

УДК 632.3.01/.08:632.92

**Е. Н. Лозовая, Ю. Н. Приходько, Т. С. Живаева,
Ю. А. Шнейдер, Е. В. Каримова**

*ФГБУ Всероссийский центр карантина растений
(ФГБУ «ВНИИКР»),
140150, Россия, Московская область, Раменский г.о.,
р.п. Быково ул. Пограничная, 32,
evgeniyaf@mail.ru*

РАЗРАБОТКА И СОВЕРШЕНСТВОВАНИЕ МЕТОДОВ ДИАГНОСТИКИ НЬЮ-ДЕЛИ ВИРУСА КУРЧАВОСТИ ЛИСТЬЕВ ТОМАТА

Ключевые слова: диагностика, Tomato leaf curl New Delhi virus (ToLCNDV).

Нью-Дели вирус курчавости листьев томата (ToLCNDV) является представителем рода Begomovirus семейства Geminiviridae. Род Begomovirus является самым крупным в семействе Geminiviridae и в настоящее время включает 388 видов.

ToLCNDV имеет широкий круг растений-хозяев, который включает в себя преимущественно растения семейств тыквенные (Cucurbitaceae) и пасленовые (Solanaeae), а также – семейств акантовые (Acanthaceae), амарантовые (Amaranthaceae), астровые (Asteraceae), бобовые (Fabaceae), вьюнковые (Convolvulaceae), гречишные (Polygonaceae), кариковые (Caricaceae), мальвовые (Malvaceae), молочайные (Euphorbiaceae) и сельдерейные (Apiaceae).

В ходе исследований проведено испытание 8 пар специфических праймеров для диагностики ToLCNDV методами классической ПЦР и ПЦР в реальном времени. Тест-объектами являлись референтные изоляты бегомовирусов: ToLCNDV, TYLCV, TYLCSV, ACMV и BGMV [1]. Испытания проводили с наборами реагентов для ПЦР фирм Диалат, Евроген, Синтол (все – Россия) и ThermoScientific (США).

Проведенные эксперименты показали возможность использования праймеров MA1788/MA1789 [2] для высокоспецифичного и чувствительного выявления ToLCNDV с наборами реагентов трех различных фирм-производителей.

Праймеры ToLCNDV-BF/ToLCNDV-BR [3] показали себя как высоко чувствительные к ToLCNDV и позволяющие выявлять целевой объект при разведениях инфекционного сока в 10^{-4} – 10^{-6} . Их наиболее целесообразно использовать для проведения подтверждающих тестов на наличие ToLCNDV.

Установлено что праймеры PadCPPVX F1/PadCPPVX R1 ([4] в модификации авторов) эффективно выявляют референтные изоляты PC-1109 и PC-1111 ToLCNDV, не реагируют при этом с нецелевыми изолятами других вирусов.

Констатировано, что праймеры ToLCNDV-2558F1/ToLCNDV-2557R1 ([5] в модификации авторов статьи) обладают высокой специфичностью, но низкой чувствительностью.

Праймеры JKR58 F/JKR 59R [6] не реагируют с изолятами 20 нецелевых вирусов, которые распространены на пасленовых и тыквенных овощных культурах и могут встречаться в смешанной инфекции с ToLCNDV. Кроме того установлена также очень высокая чувствительность тестов с праймерами JKR58 F/JKR 59R

По результатам проведенных экспериментов констатирована принципиальная возможность использования праймеров и зонда ToLA-Up/ToLA-Low/ToLA-Probe [7] для проведения скрининговых тестов на наличие ToLCNDV методом ПЦР в реальном времени.

Проведена валидация всех испытуемых праймеров с оценкой аналитической чувствительности, специфичности, повторяемости и воспроизводимости результатов.

Список литературы

1. Лозовая Е. Н., Приходько Ю. Н., Живаева Т. С., Шнейдер Ю. А. // Фитосанитария. Карантин растений. № 2(2). С. 41–54.
2. Fortes I.M., Sánchez-Campos S., Fiallo-Olivé E. et al. // Viruses. 2016. Vol. 8. 307.
3. Ruiz M. L., Simón A., Velasco L. et al. // Plant Disease. 2015. Vol. 99. 894.
4. Iqbal Z., Khurshid M. // Pakistan Journal of Zoology. 2017. Vol. 49(3). P. 1025–1031.
5. Alfaro-Fernández A., Sánchez-Navarro J.A., Landeira M. et al. // Journal of Plant Pathology. 2016. Vol. 98(2). P. 245–250.
6. Kumar R., Palicherla S. R., Mandal B., Kadiri S. // Australasian Plant Pathology. 2018. Vol. 47(1). P. 115–118.
7. Simon A., Ruiz L., Velasco L., Janssen D. // Plant Disease. 2018. Vol. 102. P. 165–171.