

Разработка и валидация методов диагностики вируса полосатой мозаики пшеницы (WSMV)

* ЖИВАЕВА Т.С.¹, ПРИХОДЬКО Ю.Н.²,
ЛОЗОВАЯ Е.Н.³, ШНЕЙДЕР Ю.А.⁴,
БАШКИРОВА И.Г.⁵, КАРИМОВА Е.В.⁶

^{1, 2, 3, 4, 5, 6} ФГБУ «Всероссийский центр карантина растений» (ФГБУ «ВНИИКР»), р. п. Быково,
м. о. Раменский, Московская обл., Россия, 140150

¹ e-mail: zhivaeva.vniikr@mail.ru

² e-mail: prihodko_yuri59@mail.ru

³ e-mail: evgeniyaf@mail.ru

⁴ ORCID ID: 0000-0002-7565-1241,
e-mail: yury.shneyder@mail.ru

⁵ e-mail: bashkirova@mail.ru

⁶ ORCID ID: 0000-0001-6474-8913,
e-mail: elenavkar@mail.ru

АННОТАЦИЯ

Вирус полосатой мозаики пшеницы (Wheat streak mosaic virus, или *Tritimovirus tritici*; акроним – WSMV) является вредоносным патогеном пшеницы, кукурузы, овса, проса, ржи, сорго, тритикале, ячменя и многочисленных видов многолетних злаковых трав. Потери урожая пшеницы в результате заражения этим вирусом могут достигать 100%. WSMV распространяется контактным способом, с семенами и пшеничным завитушным клещом *Aceria tosichella* Keifer. Положение об отсутствии этого вируса содержится в фитосанитарных требованиях 16 стран – импортеров российской зерновой продукции.

Для разработки методических рекомендаций по выявлению и идентификации WSMV было проведено испытание трех тест-систем для ИФА ведущих фирм-производителей, четырех тест-систем для ПЦР в «реальном времени» (ОТ-ПЦР-ПВ) и восьми пар праймеров для классической ОТ-ПЦР. Установлен достаточно высокий уровень специфичности к целевому объекту у тест-систем для ИФА к WSMV фирм Agdia, DSMZ и Loewe. Совпадения результатов серологических тестов с тест-системой фирмы Agdia и результатов молекулярных тестов составило 90,5–100%, что позволяет рекомендовать данную тест-систему для проведения скрининговых тестов на наличие WSMV. Установлено, что наборы реагентов для ПЦР-ПВ к WSMV отечественных фирм-производителей могут быть рекомендованы для проведения скрининговых тестов на наличие WSMV при проведении фитосанитарного мониторинга посевов и для анализа семян зерновых культур, предназначенных для использования внутри Российской Федерации. Для анализа зерновой продукции, предназначенной для экспорта, альтернативой методу ИФА может

Development and validation of diagnosis methods for wheat streak mosaic virus (WSMV)

*TATIANA S. ZHIVAEVA¹, YURI N. PRIKHODKO²,
EVGENIYA N. LOZOVAYA³, IDA G. BASHKIROVA⁴,
ELENA V. KARIMOVA⁵, YURI A. SHNEYDER⁶

¹ e-mail: zhivaeva.vniikr@mail.ru

² e-mail: prihodko_yuri59@mail.ru

³ e-mail: evgeniyaf@mail.ru

⁴ ORCID ID: 0000-0002-7565-1241,
e-mail: yury.shneyder@mail.ru

⁵ e-mail: bashkirova@mail.ru

⁶ ORCID ID: 0000-0001-6474-8913,
e-mail: elenavkar@mail.ru

FGBU “All-Russian Plant Quarantine Center”
(FGBU “VNIKRR”), Bykovo, Ramenskoye,
Moscow Oblast, Russia, 140150

ABSTRACT

Wheat streak mosaic virus, or *Tritimovirus tritici*; acronym – WSMV, is a harmful pest of wheat, corn, oats, millet, rye, sorghum, triticale, barley and numerous species of perennial cereal grasses. It can lead to wheat yield losses of up to 100%. WSMV is spread by contact, seed and the wheat curl mite *Aceria tosichella* Keifer. 16 countries importing Russian grain products include the absence of this virus as a prerequisite in the phytosanitary requirements.

To develop methodological guidelines for the detection and identification of WSMV, three ELISA test systems from leading manufacturers, four RT-PCR test systems in “real time” (real-time RT-PCR) and 8 pairs of primers for classical RT-PCR were tested. A sufficiently high level of specificity to the target object was established for the ELISA test systems for WSMV from Agdia, DSMZ and Loewe. The coincidence of the results of serological tests with the test system of Agdia and the results of molecular tests was 90.5–100%, which allows us to recommend this test system for screening tests for the presence of WSMV. It was established that reagent kits for RT-PCR to WSMV from Russian manufacturers can be recommended for screening tests for the presence of WSMV during phytosanitary monitoring of crops and for the analysis of grain seeds intended for use within the Russian

