. Дуже великою варіацією показника розвитку хвороби позначилися зразки ВЛ-90 ( $7,6 \pm 3,80\%$ ,  $V = 86,64\%$ ) і ВЛ-91 ( $7,1 \pm 3,55\%$ ,  $V = 86,67\%$ ), які належать до групи високостійких генотипів. Цей експериментальний факт свідчить про необхідність більш детального дослідження цих ліній на предмет стійкості до вірусу жовтої мозаїки для остаточного з'ясування їх рівня резистентності. В однієї з найкращих ліній за ступенем стійкості ЛК 17-7 коефіцієнт варіації дорівнював  $V=20,78\%$ , тобто, на відміну від двох попередніх, ця лінія мала більш прогнозований результат за ступенем розвитку хвороби і тому може бути безпосередньо залучена в селекційну роботу без додаткового вивчення. За узагальненими трирічними даними, середньостійкий сорт-стандарт Чаклун мав показники ступеня розвитку хвороби  $27,8 \pm 3,54\%$  ( $V = 22,0\%$ ).

Як свідчать дані таблиці 8, серед гібридних зразків, які за ступенем стійкості до штучного ураження вірусом жовтої мозаїки мали рівні стійкості на рівні балів 7 і 9, мало місце значне варіювання показника розвитку ступеня хвороби.

Таблиця 7

**Оцінка ступеня розвитку хвороби на лінійних зразках кабачка в разі зараження вірусом жовтої мозаїки, середнє за 2017–2019 рр.**

№ з/п	Назва лінії	Ступінь розвитку хвороби, %			Коефіцієнт варіації, V (%)	$X_{med} \pm m_{xy}$ , %
		2017 р.	2018 р.	2019 р.		
1.	Сорт Чаклун, st	30,5	32,1	20,8	22,0	27,8 ± 3,54
2.	ЛК 17-2	34,2	30,0	20,1	25,76	28,1 ± 4,18
3.	ЛК 17-1	31,4	50,1	33,0	27,16	38,2 ± 5,98
4.	ЛК 17-5	63,1	60,3	34,4	30,08	52,6 ± 9,14
5.	ЛК 17-4	30,7	70,2	65,0	38,81	55,3 ± 12,39
6.	ЛК 17-47	38,2	32,1	30,5	12,09	33,6 ± 2,35
7.	ЛК 17-8	30,3	70,2	40,2	44,30	46,9 ± 12,0
8.	ЛК 17-7	12,6	8,8	9,1	20,78	10,2 ± 1,22
9.	NGB 556.1	30,2	21,4	30,8	19,16	27,5 ± 3,04
10.	РВЛ-19	31,2	60,0	28,1	44,24	39,8 ± 10,16
11.	ЛК 17-50	31,8	32,9	25,2	13,90	30,0 ± 2,40
12.	ЛК 17-11	23,6	20,1	25,7	12,23	23,1 ± 1,63
13.	ЛК 17-10	31,3	29,9	88,1	66,72	49,8 ± 19,17
14.	ЛК 17-48	34,2	78,6	50,5	41,26	54,4 ± 12,97
15.	ЛК 17-45	51	20,1	18,4	61,51	29,8 ± 10,59
16.	ЛК 17-49	36	37,1	25,6	19,29	32,9 ± 3,66
17.	ЛК 17-42	22,1	24,7	15,2	23,76	20,7 ± 2,83
18.	ВЛ-90	11,2	11,6	0,0	86,64	7,6 ± 3,80
19.	ВЛ-91	0,0	10,9	10,4	86,67	7,1 ± 3,55
20.	ВЛ-92	16,7	20,9	27,1	24,26	21,6 ± 3,02
21.	Vedi	89	87,5	40,1	38,52	72,2 ± 16,06
22.	ЛК 17-44	32,7	32,9	30,2	4,71	31,9 ± 0,87
23.	Waitham Butternut	3,5	89,2	79,5	81,76	57,4 ± 27,10
24.	Zelena ( <i>C. pepo</i> var. <i>giromontina</i> )	41,0	37,1	33,0	10,80	37,0 ± 2,31

Найменше значення коефіцієнту варіації належить гібриду Руческ F<sub>1</sub> (V = 5,96%), який за проявом стійкості до вірусу належить до середньостійких.

