

СИСТЕМА ДЕТЕКЦИИ И КОЛИЧЕСТВЕННОЙ ОЦЕНКИ PECTOBACTERIUM ATROSEPTICUM НА КАРТОФЕЛЬНЫХ КЛУБНЯХ

Научный руководитель – Мирошников Константин Анатольевич

Лукьянова Анна Александровна

Аспирант

Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова, Биологический факультет, Кафедра микробиологии, Москва, Россия

E-mail: tamanshii@gmail.com

Pectobacterium atrosepticum (*Pat*) - фитопатогенная бактерия, признанная одним из наиболее значимых и агрессивных патогенов картофеля [1]. *Pat* быстро поражает клубни и сосудистую систему картофеля, вызывая мягкую гниль и вилт. Поскольку *Pat* не включен в список карантинных патогенов, инфицированный картофель может попадать на хранение вместе с незараженными клубнями, становясь источником распространения мягкой гнили. В результате в ходе хранения и транспортировки картофеля, может быть потеряно вплоть до половины полученного урожая [2]. Таким образом, для снижения возможных экономических потерь необходима система контроля и мониторинга распространения инфекции. Несмотря на то, что ранее были разработаны диагностикумы на основе ПЦР для детекции *Pat* [3], [4], [5], все они были разработаны до появления полногеномных данных и нескольких существенных ревизий, изменивших представление о таксономическом составе группы.

Целью данной работы была разработка и валидация более специфичной и современной системы детекции *Pat*, позволяющей проводить быструю количественную оценку зараженности картофеля.

Поиск видоспецифичных участков генома был проведен по собранной базе, содержащей все доступные данные (полные и draft-геномы) для представителей семейства *Pectobacteriaceae*, с использованием разработанного в лаборатории алгоритма. В результате был выбран участок гена АРС-пермеазы, консервативный для *Pat* и не имеющий сходства с последовательностями других геномов. Для участка были сконструированы праймеры и зонд. Точность идентификации была проверена на наборе из 109 штаммов, включавшем представителей как всех наиболее распространенных видов *Pectobacteriaceae*, так и изоляты сопутствующей микробиоты картофеля. Положительный сигнал был получен только в реакциях с *Pat*. Вычисленная эффективность ПЦР составила 99%, а предел детекции - 10^3 копий/мл. Добавление картофельного экстракта не показало снижения эффективности ПЦР. Корректность детекции была проверена на искусственно зараженных клубнях.

Таким образом, разработанная система позволяет детектировать *Pat* с высокой точностью и чувствительностью и может быть использована для оценки зараженности растительных образцов.

Источники и литература

- 1) Mansfield J. et al. Top 10 plant pathogenic bacteria in molecular plant pathology // Mol. Plant Pathol. 2012. Vol. 13, № 6. P. 614–629.
- 2) Bhat K. et al. Current Status of Post Harvest Soft Rot in Vegetables: A Review // Asian J. Plant Sci. 2010. Vol. 9.

- 3) De Boer S. H, Ward L. J. PCR detection of *Erwinia carotovora* subsp. *atroseptica* associated with potato tissue. // PCR Detect. *Erwinia Carotovora Subsp Atroseptica Assoc. Potato*
- 4) Frechon, D et al. Evaluation of a PCR kit for the detection of *Erwinia carotovora* subsp. *atroseptica* on potato tubers | SpringerLink // Eval. PCR Kit Detect. *Erwinia Carotovora Subsp Atroseptica Potato Tubers SpringerLink*. 1998. № 41. P. 163–173.
- 5) Smid E.J., Jansen A.H.J., Gorris L.G.M. Detection of *Erwinia carotovora* subsp. *atroseptica* and *Erwinia chrysanthemi* in potato tubers using polymerase chain reaction // *Plant Pathol*. 1995. Vol. 44, № 6. P. 1058–1069.