являться тест в формате одноэтапной ОТ-ПЦР-РВ с праймерами и зондом WSMV F1/WSMV R1/WSMV P. Для проведения подтверждающих тестов на наличие WSMV отработан протокол одноэтапной классической ОТ-ПЦР с праймерами PMB-70/PMB-71, не уступающий по чувствительности тестам методом ПЦР в «реальном времени». Установлена возможность использования праймеров WSMV-F/WSMV-R и WSMVL2/WSMVR2 в качестве подтверждающих тестов. Для изучения генетических особенностей у выявляемых изолятов в качестве дополнительных тестов целесообразно использовать праймеры WSMV-CP-AM-F2/WSMV-CP-AM-R и WSMV-CP-Czech-F/WSMV-CP-Czech-R, которые амплифицируют полные последовательности нуклеотидов генов белка оболочки изолятов штаммов WSMV-D и WSMV-B соответственно.

Ключевые слова. *Wheat streak mosaic virus, ИФА, ПЦР, праймеры, секвенирование.*

ВВЕДЕНИЕ



Пшеница является ведущей зерновой культурой Российской Федерации. Сборы урожая пшеницы в нашей стране в 2024 г., по предварительным данным Росстата, составили 82 419,3 тыс. тонн, что на 11,2% меньше (на 10 431,8 тыс. тонн), чем в 2023 г. Снижение сборов

произошло как за счет сокращения площадей (на 4,1% – до 28 523,1 тыс. га), так и за счет снижения урожайности (на 7,9% – до 29,3 ц/га). Одной из причин снижения урожайности могли стать вирусные болезни. В настоящее время на пшенице известно более 50 видов фитопатогенных вирусов, относящихся к 23 родам 12 таксономических семейств (CABI, 2025).

Одним из наиболее вредоносных патогенов пшеницы является вирус полосатой мозаики пшеницы (Wheat streak mosaic virus, или *Tritimovirus tritici*; акроним – WSMV). WSMV считается вторым по значимости вирусом пшеницы после вируса желтой карликовости ячменя (BYDV) и вызывает не только спорадические, но и катастрофические эпифитотии на пшенице в различных регионах мира (Jones, 2021). На Украине потери урожая пшеницы в результате заражения WSMV оценивались в 20–63% (Демьяненко и др., 1998), а в Австралии – до 83% (Couatts et al. 2008; Lanoiselet et al. 2008). Для условий Великих равнин США констатируется, что потери урожая восприимчивых сортов пшеницы могут достигать 100% (Couatts et al., 2014).

Растениями – хозяевами WSMV являются также кукуруза, овес, просо, рожь, сорго, тритикале, ячмень и не менее 28 видов культивируемых и дикорастущих злаковых трав. Вирус распространен на всех континентах (кроме Антарктиды), включая 14 стран Европы и 9 стран Азии (CABI, 2025). В СССР болезнь полосатой мозаики пшеницы была впервые идентифицирована в 1963 г. в Краснодарском крае (Равязкина и др., 1963),

Federation. For the analysis of grain products intended for export, an alternative to the ELISA method may be a test in the format of a 1-stage real-time RT-PCR with primers and probe WSMV F1/WSMV R1/WSMV P. For conducting confirmatory tests for the presence of WSMV, a protocol of 1-stage classical RT-PCR with primers PMB-70/PMB-71 has been developed, which is not inferior in sensitivity to tests using the PCR method in “real time”. The possibility of using primers WSMV-F/WSMV-R and WSMVL2/WSMVR2 as confirmatory tests has been established. To study the genetic characteristics of the detected isolates, it is advisable to use the primers WSMV-CP-AM-F2/WSMV-CP-AM-R and WSMV-CP-Czech-F/WSMV-CP-Czech-R as additional tests, which amplify the complete nucleotide sequences of the coat protein genes of the isolates of the WSMV-D and WSMV-B strains, respectively.

Key words. *Wheat streak mosaic virus, ELISA, PCR, primers, sequencing.*

INTRODUCTION



Wheat is the leading grain crop of the Russian Federation. According to preliminary data from Rosstat, wheat harvests in our country amounted to 82,419.3 thousand tons in 2024, which is 11.2% (10,431.8 thousand tons) less than in 2023. The decrease in harvests occurred both due to a reduction in area (by 4.1% to 28,523.1 thousand hectares) and due to a decrease in yield (by 7.9% to 29.3 c/ha). One of the reasons for the decrease in yield could be viral diseases. Currently, more than 50 phytopathogenic virus species belonging to 23 genera of 12 taxonomic families are known on wheat (CABI, 2025).

One of the most harmful wheat pests is the Wheat streak mosaic virus (*Tritimovirus tritici*; acronym – WSMV). WSMV is considered to be the second most important wheat virus after the barley yellow dwarf virus (BYDV) and causes sporadic but catastrophic epiphytotics on wheat in various world regions (Jones, 2021). In Ukraine, wheat yield losses due to WSMV infection were estimated at 20–63% (Demyanenko et al., 1998), and in Australia – up to 83% (Couatts et al. 2008; Lanoiselet et al. 2008). For the conditions of the Great Plains of the USA, it was stated that yield losses of susceptible wheat varieties can reach 100% (Couatts et al., 2014).