**Оцінка ступеня розвитку хвороби  
на гібридних зразках кабачка в разі зараження  
вірусом жовтої мозаїки, середнє за 2017–2019 рр.**

№ з/п	Назва гібрида F <sub>1</sub>	Ступінь розвитку хвороби, %			Коефіцієнт варіації, V (%)	X <sub>med</sub> ± m <sub>св</sub> , %
		2017 р.	2018 р.	2019 р.		
1.	Patriot F <sub>1</sub> , st	21,5	34,6	30,9	23,29	29,0 ± 3,90
2.	Afrodite F <sub>1</sub>	20,1	0,0	11,8	94,99	10,6 ± 5,83
3.	Alexander F <sub>1</sub>	45,1	24,8	23,2	39,34	31,0 ± 7,05
4.	Alfresco F <sub>1</sub>	30,5	30,5	35,1	8,29	32,0 ± 1,53
5.	Ambassador F <sub>1</sub>	34,9	38,1	29,8	12,22	34,3 ± 2,42
6.	Best of British F <sub>1</sub>	25,1	30,2	33	13,61	29,4 ± 2,31
7.	Celeste F <sub>1</sub>	15,7	20,0	21,1	15,07	18,9 ± 1,65
8.	Cronos F <sub>1</sub>	10,1	12,8	0,0	88,39	7,6 ± 3,90
9.	Defender F <sub>1</sub>	16,9	20,6	21,0	11,59	19,5 ± 1,31
10.	Eight Ball F <sub>1</sub>	21,4	24,0	21,9	6,15	22,4 ± 0,80
11.	Firenze F <sub>1</sub>	20,0	22,7	22,8	7,28	21,8 ± 0,92
12.	Gold Rush F <sub>1</sub>	24,0	39,1	24,1	29,89	29,1 ± 5,02
13.	Midnight F <sub>1</sub>	20,6	38,2	36,0	30,35	31,6 ± 5,54
14.	Parador F <sub>1</sub>	24,4	37,3	28,0	22,26	29,9 ± 3,84
15.	Paycheck F <sub>1</sub>	30,0	30,2	27,1	5,96	29,1 ± 1,0
16.	Rimini F <sub>1</sub>	69,0	67,2	40,0	27,66	58,7 ± 9,38
17.	SV 1118 YG F <sub>1</sub>	18,1	16,2	20,0	10,50	18,1 ± 1,10
18.	Tuscany F <sub>1</sub>	17,9	38,2	20,0	44,01	25,4 ± 6,45
19.	Jaguar F <sub>1</sub>	28,4	26,2	25,2	6,15	26,6 ± 0,95
20.	Mikinos F <sub>1</sub>	0,0	10,1	9,2	86,88	6,4 ± 3,23

Ще п'ять гібридів, Jaguar F<sub>1</sub>, Eight Ball F<sub>1</sub>, Firenze F<sub>1</sub>, Paycheck F<sub>1</sub> і Alfresco F<sub>1</sub> мали помірні значення коефіцієнту варіації (V = 6–10%). При цьому гібриди Jaguar F<sub>1</sub>, Paycheck F<sub>1</sub> і Alfresco F<sub>1</sub> належали до групи середньостійких зразків, а гібриди Eight Ball F<sub>1</sub> і Firenze F<sub>1</sub> – до стійких генотипів (табл. 6). Усі три гібриди (Afrodite F<sub>1</sub>, Cronos F<sub>1</sub>, Mikinos F<sub>1</sub>), які мали високу стійкість до штучного зараження вірусом на рівні балу 9 (табл. 6) за показником «Ступінь розвитку хвороби», мали дуже сильну варіабельність значень за роками досліджень (V > 50%) (табл. 8). На противагу цьому, група з шести гібридів, які мали стійкість до вірусу на рівні балу 7, позначилися меншою варіацією показника «Ступінь розвитку хвороби» за роками досліджень (табл. 6). Саме ці гібриди варто визнати найбільш перспективними для подальшої селекційної роботи – Celeste F<sub>1</sub> (18,9 ± 1,65%, V = 15,07%), Defender F<sub>1</sub> (19,5 ± 1,31%, V = 11,59%), Eight Ball F<sub>1</sub> (22,4 ± 0,80%, V = 6,15%),

Firenze F<sub>1</sub> (21,8 ± 0,92%, V = 7,28), SV 1118 YG F<sub>1</sub> (18,1 ± 1,10%, V = 10,50%) та Tuscany F<sub>1</sub> (25,4 ± 6,45%, V = 44,01).

