



ТЕНДЕНЦИИ И ПЕРСПЕКТИВЫ АГРОБИОТЕХНОЛОГИЙ

ВЫПУСК 2

МОЛЕКУЛЯРНАЯ ДИАГНОСТИКА БОЛЕЗНЕЙ РАСТЕНИЙ

Молекулярная диагностика фитопатогенов – это перспективное направление, широкое внедрение которого необходимо для отечественного сельского хозяйства. Получение стабильных высоких урожаев сельскохозяйственных культур часто зависит от эффективности защиты растений от болезней. Эффективная борьба с заболеваниями растений невозможна без своевременной идентификации заболеваний и правильного определения их возбудителей [1, 2].

Традиционная диагностика болезней на основе внешних признаков поражения растений имеет существенные недостатки и затруднена, если признаки



поражения совпадают у нескольких болезней, признаки поражения сходны с симптомами физиологических нарушений или воздействия абиотических факторов, симптомы слабо выражены или стадия болезни бессимптомна [3].

Данные проблемы, однако, можно решить с помощью методов молекулярной детекции фитопатогенов.

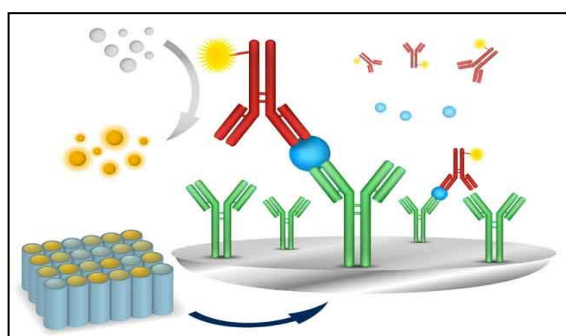
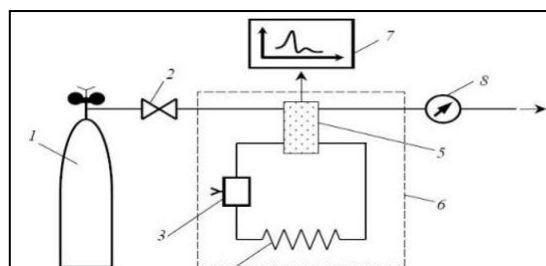
Более детальную информацию о результатах исследования можно получить в Центре прогнозирования и мониторинга агробиотехнологий ФГБОУ ВО РГАУ-МСХА имени К.А. Тимирязева: foresight@rgau-msha.ru, +7 (499) 977-72-01.

Над выпуском работали:
к.б.н. Александров О.С.
к.б.н. Романов Д.В.,
к.б.н. Дивашук М.Г.,
д.б.н. Карлов Г.И.,
д.т.н. Козлов Д.В.

Методы молекулярной диагностики

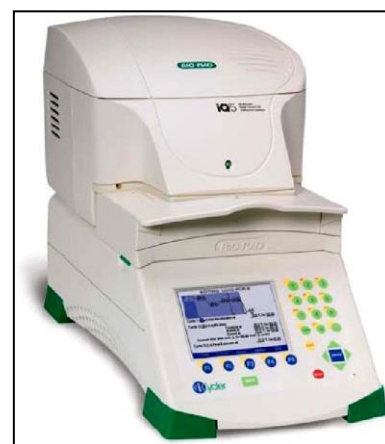


Группа методов 1 основана на выявлении специфических для конкретного патогена химических соединений. В качестве таких маркерных молекул могут быть использованы жирные кислоты, эргостерин, полиолы, хитин и др. Наличие данных метаболитов выявляется с помощью хроматографии [4, 5].



Группа методов 2 представляет собой спектр методов так называемой иммунодиагностики. Общий смысл данных методов сводится к образованию в образце комплексов «антиген – антитело» и последующей визуализации полученных комплексов. Для визуализации используются такие способы, как микроскопия иммунопреципитатов, фотометрия, флуориметрия и др. [6].

Группа методов 3 базируются на различных вариантах проведения полимеразной цепной реакции (ПЦР). Маркерные последовательности ДНК фитопатогенов амплифицируются и визуализируются с помощью электрофореза, флуориметрии в ходе «ПЦР в реальном времени», по конечной точке флуоресценции или с помощью флуоресценции при «микрочипировании» [7]. Важным преимуществом ПЦР является возможность идентификации патогена даже при следовых количествах возбудителя. Высокая



чувствительность метода позволяет выявлять целевой фитопатоген в смесях микроорганизмов и сложнокомпонентных биоматериалах.

Большинство из представленных подходов молекулярной диагностики – это быстрые, простые методы, позволяющие проводить эксперименты даже в условиях мобильных мини-лабораторий в поле. На основе данных методов в России и за рубежом выпускаются коммерческие наборы для выявления широкого спектра патогенов – диагностикумы [8].

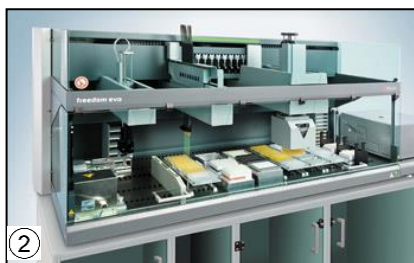
Молекулярные диагностикумы в России



Создание молекулярных диагностикумов активно ведётся в России, так как:

- зарубежные аналоги стоят дорого
- спектр патогенов отличается от зарубежных стран
- разработка новых наборов не требует сложного оборудования
- возникновение новых вирулентных рас патогенов требует постоянной разработки новых систем идентификации

В настоящее время востребованы и используются наборы-диагностикумы, предлагаемые ВНИИКХ, ИБХ РАН, фирмами «Синтол», «Агро-диагностика» и др. С



помощью предлагаемых диагностикумов возможна идентификация возбудителей болезней у таких культур, как картофель, свёкла, горох, томат, огурец, зерновые, плодовые культуры [8].