WSMV host plants also include corn, oats, millet, rye, sorghum, triticale, barley and at least 28 species of cultivated and wild cereal grasses. The virus is distributed on all continents except Antarctica, including 14 European countries and 9 Asian countries (CABI, 2025). In the USSR, wheat stripe mosaic disease was first detected in 1963 in Krasnodar Krai (Ravizkina et al., 1963), and was later noted in the North Caucasus, Ukraine, Moldova and Central Asia (Vlasov,

а затем была отмечена на Северном Кавказе, Украине, в Молдавии и Средней Азии (Власов, Ларина, 1982). В современный период в Российской Федерации WSMV регистрировали на Южном Урале (Глинушкин, 2013), в Среднем Поволжье (Богоутдинов и др., 2017), Краснодарском крае (Аблова и др., 2012), Республике Крым, Республике Бурятия, Алтайском, Краснодарском и Ставропольском краях, Волгоградской, Воронежской и Ростовской областях (Живаева и др., 2024; Приходько и др., 2024).

Распространение WSMV возможно тремя способами: механическим путем контакта между растениями, семенами и посредством переносчика – пшеничным завитушным клещом *Aceria tosichella* Keifer. Передача WSMV с семенами пшеницы варьирует от 0,5 до 2%, а передача с семенами кукурузы обычно не превышает 0,1% (Jones, 2021). Положение об отсутствии этого вируса содержится в фитосанитарных требованиях 16 стран – импортеров российской зерновой продукции.

WSMV является типовым видом рода *Tritimovirus* семейства *Potyviridae*. Вирионы WSMV представляют собой гибкие нитевидные частицы со спиральной симметрией длиной 750 нм и диаметром 15 нм, не имеющие оболочки. Каждый вирион состоит из молекулы РНК и примерно 2 тыс. копий белка оболочки, окружающих РНК. Геном WSMV состоит из единственной молекулы одноцепочечной линейной плюс-смысловой РНК, состоящей из 9339–9384 нуклеотидов. РНК транслируется с образованием полипротеина с молекулярной массой 350 кДа, состоящего из 3035 аминокислот. Этот полипротеин процессируется тремя кодируемыми вирусом протеазами (P1, HC-Pro и NIa-Pro) на 10 функционально активных белков: P1, HC-Pro, P3, 6K1, CI, 6K2, VPg, NIa-Pro, NIb и белок оболочки (CP). Имеется также дополнительная открытая рамка считывания (ORF) P3N-PIPO, которая экспрессируется как слитый белок с N-концевого участка гена P3 (Tatineni, Hein, 2020).

По различиям в последовательности нуклеотидов на геномной РНК мировая популяция WSMV подразделяется на четыре филогенетические группы, или штамма (A, B, C и D) (Redila et al., 2021; Jones et al., 2022). Штамм WSMV-A включает изоляты, распространенные в Мексике. Штамм WSMV-B объединяет изоляты WSMV из различных стран Европы, Ирана и Турции. Штамм WSMV-C ограничивается несколькими изолятами WSMV из Ирана, которые были выявлены в одном небольшом регионе этой страны. Штамм WSMV-D объединяет изоляты этого вируса из США и Канады, некоторые из которых распространились затем в Южную Америку, Австралию, Европу, Иран и Турцию.

Помимо WSMV, в род *Tritimovirus* входят следующие вирусы: мозаики пшеницы эклид (Wheat Eqlid mosaic virus, WEqMV), полосатой мозаики костра (Brome streak mosaic virus, BrSMV), некротической крапчатости овса (Oat necrotic mottle virus, ONMV), мозаики трищетинника желтоватого (Yellow oat-grass mosaic virus, YOgMV) и мозаики райграса высокого (Tall oatgrass mosaic virus, TOgMV) (Inoue-Nagata et al., 2022).

На генетическом и серологическом уровнях WSMV наиболее близок к ONMV, который преимущественно распространен на овсе в Канаде

(Larina, 1982). Currently, WSMV has been registered in the Russian Federation in the Southern Urals (Glinushkin, 2013), the Middle Volga region (Bogoutdinov et al., 2017), Krasnodar Krai (Ablova et al., 2012), the Republic of Crimea, the Republic of Buryatia, Altai Krai, Krasnodar Krai and Stavropol Krai, Volgograd Oblast, Voronezh Oblast and Rostov Oblast (Zhivaeva et al., 2024; Prikhodko et al., 2024).

WSMV has three pathways: mechanically through contact between plants, seeds, and via the vector, the wheat curl mite *Aceria tosichella* Keifer. Transmission of WSMV with wheat seeds varies from 0.5 to 2%, while transmission with corn seeds usually does not exceed 0.1% (Jones, 2021). 16 countries importing Russian grain products include the absence of this virus as a prerequisite in the phytosanitary requirements.