### 3. Результати біоінформаційного пошуку еукаріотичного транскрипційного фактора eIF4E кабачка

Молекулярно-генетичні дослідження показали, що у відповідь на біотичний стрес реалізуються генетичні програми, які супроводжуються диференціальною експресією генів різних функцій, у тому числі пов'язаних зі стійкістю до вірусів<sup>8</sup>. Ці гени можна поділити на дві групи. Перша група – гени, продукти яких беруть участь у фізіологічних процесах, пов'язаних із підвищенням рівня стійкості до біотичних стресів. Друга група – гени транскрипційних факторів, які регулюють експресію генів першої групи. Значний інтерес становлять гени транскрипційних факторів, які реагують на дію біотичного стресу. До них можна зарахувати еукаріотичний транскрипційний фактор eIF4E<sup>9</sup>. Він відіграє ключову роль у формуванні стійкості до родини *Potyvirus* в багатьох видів рослин – кавун, диня, тиква, томат тощо. Для пошуку генів еукаріотичного транскрипційного фактора eIF4E кабачка серед генів, передбачених у геномі кабачка, використовували базу даних NCBI (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/nucscore/>). Проведений пошук у NCBI показав наявність двох послідовностей мРНК, які анотовані за номерами XM\_023685756.1 та XM\_023663719.1. Розмір послідовностей мРНК становив 1135 та 1162 п.н. для XM\_023685756.1 та XM\_023663719.1 відповідно. Відомо, що стійкість до *Potyvirus* у рослин успадковується рецесивно<sup>10</sup>. До цієї родини належить також ZYMV.

Аналіз секвенованої послідовності XM\_023685756.1 показав наявність рамки зчитування з 96 по 803 нуклеотид, а для послідовності XM\_023663719.1 вона розпочинається зі 148 та закінчується 855 нуклеотидом. Саме з цих послідовностей

---

<sup>8</sup> Domingo E., Holland, J. J., Morse S. S. The Evolutionary Biology of Viruses. Mutation rates and rapid evolution of RNA viruses. New York: Raven Press, 1994. P. 161–184.

<sup>9</sup> Сиволоб А. В. Молекулярна біологія. Київ : Видавничо-поліграфічний центр «Київський університет», 2008. С. 221–274.

<sup>10</sup> Paris H.S., Cohen S. Oligogenic inheritance for resistance to zucchini yellow mosaic virus in *Cucurbita pepo*. Ann. Appl. Biol. 2000. Vol. 136. P. 209–214. URL: <https://doi.org/10.1111/j.1744-7348.2000.tb00027.x>

відбувається трансляція білка. Ці послідовності розташовані в 9 та 20 групах зчеплення відповідно.

Попарне вирівнювання цих послідовностей показало, що вони ідентичні на 89%. Детальний аналіз дав змогу ідентифікувати 12 інделей та різні типи нуклеотидних замін, які належать до трансверсій та транзицій (рис. 1).

Query	3	CGAGGGCGGTGCCATTCTTCTTCCCTTCGGTCCCTCCATTGATTCATTCTCTGATT	62
Sbjct	67	.....-----T.....G..CT..A...A	118
Query	63	CGCTCAATCCACAAACGAATAGTGAAGAAAAATGGTAGTCGAAGAGACGATCAAGGCT	122
Sbjct	119	.....G.....-G.....C..C.....A...	174
Query	123	CCATCGGCGGAAGATCTCTCCAATTCCATTGGAAATCAAAAACCTAGGGGACGAGGCGCT	182
Sbjct	175	A...AT.....T..T.....C.C.....AA.	234

**Рис. 1. Фрагмент двох послідовностей ДНК кабачка**

Кількість ідентичних амінокислотних остатків у вирівняних послідовностях становила 223 із 235, що дорівнює 95%. Після аналітичного аналізу інформації щодо еукаріотичного транскрипційного фактора eIF4E ми провели пошук подібних послідовностей в інших споріднених видів кабачка. Після активації програми BLAST із заданими параметрами було ідентифіковано гомологічні ділянки ДНК до eIF4E. Гомологічні ділянки було ідентифіковано в таких видів: *Cucurbita moschata*, *Cucurbita maxima*, *Momordica charantia*, *Citrullus lanatus*, *Cucumis sativus*, *Cucumis zeyherii*, *Cucumis melo*. Аналіз проводився щодо послідовності, яка анотована під записом XM\_023685756.1. Гомологія становила від 85 до 97%. Мінімальний рівень гомології був ідентифікований між *Cucurbita pepo* та *Cucurbita maxima* XM\_023145698.1, а максимальний рівень гомології – між *Cucurbita pepo* та *Cucurbita moschata* XM\_023098997.1. Детальний порівняльний аналіз показав наявність 51 вставки та делецій, що становило 5%. На наступному етапі ми провели дизайн праймерів для подальшої ідентифікації гена eIF4E із метою порівняння послідовностей у стійких та нестійких зразків кабачка. За основу ми брали послідовність XM\_023685756.1, на основі якої було розроблено прямий та зворотний праймери до рамки зчитування (CDS). Місце приєднання праймерів було вибрано на відстані приблизно в 20 нуклеотидів від початку та закінчення секвенованої послідовності рамки зчитування. Так, для прямого праймера була вибрана ділянка від



