

ДЕТЕКЦИЯ И МОЛЕКУЛЯРНЫЙ АНАЛИЗ ВИРУСОВ В ДЕРЕВЬЯХ ИНЖИРА С СИМПТОМАМИ МОЗАИЧНОЙ БОЛЕЗНИ ПОСРЕДСТВОМ ВЫСОКОПРОИЗВОДИТЕЛЬНОГО СЕКВЕНИРОВАНИЯ

Моцарь Е. В.^{1*}, Шевелева А.А.¹, Шарко Ф.С.², Митрофанова И.В.³, Чирков С. Н.¹

¹Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, Москва, Россия

²Национальный исследовательский центр «Курчатовский институт», Москва, Россия

³Главный ботанический сад имени Н.В. Цицина РАН, Москва, Россия

*e-mail: elena.motsar31@gmail.com

Целью работы было изучение фитосанитарного статуса коллекции инжира в Никитском ботаническом саду (НБС) (г. Ялта, Крым) и молекулярная характеристика выявленных изолятов fig umbra-like virus (FULV).

Материалы и методы. При обследовании генофондовых коллекций НБС были обнаружены деревья с симптомами мозаичной болезни (fig mosaic disease, FMD). Из симптоматичных образцов была выделена общая РНК с помощью набора RNeasy Plant Mini Kit (Qiagen). На матрице тотальной РНК были синтезированы библиотеки кДНК, которые анализировали на секвенаторе Illumina NovaSeq 6000. Фильтрацию полученных прочтений по качеству и удаление адаптеров осуществляли с помощью программы Trim Galore v.0.6.5. Вирусспецифические контиги идентифицировали выравниванием всех полученных контигов на нуклеотидную коллекцию GenBank с использованием алгоритма BLASTn. Прочтения картировали на собранные вирусные контиги с помощью Bowtie2 v.2.4.4.

Результаты. Впервые в России **FULV** был обнаружен в пяти деревьях-каприфигах сорта Belle Dure (рис. 1). Были собраны и аннотированы полные геномы пяти российских изолятов длиной 2953-3076 нт (OR890003-OR890007), которые идентичны между собой на 99,4-99,9% и наиболее схожи (85,2 %) с гавайским изолятом Oahu1 (MW480892).

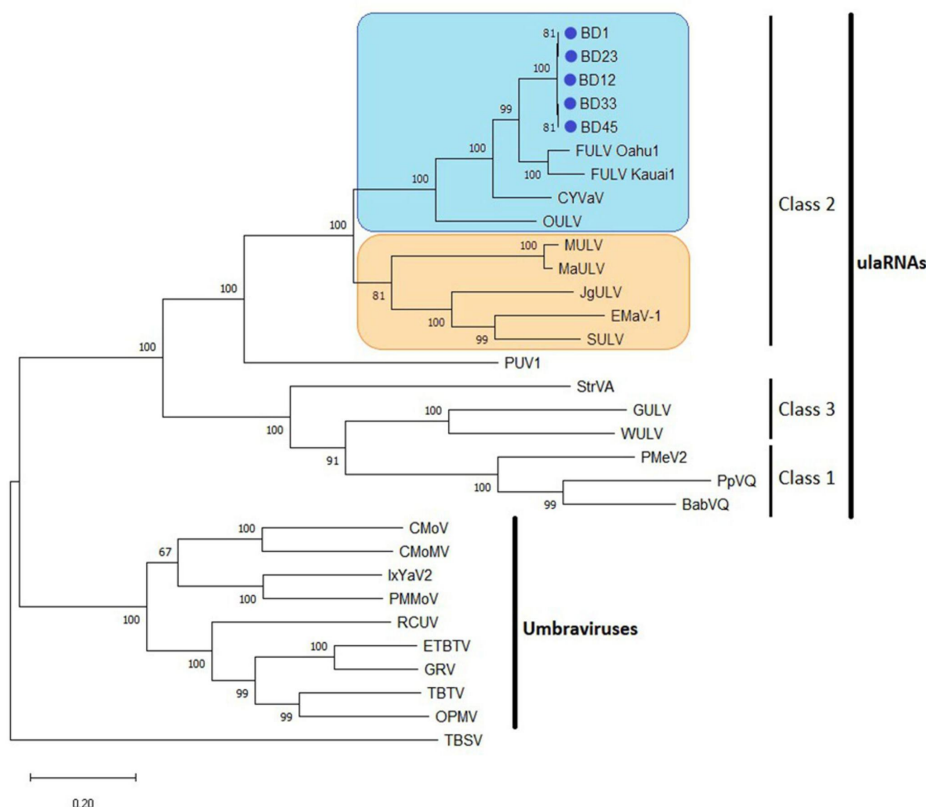


Рис. 2. Филогенетический анализ FULV, основанный на полногеномных последовательностях. Дерево реконструировано методом Maximum Likelihood. В узлах указаны значения бутстреп-поддержки. Шкала соответствует количеству нуклеотидных замен на сайт. Российские изоляты обозначены BD и синим кругом. Синим цветом обозначены умбраподобные вирусы, заражающие двудольные растения, оранжевым - однодольные.

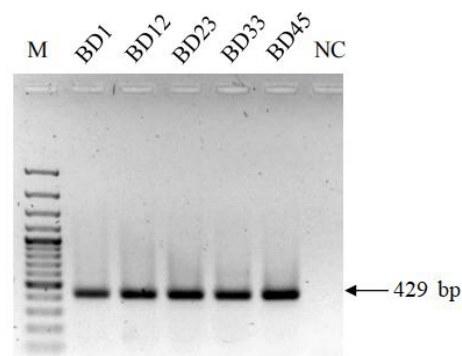


Рис. 1. Анализ продуктов ПЦР, полученных при диагностике FULV, с помощью электрофореза в геле агарозы. Номера деревьев инжира указаны поверх геля

Филогенетический анализ всех доступных полных геномов умбравирусов и умбра-подобных вирусов показал, что российские изоляты FULV образуют отдельную кладу (рис. 2). Сестринскую кладу составляют изоляты FULV, обнаруженные на инжире на Гавайях. Российские изоляты FULV относятся к умбра-подобным вирусам класса 2 (ulaRNAs, class 2), и, вероятно, являются высокодивергентными формами FULV.

Также были обнаружены прочтения, родственные **fig mosaic virus (FMV)**, **fig badnavirus 1 (FBV1)**, **grapevine badnavirus 1 (GBV1)**. Собранные полные геномы FBV1 идентичны между собой на 99,9-100%. Типичным для рода *Emaravirus* образом, геномы FMV представлены шестью одноцепочечными РНК. Изоляты FMV в каприфигах были идентичны на 98,4-99,9%. FBV1 и GBV1 на инжире бессимптомны. Роль FULV в модулировании симптомов FMD предстоит определить.