WSMV is the type species of the genus *Tritimovirus* of the family *Potyviridae*. WSMV virions are flexible, filamentous, helically symmetrical particles 750 nm long and 15 nm in diameter that do not have an envelope. Each virion consists of an RNA molecule and approximately 2,000 copies of the envelope protein surrounding the RNA. The WSMV genome consists of a single molecule of single-stranded linear plus-sense RNA consisting of 9339–9384 nucleotides. The RNA is translated to form a polyprotein with a molecular weight of 350 kDa, consisting of 3035 amino acids. This polyprotein is processed by three virus-encoded proteases (P1, HC-Pro, and NIa-Pro) into 10 functionally active proteins: P1, HC-Pro, P3, 6K1, CI, 6K2, VPg, NIa-Pro, NIb, and envelope protein (CP). There is also an additional open reading frame (ORF) P3N-PIPO, which is expressed as a fusion protein from the N-terminal region of the P3 gene (Tatineni, Hein, 2020).

Based on differences in the nucleotide sequence of the genomic RNA, the global WSMV population is divided into four phylogenetic groups, or strains (A, B, C, and D) (Redila et al., 2021; Jones et al., 2022). Strain WSMV-A includes isolates distributed in Mexico. Strain WSMV-B includes WSMV isolates from various European countries, Iran, and Turkey. Strain WSMV-C is limited to a few WSMV isolates from Iran that were detected in a small region of this country. Strain WSMV-D includes isolates of this virus from the United States and Canada, some of which have then spread to South America, Australia, Europe, Iran, and Turkey.

Apart from WSMV, the genus *Tritimovirus* includes the following viruses: Wheat Eqlid mosaic virus, WEqMV, Brome streak mosaic virus, BrSMV, Oat necrotic mottle virus, ONMV, Yellow oat-grass mosaic virus, YOgMV and Tall oatgrass mosaic virus, TOgMV (Inoue-Nagata et al., 2022).

On the genetic and serological levels, WSMV is most closely related to ONMV, which is predominantly distributed on oats in Canada (Navia et al., 2013). There is only one report of this virus in Europe: in Germany on meadow grass (Rabenstein et al., 2002). In terms of the complex of biological and genetic properties, WSMV is also similar to WEqMV, which is distributed in the north of Fars Province in Iran, and WEqMV, which is often found in mixed infection with WSMV

(Navia et al., 2013). Имеется единственное сообщение о выявлении этого вируса на территории Европы: в Германии на мятлике луговом (Rabenstein et al., 2002). По комплексу биологических и генетических свойств WSMV сходен также с WEqMV, который распространен на севере провинции Фарс в Иране и часто встречается в смешанной инфекции с WSMV (Masumi et al., 2005). Сообщения о выявлении WEqMV в каких-либо иных зерноводческих регионах мира отсутствуют. На растениях пшеницы, ячменя и некоторых видах злаковых трав WSMV может встречаться в смешанной инфекции с тритимовирусом BrSMV, который распространен в нескольких европейских странах (Navia et al., 2013). Высока вероятность присутствия этого вируса и в Российской Федерации. На растениях овса и некоторых видах злаковых трав WSMV потенциально может встречаться также в смешанной инфекции с тритимовирусами YOgMV и TOgMV.

Помимо тритимовирусов, растения зерновых культур заражает также целый ряд других вирусов семейства *Potyviridae*, относящихся к родам *Bymovirus*, *Poacevirus*, *Potyvirus* и *Rymovirus*. В Российской Федерации существует высокая вероятность наличия коинфекции WSMV с потивирусом мозаичной карликовости кукурузы (MDMV) на кукурузе, бимовирусом веретеновидной полосатой мозаики пшеницы (WSSMV) на пшенице и бимовирусами желтой мозаики ячменя (BaYMV) и слабой мозаики ячменя (BaMMV) на ячмене.

Разрабатываемые методы диагностики должны обеспечивать надежную дифференциацию WSMV от близкородственных тритимовирусов и других вирусов семейства *Potyviridae*, заражающих зерновые культуры, а также эффективно диагностировать изоляты штаммов WSMV-B и WSMV-D, доминирующие в мировой популяции вируса полосатой мозаики пшеницы.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Объектами исследований являлись:

- референтные изоляты WSMV PV-0356 (DSMZ, Германия) и 07048 PC (Loewe, Германия);
- изоляты WSMV, выявленные в 2024 г. в посевах пшеницы на территории Краснодарского края;
- референтные изоляты бимовируса слабой мозаики ячменя (BaMMV), бимовируса желтой мозаики ячменя (BaYMV), бимовируса веретеновидной полосатой мозаики пшеницы (WSSMV), бромовируса мозаики костра (BMV), высокоравнинного емаравируса мозаики пшеницы (HPWMoV), лютеовируса желтой карликовости ячменя (BYDV), мастревируса карликовости пшеницы (WDV), махломовируса хлоротической крапчатости кукурузы (MCMV), полеровируса желтой карликовости злаков (CYDV), потивируса мозаичной карликовости кукурузы (MDMV), потивируса мозаики сахарного тростника (SCMV), потивируса мозаики сорго (SrMV), потивируса сорго алеппского (JGMV), почвообитающего фурувируса мозаики злаков (SBCMV), почвообитающего фурувируса мозаики пшеницы (SBWMV), тритимовируса полосатой мозаики костра (BStMV), хордеивируса штриховатой мозаики ячменя (BSMV), которые использовали в экспериментах по оценке специфичности испытываемых тест-систем.