20 до 70-го нуклеотида, а для зворотного праймера – ділянка від 820 до 870 нуклеотида. У процесі проведення *in silico* ПЛР отримано продукт ампліфікації розміром 830 пн. Розрахункові параметри ПЛР були такими: 1 цикл – 95°C, 5 хв., 30 циклів – 95°C, 30 с, 55°C – 30 с, 72 °C – 1 хв.; фінальна елонгація – 72°C – 5 хв.

Query	27	CTTCGGTCCCTTCCATTGATTC	86
Sbjct	82	.....-T.....C..G...CT..A...A.....G...--T...-.G....	136
Query	87	GAAAGAAAAATGGTAGTCGAAGAGACGATCAAGGCTCCATCGGCGGAAGATCTCTCCAAT	146
Sbjct	137	...C.....C.....A...A...AT.....T...T...T...	196
Query	147	TCCATTGGAAATCAAACCCTAGGGGACGAGGCGCTGAGGAAGATGAGGAACTTGAGGAA	206
Sbjct	197	...C.C.....AA.....T.....C...G...	256
Query	207	GGAGAGATCGTTCGGCGCCGACGACCTCGAOCGCTCCAAATTTATCGGCGCGCATAGTGCAC	266
Sbjct	257	.....A.....G...T..C.....T.....T.....T	316
Query	267	CAGCCTCACCCCTCTGGAGCACCTTGGACCTTCTGGTTCGATAACCCTTCTGCCAAATCT	326
Sbjct	317	.....C.....T.....A...C.....G..C	376
Query	327	AAACAGGGCCATGGGGTGCCTATCCGACCGATTTATACCTTCTCTACTGTTGAGGAG	386
Sbjct	377	..G..A...C.....C.....C...G...	436
Query	387	TTTTGGAGTGTTTACAACAATATTCATCATCCAAGTAAATGGCAATTGAGGCGAGATTTG	446
Sbjct	437	...C.....C.....G.....	496
Query	447	TACTGCTTTAAACATCACATTTGAGCCTAAATGGGAGGATCCTGTTTTCGCAACGGAGGG	506
Sbjct	497	.....C.....ATA.....C.....T.....	556
Query	507	AAATGGACTGTGAACCTTTTCAAGGGGCAAAATCCGATAATGGCTGGCTGTACACGCTGCTT	566
Sbjct	557	.....T.....A.....C.....	616
Query	567	GCTATGATCGGAGAAACAGTTTGATTCGGCGACGAAATTTTGGAGCAGTTGTTAATGTC	626
Sbjct	617	.....T...T...T.....T...C..C..C	676
Query	627	AGATCTGGGCAGGATAAAAATATCGATTTGGACAAAGAATGCTCTAAATGAAGCTGCCCGAG	686
Sbjct	677	.....T.....C.....TG.....	736
Query	687	GCGAGCATTTGAAAAGCAGTGGAAAGGAGTTCCTTGATACAAATGCACAGCATTTGGCTTTATA	746
Sbjct	737	.....G.....T.....	796
Query	747	TTCCATGACGATCGGAAGAACTCGACACAGCATGCGAAGACCGGATACAGT--A-T--	801
Sbjct	797	.....C..A.....A.....GT.T...G.....A...A...G...GT.A..AT	856

Також нами розроблена пара праймерів для рівня експресії цього гена внаслідок дії вірусного зараження. У процесі проведення *in silico* ПЛР отримано продукт ампліфікації розміром 143 пн.