Создание диагностикумов – это не только разработка набора реактивов ①, но и создание новых технологий. Например, технология «ФИТОСКРИН» (ЗАО «Синтол», Москва) включает в себя элементы автоматизации и программные продукты ②.

Повышение производительности диагностики патогенов даёт ПЦР в режиме реального времени в матричном формате. Компания «Люмекс» (Санкт-Петербург) предлагает для этого ③ эффективный амплификатор [9].



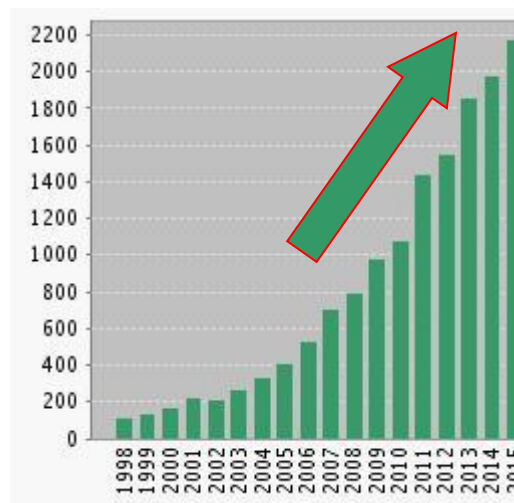
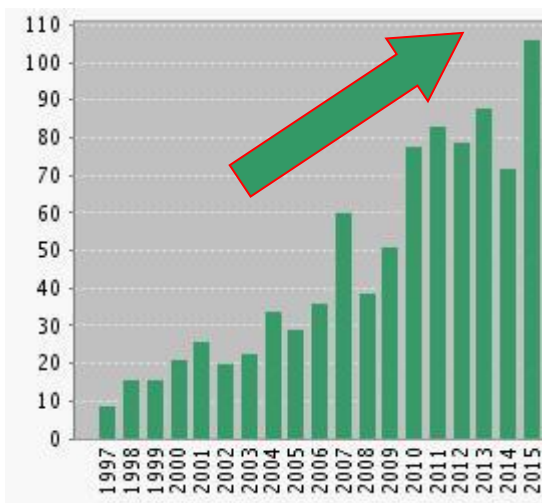
Преимущества ПЦР-диагностикумов:

- высокая скорость анализа
- точность анализа
- простота использования
- выявляют болезнь в бессимптомный период

Недостатки ПЦР-диагностикумов:

- ограниченный круг маркированных возбудителей
- возможность положительного результата при уже погибшем возбудителе

Будущее молекулярной диагностики



Динамика количества публикации, посвященных молекулярной диагностике болезней растений (слева) и цитирования (справа) [10].

В ближайшем будущем создание новых подходов молекулярной диагностики болезней растений и совершенствование уже существующих будет, несомненно, развиваться, о чём свидетельствует рост научных публикаций на эту тему. Тенденции будут заключаться в сокращении времени проведения анализов при той же или более высокой чувствительности методов. Тестирования будет переводиться в кинетический режим, при котором работа будет проводиться с помощью автоматических устройств с минимальным участием исследователя. Другая важная тенденция, – повышение производительности. Автоматические комплексы, разрабатываемые для рутинных ПЦР-исследований, позволят значительно увеличить количество одновременно исследуемых образцов. К тому же на данный момент уже имеются предпосылки для развития новых технологий, таких, как прямое секвенирование и использование сенсоров нового типа. Внедрение подобных наукоёмких технологий позволит проводить диагностику уже в ближайшее время на качественно новом уровне.

Использованные источники

1. Агро-портал Оренбургской области [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <http://agro-portal.su/fundamentalnaya-fitopatologiya/2151-sovremennye-metody-diagnostiki-fitopatogenov.html>
2. Дьяков Ю.Т., Еланский С.Н. Общая фитопатология. Учебное пособие — 2016. — 230 с.
3. Фундаментальная фитопатология / С. Ф. Багирова, В. Г. Джавахия, Ю. Т. Дьяков и др. — Красанд Москва, 2012. — С. 508.
4. Vasil'ev, L.A., Dzyubinskaya, E.V., Zinovkin, R.A. et al. Biochemistry Moscow (2009) 74: 1035.
5. Мысякина И.С., Фунтикова Н.С. Роль стерин в морфогенетических процессах и диморфизме грибов. // Микробиология. 2007. Т. 76. № 1. С. 5–18.
6. Jeong J., Ju H., Noh J. A Review of Detection Methods for the Plant Viruses. // Res. Plant Dis. 2014 20(3): 173-181.
7. Boonham N., Kreuze J., Winter S., van der Vlugt R., Bergervoet J., Tomlinson J., Mumford R. Methods in virus diagnostics: from ELISA to next generation sequencing. // Virus Res. 2014;186:20-31.
8. Сайт компании ООО «Агродиагностика». [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <http://www.agrodiagnostica.ru/pcr/>
9. Сайт компании «Люмекс». [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <http://www.lumex.ru/catalog/ariadna.php>
10. Web of Science [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <https://login.webofknowledge.com>