(Masumi et al., 2005). There are no reports of WEqMV in any other grain-growing regions of the world. On wheat, barley and some cereal grasses, WSMV can be detected in mixed infection with trithymovirus BrSMV, which is distributed in several European countries (Navia et al., 2013). There is a high presence probability of this virus in the Russian Federation. On oat plants and some cereal grasses, WSMV can also potentially occur in mixed infection with tritymoviruses YOgMV and TOgMV.

In addition to tritymoviruses, cereal crops are also infected by other viruses of the family *Potyviridae*, belonging to the genera *Bymovirus*, *Poacevirus*, *Potyvirus* and *Rymovirus*. In the Russian Federation, there is a high probability of co-infection of WSMV with maize mosaic dwarf potyvirus (MDMV) on maize, wheat spindle streak mosaic virus (WSSMV) on wheat, and barley yellow mosaic virus (BaYMV) and barley weak mosaic virus (BaMMV) on barley.

The diagnostic methods being developed should ensure reliable differentiation of WSMV from closely related tritymoviruses and other viruses of the *Potyviridae* family that infect grain crops, as well as effectively diagnose isolates of WSMV-B and WSMV-D strains that dominate the world population of wheat streak mosaic virus.

MATERIALS AND METHODS

The objects of the study were:

- reference isolates WSMV PV-0356 (DSMZ, Germany) and 07048 PC (Loewe, Germany);
- WSMV isolates identified in 2024 in wheat crops in Krasnodar Krai;
- reference isolates of barley weak mosaic bymovirus (BaMMV), barley yellow mosaic bymovirus (BaYMV), wheat spindle streak mosaic bymovirus (WSSMV), brome mosaic virus (BMV), high plains wheat mosaic emaravirus, barley yellow dwarf virus (BYDV), wheat dwarf virus (WDV), maize chlorotic mottle virus (MCMV), cereal yellow dwarf virus (CYDV), maize dwarf mosaic virus (MDMV), sugarcane mosaic virus (SCMV), sorghum mosaic virus (SrMV), Johnsongrass mosaic virus (JGMV), Soil-Borne Cereal Mosaic Virus (SBCMV), Soil-borne wheat mosaic virus (SBWMV), Brome Streak Mosaic Tritimovirus (BStMV), barley streak mosaic virus (BSMV), which were used in experiments to assess the specificity of the tested test systems.

Surveys of wheat crops in Krasnodar Krai were conducted jointly with employees of the Federal State Budgetary Scientific Institution "Lukyanenko National Grain Center".

For serological tests, test systems for ELISA for WSMV from Agdia (USA), DSMZ and Loewe (both Germany) were tested. These test systems were used according to the instructions supplied with the kits by the manufacturers.

RNA extraction for the polymerase chain reaction with reverse transcription (RT-PCR) was carried out using commercial reagent kits "Proba-NK" (Agro-Diagnostica, Russia) and "FitoSorb" (Synthol, Russia) according to the instructions of the manufacturers.

Обследования посевов пшеницы в Краснодарском крае проводили совместно с сотрудниками ФГБНУ «Национальный центр зерна имени П. П. Лукьяненко».

Для проведения серологических тестов испытывали тест-системы для ИФА к WSMV фирм Agdia (США), DSMZ и Loewe (обе – Германия). Эти тест-системы использовали согласно прилагаемым к наборам инструкциям фирм-производителей.

Экстракцию РНК для проведения полимеразной цепной реакции с обратной транскрипцией (ОТ-ПЦР) проводили коммерческими наборами реагентов «Проба-НК» («Агродиагностика», Россия) и «ФитоСорб» («Синтол», Россия) согласно инструкциям фирм-производителей.

Синтез кДНК осуществляли отечественными наборами реагентов для обратной транскрипции: Easy RT («Диалат»), MMLV RT kit («Евроген»), ОТ-1 («Синтол») и «Комплект реагентов проведения для обратной транскрипции» («Агродиагностика») согласно инструкциям фирм-производителей.

Для выявления WSMV методом ПЦР в «реальном времени» (ОТ-ПЦР-РВ) испытывали наборы реагентов «Вирус полосатой мозаики пшеницы (Wheat streak mosaic virus, WSMV)»

Synthesis of cDNA was carried out using Russian reagent kits for reverse transcription “Easy RT” (Dialat), “MMLV RT kit” (Evrogen), “OT-1” (Synthol) and “Kit of reagents for conducting reverse transcription” (Agro-Diagnostica) according to the instructions of the manufacturers.