Назва	Послідовність, 5'-3'	Ta	Розмір, пн
Pepo_eIF4E_F(CDS)	CCCTTCGGTTCCTTCCATTGATT	55	830
Pepo_eIF4E_R(CDS)	GAGCATGCTTTGCACGTTTAGGAC		
Pepo_eIF4E_F(EXP)	CGCTGAGGAAGATGAGGAACTTGA	65	143
Pepo_eIF4E_R(EXP)	TTGGCAGAAGGGTTATCGAACCAG		

Для гібридизації праймерів була вибрана ділянка від 100 до 400 нуклеотидів та від 400 до 800 нуклеотидів для прямого та зворотного праймерів відповідно. Продукт ампліфікації, який мав утворитися, має бути розміром від 100 до 200 п.н. для вивчення експресії методом ПЛР у реальному часі. У процесі проведення *in silico* ПЛР отримано продукт ампліфікації розміром 143 пн. Розрахункові параметри ПЛР були такими: 1 цикл – 95 °C, 5 хв.,

30 циклів – 95 °С – 30 с, 65 °С – 30 с, 72 °С – 15с; фінальна елонгація – 72 °С – 5 хв.

Попереднє тестування пари праймерів до послідовності гена eIF4E показало позитивний результат з утворенням необхідного амплікона розміром 830 пн. Такий же самий результат був отриманий із використанням іншої пари праймерів з утворенням амплікона розміром 143 пн. На рисунку 3 представлено результати тестування праймерів.

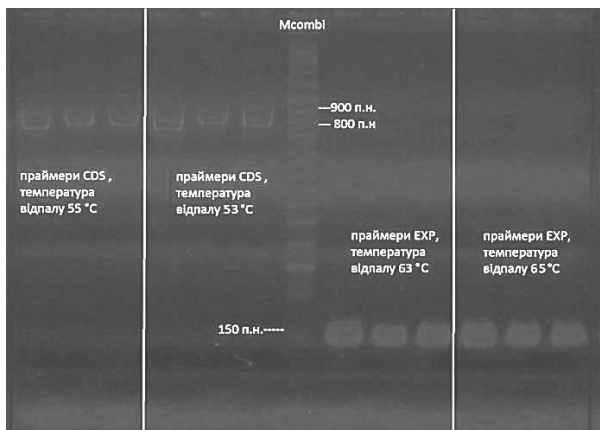


Рис. 2. Електрофореграма продуктів ампліфікації гена eIF4E кабачка

## ВИСНОВКИ

Таким чином, у проведених нами експериментах підтверджено високу ефективність методики механічного щеплення векторів вірусу жовтої мозаїки кабачка, яка передбачає розтирання інфекційної плазмідної ДНК і її подальше використання для штучного зараження нативних тканини рослин кабачка. Застосування цієї методики дало змогу досить контрастно диференціювати відібрані лінійні і гібридні зразки кабачка іноземного походження за ступенем стійкості до вірусу, а також проаналізувати розвиток хвороби в досліджених генотипів після штучного зараження. За результатами трирічних спостережень найвищим рівнем стійкості (9 балів) позначилися 3 лінії (ЛК 17-7, ВЛ-90 та ВЛ-91) і 3 гібриди (Mikinos F<sub>1</sub>, Cronos F<sub>1</sub>, Afrodite F<sub>1</sub>) кабачка. Аналіз заражених вірусом лінійних і гібридних зразків дав змогу більш детально їх розподілити за ступенем стабільності протікання симптомів хвороби. Виділено три лінії (ЛК 17-11, ЛК-

17-42, ВЛ-92), які позначилися стійкістю до ураження вірусом на рівні балу 7 та порівняно стабільним ступенем розвитку хвороби після їх штучного зараження ( $V = 20,7\text{--}23,1\%$ ). Аналогічно, за вищезначеним критерієм виділилися група з шести гібридів  $F_1$  (Celeste  $F_1$  Defender  $F_1$ , Eight Ball  $F_1$ , Firenze  $F_1$ , SV 1118 YG  $F_1$ , Tuscany  $F_1$ ), які також мали стійкість до вірусу на рівні балу 7 та відзначилися стабільним протіканням хвороби за роками досліджень ( $V = 10,5\text{--}44,0\%$ ).

Використання біоінформаційного методу для різних видів рослин, споріднених із кабачком, дало змогу визначити ступінь гомології гена eIF4E, яка відповідає за стійкість до вірусу жовтої мозаїки. На основі референсної послідовності розроблено дизайн праймерів до рамки зчитування та внутрішньої послідовності цього гена для оцінки його експресії. Тестування праймерів дало змогу ідентифікувати цільові амплікони розміром 143 та 830 п.н.

