



Рис. 1. Чувствительность тест-системы для детекции *Synchytrium endobioticum*

Таким образом, разработанная тест-система обеспечивает высокую чувствительность детекции (0,1 пг ДНК), а также хорошую воспроизводимость и видоспецифичность. На следующих этапах исследования необходимо проведение ее валидации на инфицированных образцах почвы и растительных тканей.

Список литературы

1. Хютти А. В., Коваленко Н. М. Рак картофеля снова требует внимания // Защита и карантин растений. 2008. № 5. С. 43.
2. Matrix approach to the simultaneous detection of multiple potato pathogens by real-time PCR / М. М. Nikitin, N. V. Statsyuk, P. A. Frantsuzov, V. G. Dzhavakhiya, A. G. Golikov // J. of Applied Microbiology. 2018. Vol. 124 (3). P. 797–809.

УДК 632.3.01

А. Б. Яремко, К. П. Корнев

ФГБУ «Всероссийский центр карантина растений»,
140150, Россия, Москва, р-н Бьково, ул. Пограничная, 32,
an_ya94@mail.ru

РАЗРАБОТКА И СОВЕРШЕНСТВОВАНИЕ МЕТОДОВ ВЫЯВЛЕНИЯ И ИДЕНТИФИКАЦИИ ВОЗБУДИТЕЛЯ БАКТЕРИАЛЬНОГО УВЯДАНИЯ (ВИЛТА) КУКУРУЗЫ *PANTOEA STEWARTII* SUBSP. *STEWARTII*

Ключевые слова: бактериальное увядание, вилт, кукуруза, диагностика.

Бактериальное увядание (вилт) кукурузы широко распространено на территории стран американского континента, где наносит значительный ущерб. В связи с внедрением сельскохозяйственных культур в новые регионы, расши-

рением площадей посевов, увеличением международной торговли подкарантинной продукцией и обмена семенным материалом заболевание может представлять ощутимую угрозу для южных районов Российской Федерации при завозе импортного посевного материала. Возбудитель заболевания *Pantoea stewartii* subsp. *stewartii* входит в Единый перечень карантинных объектов Евразийского экономического союза и является отсутствующим для территории Российской Федерации.

В настоящее время трудности существуют при выявлении и идентификации вида с набором опубликованных методов. В этой связи требуется оптимизация и совершенствование молекулярно-генетических методов выявления и идентификации возбудителя бактериального увядания (вилта) кукурузы *Pantoea stewartii* subsp. *stewartii*, методов выделения чистой культуры из зараженного семенного экстракта, проведения биотеста, методов оценки патогенности изолятов, а также разработка новых методов диагностики.

Для разработки молекулярно-генетических методов выявления и идентификации возбудителя были изучены последовательности генов *gyrB* (рис. 1), *rpoB*, *infB*, *atpD* [1] и *recA* [2], предложенные для изучения таксономического положения видов семейства *Pantoea*, в которое входит подвид *stewartii*. Первичное сравнение полученных нуклеотидных последовательностей с последовательностями базы данных GenBank проводили с помощью программы NCBI BLAST (<https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>) и редактора «BioEdit v.7.0.5.3». Проверку, выравнивание и редактирование последовательностей вручную проводили с помощью программы CodonCode aligner (CodonCode Corporation, USA; www.codoncode.com).



Рис. 1. Выравненные нуклеотидные последовательности полиморфного участка гена бета субъединица ДНК гиразы (*gyrB*).

Точками обозначена идентичность нуклеотидов в последовательностях видов семейства *Pantoea*, красным цветом выделены единичные различия между подвидами *Pantoea stewartii*

Полученные результаты в дальнейшем будут использованы для разработки молекулярно-генетических методов выявления идентификации возбудителя бактериального увядания (вилта) кукурузы *Pantoea stewartii* subsp. *stewartii*.

Список литературы

1. Phylogeny and identification of *Pantoea* species associated with plants, humans and the natural environment based on multilocus sequence analysis (MLSA) / С. Brady, I. Cleenwerck, S. Venter, M. Vancanneyt, J. Swings, T. Coutinho // Systematic and applied microbiology. 2008. Vol. 31. P. 447–460.
2. Wensing A., Zimmermann S., Geider K. Identification of the Corn Pathogen *Pantoea stewartii* by Mass Spectrometry of Whole-Cell Extracts and Its Detection with Novel PCR Primers // Applied and environmental microbiology. 2010. Vol. 76, № 18. P. 6248–6256.

УДК 632.4

Д. А. Уварова, Т. А. Сурина, М. Б. Копина

ФГБУ «Всероссийский центр карантина растений»,
140150, Россия, Москва, р-н Бьково, ул. Пограничная, 32
darya.uvarova.93@mail.ru

ОПТИМИЗАЦИЯ МОЛЕКУЛЯРНЫХ МЕТОДОВ ДИАГНОСТИКИ ВОЗБУДИТЕЛЯ КАРЛИКОВОЙ ГОЛОВНИ ПШЕНИЦЫ *TILLETIA CONTROVERSA*

Ключевые слова: пшеница, карликовая головня, идентификация, выделение ДНК, ПЦР.

Грибы рода *Tilletia* Tul. & C. Tul. относятся к наиболее опасным возбудителям болезней пшеницы. Их вредоносность заключается в снижении всхожести и ухудшении качества зерна, а также сокращении урожайности.

Одним из наиболее вредоносных заболеваний является карликовая головня пшеницы, вызываемая *Tilletia controversa* Kühn. Широкая специализация гриба способствует его акклиматизации при проникновении в новые районы. Патоген переносится с семенным материалом и, проникнув в районы с благоприятными климатическими условиями, поражает растения пшеницы, приводя к образованию очагов. Заболевание обычно проявляется по краям полей, у дорог, лесополос и лесных опушек в предгорных районах. Необходимо отметить, что *T. controversa* является кандидатом на включение в единый перечень карантинных объектов Евразийского экономического союза (ЕАЭС) и уже входит в карантинные перечни многих стран (например, Израиль, Монголия, Китай).

В настоящее время диагностика грибов рода *Tilletia* осуществляется в основном классическими методами: методом центрифугирования, методом микроскопирования и морфометрии. При этом некоторые виды рода имеют сходные морфологические характеристики, что затрудняет их диагностику. Например, *Tilletia caries* (DC.) Tul. & C. Tul., вызывающий твердую головню, и *T. controversa* J. G. Kühn, возбудитель карликовой головни, имеют сходную шаровидную форму телиоспор с хорошо выраженной сетчатостью. Поэтому разработка достоверных и специфичных методов диагностики является актуальной задачей.