To detect WSMV using the real-time PCR (real-time RT-PCR) method, the reagent kits “Wheat streak mosaic virus (WSMV)” (AgroDiagnostica) and “Wheat streak mosaic virus-Real-Time” (Synthol) were tested, which were used according to the instructions of the manufacturers.

The WSMV diagnosis was also done using the primers and probes presented in Table 1.

The obtained amplicons were sequenced using a modified Sanger method on an AB-3500 genetic analyzer (Applied Biosystems, USA). The BioEdit 7.0.5.3 software (Hall, 1999) and the BLASTN and Needleman-Wunsch Global Align Nucleotide Sequences (blast.ncbi.nlm.nih.gov) alignment algorithms were used to analyze the obtained nucleotide sequences. Phylogenetic analysis was performed using the MEGA11 program. (Tamura et al., 2021).

The following reagent kits were used to perform PCR:
– 5x Mas^{DD}Mix-2025 (Dialat, Russia);

Табл. 1. Праймеры и зонды, используемые для отработки диагностики WSMV

Table 1. Primers and probes used for WSMV diagnostic testing

Название праймера Primer name	Последовательность 5'→3' Sequence 5'→3'	Целевой участок генома	Genome target region	Продукт (п.о.) Product (bp)	Автор Author
PMB-70	AAGGGAAGCGAGAGGAAGC	Гены 6K1-CI	Genes 6K1-CI	748	Jones, 2008
PMB-71	CGTTGTGTCTTAAAGCCAGTTG				
WSMV-CP1-Czech-F	CGAACTGATCTGGGAGAGGAA	Ген CP	Gene CP	1147	Bennypaul et al., 2019
WSMV-CP2-Czech-R	CGCTCAAACCCTGGTACT				
WSMV-CP-AM-F2	CTGGGACCCGAACGGATTTAG	Ген CP	Gene CP	1117	Bennypaul et al., 2019
WSMV-CP-AM-R	GCTCACGCAAGAGCGTTTAC				
WSMV-F	TGGCGATGAAGATGTCAG	Гены CI/Nlа	Genes CI/Nlа	834	Lee et al., 2013
WSMV-R	CCATTTCTGTGAAGGCTTT				
WSMV-F1	AAGTGCAGAACAGCGTTG	Ген CP	Gene CP	139	Tatinene et al., 2010
WSMV-R1	AAACTGTGCGTGTTCTCC				
WSMV- Probe	FAM-ACTGAGTGC GG TACTAAT GAGGAC-BHQ1				
WsmF-7288	CAAAGCTGTGGTTGATGAGTTCA	Ген NIb	Gene NIb	75	Price et al., 2010
WsmR-7343	TTGATTCGACAGTCCATGGT				
WsmP-7312	FAM-CAAATTCTTCTACACAAAGCA TTTGCGCG-BHQ1				
WSMV L2	CGACAATCAGCAAGAGACCA	Ген NIa	Gene NIa	193	Deb and Anderson, 2008
WSMV R2	TGAGGATCGCTGTGTTTCAG				
WSMV-C1	TACTTGACTGGGACCCGAA	Ген CP	Gene CP	1255	Rogers et al., 2012
WSMV-XC1	AACCCACACATAGCTACCAAG				
WS8166F	GAGAGCAATACTGCGTGTACG	Ген CP	Gene CP	740	Kudela et al., 2008
WS8909R	GCATAATGGCTCGAAGTGATG				



Рис. 1. Растение озимой пшеницы с симптомами заражения вирусом полосатой мозаики пшеницы (WSMV) (фото И. Б. Абловой, печатается с разрешения автора)

Fig. 1. Winter wheat plant showing infection symptoms of wheat streak mosaic virus (WSMV) (photo by I.B. Ablova, published with permission of the author)



Рис. 2. Растение озимой пшеницы с симптомами заражения вирусом желтой карликовости ячменя (BYDV) (фото И. Б. Абловой, печатается с разрешения автора)

Fig. 2. Winter wheat plant showing infection symptoms of barley yellow dwarf virus (BYDV) (photo by I.B. Ablova, published with permission of the author)



Рис. 3. Растение озимой пшеницы с симптомами комплексного заражения WSMV+BYDV (фото И. Б. Абловой, печатается с разрешения автора)

Fig. 3. Winter wheat plant with symptoms of complex infection with WSMV+BYDV (photo by I.B. Ablova, published with permission of the author)

(«Агродиагностика») и Wheat streak mosaic virus-PB («Синтол»), которые использовали согласно инструкциям фирм-производителей.

Обработку диагностики WSMV проводили также с праймерами и зондами, представленными в табл. 1.

Полученные ампликоны секвенировали по модифицированному методу Сенгера на генетическом анализаторе AB-3500 (Applied Biosystems, США). Для анализа полученных нуклеотидных последовательностей использовали программное обеспечение BioEdit 7.0.5.3 (Hall, 1999) и алгоритмы выравнивания BLASTN и Needleman-Wunsch Global Align Nucleotide Sequences (blast.ncbi.nlm.nih.gov). Филогенетический анализ проводили с помощью программы MEGA11 (Tamura et al., 2021).

