

МОЛЕКУЛЯРНАЯ ИДЕНТИФИКАЦИЯ ФИТОПЛАЗМЕННЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ НА ВИНОГРАДНИКАХ КРАСНОДАРСКОГО КРАЯ

Научный руководитель – Юрченко Евгения Георгиевна

Виноградова Светлана Владимировна

Кандидат наук

Федеральный исследовательский центр «Фундаментальные основы биотехнологии»
РАН», Москва, Россия
E-mail: sveta2506@bk.ru

В осенний период 2018 года было проверено фитосанитарное состояние одного из виноградников Краснодарского края Анапо-Таманской зоны Таманской подзоны для выявления растений, пораженных фитоплазмами. Проводили осмотр белого столового сорта винограда Августин. Отбор пораженных растений осуществляли в соответствии с типичными для данного заболевания симптомами. В результате обследования был отобран 21 образец, из которых впоследствии выделена ДНК [1] и проведен вложенный ПЦР с несколькими универсальными для детекции фитоплазм парами праймеров: на первом раунде - P1/P7 [1] и на втором - FU5/RU5 [3]. Результаты подтверждали с помощью праймеров R16F2n/R16R2, которые использовали на втором раунде ПЦР [2]. В 13 проанализированных образцах были получены ампликоны специфичных размеров. ПЦР-продукты, выделенные из геля, секвенировали в двух направлениях. Выравнивание полученных нуклеотидных последовательностей проводили в программе BLAST относительно последовательностей, представленных в базе данных. Изоляты, идентифицированные как *Candidatus Phytoplasma solani*, имели 99% схожести со штаммами, представленными в Генбанке. Все секвенированные фрагменты были использованы для сборки фрагмента межгенного спейсера 16S-23S рРНК, по которому проводили рестрикционный анализ с целью выявления группы патогена [2]. Анализ рестрикционного профиля позволил сделать вывод о принадлежности фитопатогена к группе столбура 16SrXII.

Работа выполнена на базе Экспериментальной установки искусственного климата (регистрационный номер УНУ U-73547) при поддержке Гранта Президента Российской Федерации МК-6087.2018.11.

Литература

1. Deng, S., Hiruki, C. Amplification of 16S rRNA genes from culturable and nonculturable Mollicutes // Journal of Microbiological Methods. 1991, №14, p. 53-61.
2. Lee, I.-M, Gundersen-Rindal, D., Davis, R.E., Bartoszyk, I.M. Revised classification scheme of phytoplasmas based on RFLP analysis of 16S rRNA and ribosomal protein gene sequences // International Journal of Systematic Bacteriology. 1998, №48. p. 1153-1169.
3. Lorenz, K.-H, Schneider, B., Ahrens, U., Seemuller, E. Detection of apple proliferation and pear decline phytoplasmas by PCR amplification of ribosomal and nonribosomal DNA // The American Phytopathological Society. 1995, №85(7). p. 771-776.
4. OEPP/EPPO. 2007// Bulletin OEPP/EPPO. Bulletin. 37. p. 536.