## **АНОТАЦІЯ**

Останніми роками серед сучасних фітовірусів в Україні найбільшого поширення на гарбузових овочевих видах рослин набув вірус жовтої мозаїки кабачка (ZYMV). Найбільш дієвими заходами протистояння цьому вірусу є вчасна діагностика та проведення профілактичних засобів із виділення рослин-резерваторів інфекції, визначення високоадаптивних джерел стійкості, створення і подальше запровадження в селекційну роботу стійких сортів і гібридів  $F_1$ . У роботі використовувалася робоча колекція ліній і гібридів  $F_1$  кабачка іноземного походження, яка налічувала 24 лінії і 20 гібридів  $F_1$ . За результатами трирічних спостережень найвищим рівнем стійкості (9 балів) позначилися 3 лінії ЛК 17-7, ВЛ-90 та ВЛ-91 і 3 гібриди (Mikinos  $F_1$ , Cronos  $F_1$ , Afrodite  $F_1$ ). Використання біоінформаційного методу для різних видів рослин, споріднених із кабачком, дало змогу визначити ступінь гомології гена eIF4E, яка відповідає за стійкість до вірусу жовтої мозаїки. На основі референсної послідовності розроблено дизайн праймерів до рамки зчитування та внутрішньої послідовності цього гена для оцінки його експресії. Тестування праймерів дало змогу ідентифікувати цільові амплікони розміром 143 та 830 п.н.

## **Література**

1. Zhang X., Jin L., Fang Q, Hui W.H., Zhou Z.H. 3.3 A cryo-EM structure of a nonenveloped virus reveals a priming mechanism for cell

entry. *Cell*. 2010. Vol. 141(3). P. 472–482. [https://doi: 10.1016/j.cell.2010.03.041](https://doi.org/10.1016/j.cell.2010.03.041).

2. Pflieger S.P., Richard M.M.S., Blanchet S., Meziadi C., Geffroy V.R. VIGS technology: an attractive tool for functional genomics studies in legumes. *Funct Plant Biol*. 2013. Vol. 40(12). P. 1234–1248. [https://doi:10.1071/FP13089](https://doi.org/10.1071/FP13089).

3. Brown R.N., Bolanos-Herrera A., Myers J.R. *et al.* Inheritance of resistance to four cucurbit viruses in *Cucurbita moschata*. *Euphytica*. 2003. Vol. 129. P. 253–258. <https://doi.org/10.1023/A:1022224327064>.

4. Hull R. Mechanical inoculation of plant viruses. *Curr Protoc Microbiol*. 2009. Chapter 16: P. 16B.6.1–16B.6.4. [https://doi:10.1002/9780471729259.mc16b06s13](https://doi.org/10.1002/9780471729259.mc16b06s13).

5. Методика проведення фітопатологічних досліджень за штучного зараження рослин. Затверджено Наказом Міністерства аграрної політики та продовольства України 12 грудня 2016 р. № 540. 76 с. URL: <https://sops.gov.ua/uploads/page/5a5f418eb746e.pdf>.

6. EPPO (2015) PM7/125 (1) ELISA tests for viruses. EPPO Bulletin. Vol. 45. P. 445–449. <https://doi.org/10.1111/epp.12259>.

7. Domingo E., Holland, J. J., Morse S. S. The Evolutionary Biology of Viruses. Mutation rates and rapid evolution of RNA viruses. New York: Raven Press, 1994. P. 161–184.

8. Сиволоб А. В. Молекулярна біологія. Київ : Видавничо-поліграфічний центр «Київський університет», 2008. С. 221–274.

9. Paris H.S., Cohen S. Oligogenic inheritance for resistance to zucchini yellow mosaic virus in *Cucurbita pepo*. *Ann. Appl. Biol*. 2000. Vol. 136. P. 209–214. URL: <https://doi.org/10.1111/j.1744-7348.2000.tb00027.x>

#### **Information about the authors:**

**Kondratenko Serhii Ivanovich,**

Doctor of Agricultural Sciences,

Head of Laboratory for Breeding of Nightshade and Pumpkin Crops

Institute of Vegetable Growing and Melon Growing

of the National Academy of Agrarian Sciences of Ukraine

1, Institutskaya str., Seleksiynе village, Kharkov region, 62478, Ukraine

**Lancaster Yuliya Mikolayivna,**

Plant Breeder

Tozer Seeds Ltd.

Pyports, Downside Bridge Road, Cobham, Surrey, KT11 3EH,

United Kingdom