Для проведения ПЦР использовали следующие наборы реагентов:

- 5x Mas^{DD}Mix-2025 («Диалат», Россия);
- 5x Mas^{CFG}MIX-2025 («Диалат», Россия);
- OneTube RT-PCR TaqMan («Евроген», Россия);
- One Tube RT-PCR mix («Евроген», Россия);
- 5x Genta Single-tube RT-PCR master mix («Ген-Терра», Россия);
- «2,5x реакционная смесь для ПЦР-РВ» («Синтол», Россия).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

В ходе проведения обследований в Краснодарском крае наблюдались многочисленные растения озимой пшеницы с симптомами заражения WSMV, BYDV и комплекса WSMV+ BYDV (см. рис. 1–3). Образцы таких растений отбирали для последующего проведения серологических тестов. Предварительно была проведена оценка специфичности тест-систем для ИФА к WSMV фирм Agdia, DSMZ и Loewe в отношении комплекса вирусов, заражающих растения зерновых культур (см. табл. 2).

- 5x Mas^{CFG}MIX -2025 (Dialat, Russia);
- OneTube RT-PCR TaqMan (Evrogen, Russia);
- One Tube RT-PCR mix (Evrogen, Russia);
- 5x Genta Single-tube RT-PCR master mix (Gen-Terra, Russia);
- 2.5x Reaction mixture for real-time-PCR (Synthol, Russia).

RESULTS AND DISCUSSION

During the surveys in Krasnodar Krai, numerous winter wheat plants with infection symptoms of WSMV, BYDV, and the WSMV+ BYDV complex were observed (Fig. 1–3). Samples of such plants were collected for subsequent serological tests. A preliminary assessment was made of the specificity of the WSMV ELISA test systems from Agdia, DSMZ, and Loewe with respect to the complex of viruses infecting grain crops (Table 2).

According to the results of the experiments, it was found that the DSMZ WSMV test system has the highest specificity. However, when using this test system, it should be taken into account that a positive signal with extinction values of 100–150 optical units (o.u.) may indicate a non-specific reaction with non-target objects – BaMMV and MDMV. The Agdia WSMV test system is characterized by a cross-reaction with isolates of wheat dwarf virus (WDV) observed at very high extinction values (1220–1486 o.u.). Therefore, the use of this test system will not allow differentiating WSMV and WDV in case of their joint infection. The Loewe WSMV test system reacted only with one isolate of the target object out of three tested with low extinction values, the DSMZ test system reacted with two isolates, and

По результатам проведенных экспериментов констатируется, что наиболее высокой специфичностью характеризуется тест-система к WSMV фирмы DSMZ. Однако при использовании этой тест-системы надо учитывать, что положительный сигнал со значениями экстинкции 100–150 оптических единиц (о.е.) может означать неспецифичную реакцию с нецелевыми объектами – BaMMV и MDMV. Для тест-системы к WSMV фирмы Agdia характерно наличие перекрестной реакции с изолятами мастревируса карликовости пшеницы (WDV), наблюдающееся при очень высоких

only the Agdia test system reacted with all three isolates (Table 2). In preliminary experiments, we found that the WSMV isolates PV-0356 DSMZ and 07048 PC Loewe belong to the WSMV-B strain, while the Agdia isolate belongs to the WSMV-D strain. Consequently, the Agdia and DSMZ ELISA test systems allow us to diagnose isolates of the WSMV-B and WSMV-D strains, while the Loewe test system only diagnoses isolates of the WSMV-B strain.

To test the WSMV diagnosis using the real-time PCR method (real-time RT-PCR), the reagent kits “Wheat streak mosaic virus (WSMV)” (AgroDiagnostica,

Табл. 2. Определение специфичности трех тест-систем для ИФА к вирусу полосатой мозаики пшеницы (WSMV)

Table 2. Determination of the specificity of three ELISA test systems for wheat streak mosaic virus (WSMV)

№ обр. Sample	WSMV (DSMZ)			WSMV (Loewe)			WSMV (Agdia)		
	X Ao	Ao/Ak	**	X Ao	Ao/Ak	**	X Ao	Ao/Ak	**
1 WSMV PV-0356 DSMZ	0,455	10,34	+	0,173	4,02	+	3,086	36,3	+
2 WSMV +K, Agdia	0,819	18,61	+	0,057	1,33	-	0,575	6,76	+
3 WSMV +K, Loewe 07048PC	0,083	1,89	-	0,061	1,42	-	2,249	26,5	+
4 CYDV +K, Agdia C2307	0,059	1,34	-	0,057	1,33	-	0,099	1,16	-
5 WDV PC-0840 DSMZ	0,045	1,02	-	0,049	1,14	-	1,220	14,4	+
6 WDV +K, Loewe 07082PC	0,043	1,00	-	0,045	1,05	-	1,486	17,5	+
7 WSSMV PC-0541 DSMZ	0,098	2,23	-	0,078	1,81	-	0,109	1,28	-
8 WSSMV +K, Agdia	0,070	1,59	-	0,051	1,19	-	0,091	1,07	-
9 WSSMV +K, Loewe	0,054	1,23	-	0,053	1,23	-	0,081	1,00	-
10 SBWMV PC-0748 DSMZ	0,073	1,66	-	0,089	2,07	-	0,127	1,49	-
11 SBWMV +K, Agdia C2697	0,071	1,61	-	0,054	1,26	-	0,087	1,02	-
12 SBCMV PC-0552 DSMZ	0,045	1,02	-	0,056	1,30	-	0,087	1,02	-
13 BYDV +K, Loewe 07005PC	0,048	1,09	-	0,056	1,30	-	0,093	1,09	-
14 BYDV-MAV +K, Agdia	0,054	1,23	-	0,043	1,00	-	0,097	1,14	-
15 BYDV-PAV +K, Agdia	0,065	1,48	-	0,062	1,44	-	0,112	1,32	-
16 BSMV PC-0330 DSMZ	0,044	1,00	-	0,047	1,09	-	0,087	1,02	-
17 BMV PV-0178 DSMZ	0,036	1,00	-	0,060	1,40	-	0,070	1,00	-
18 BaMMV +K, Loewe 07006PC	0,046	1,05	-	0,044	1,02	-	0,085	1,00	-
19 BaMMV PC-0329 DSMZ	0,150	3,41	+-	0,081	1,88	-	0,143	1,68	-
20 BrSMV +K, Loewe 07123PC	0,053	1,20	-	0,053	1,23	-	0,096	1,13	-
21 MCMV PC-1087 DSMZ	0,047	1,07	-	0,056	1,30	-	0,111	1,31	-
22 MDMV PC-0802 DSMZ	0,100	2,27	+-	0,043	1,00	-	0,096	1,13	-
23 PMTV +K, Adgen	0,040	1,00	-	0,039	1,00	-	0,084	1,00	-
24 TMV (МГУ)	0,043	1,00	-	0,048	1,12	-	0,095	1,12	-
Отрицательный контроль Negative control	0,044			0,043			0,085		

** Заключение о наличии вируса:
- вирус отсутствует ($Ao/Ak < 2,0$);
+- недостоверное наличие вируса ($Ao/Ak = 2,0-3,0$);
+ достоверное наличие вируса ($Ao/Ak > 3,0$),
где Ao – среднее значение экстинкции образца,
Ak – среднее значение экстинкции отрицательного контроля

** Conclusion on the virus presence:
- the virus is absent ($Ao/Ak < 2,0$);
+- unreliable virus presence ($Ao/Ak = 2,0-3,0$)
+ reliable virus presence ($Ao/Ak > 3,0$),
где Ao – average extinction value of the sample,
Ak – average extinction value of negative control.

значениях экстинкции (1220–1486 о.е.). Следовательно, использование данной тест-системы не позволит дифференцировать WSMV и WDV в случае их совместной инфекции. Тест-система к WSMV фирмы Loewe реагировала лишь с одним изолятом целевого объекта из трех испытуемых с невысокими значениями экстинкции, тест-система фирмы DSMZ – с двумя изолятами, и лишь тест-система фирмы Agdia – со всеми тремя изолятами (см. табл. 2). В предварительных экспериментах нами было установлено, что изоляты WSMV PV-0356 DSMZ и 07048 PC Loewe относятся к штамму WSMV-B, тогда как изолят Agdia – к штамму WSMV-D, следовательно, тест-системы для ИФА фирм Agdia и DSMZ позволяют диагностировать изоляты штаммов WSMV-B и WSMV-D, тогда как тест-система фирмы Loewe – лишь изоляты штамма WSMV-B.

Для отработки диагностики WSMV методом ПЦР в «реальном времени» (ОТ-ПЦР-РВ) было проведено испытание наборов реагентов «Вирус полосатой мозаики пшеницы (Wheat streak mosaic virus, WSMV)» («Агродиагностика», Россия) и Wheat streak mosaic virus-PB («Синтол», Россия), а также праймеров и зондов WSMV-F1/WSMV-R1/WSMV-Probe (Tatinene et al., 2010) и WsmF-7288/WsmR-7343/WsmP-7312 (Price et al., 2010).

Было установлено, что все эти тест-системы характеризуются 100%-й специфичностью к целевому объекту. Не наблюдалось перекрестной реакции этих тест-систем с изолятами иных вирусов, заражающих зерновые культуры, – BaMMV, BMV, BSMV, BStMV, BYDV-MAV, BYDV-PAV, CYDV, HPWMoV, MCMV, MDMV, SBCMV, SBWMV, SCMV, WDV и WSSMV. Однако при этом было констатировано, что праймеры и зонд WsmF-7288/WsmR-7343/WsmP-7312 позволяют диагностировать лишь изоляты штамма WSMV-D, тогда как три другие тест-системы позволяют выявлять изоляты штаммов WSMV-B и WSMV-D (результаты не показаны).

В последующих экспериментах по оценке аналитической чувствительности было установлено, что выявление изолята WSMV PC-0356 в тестах с набором реагентов Wheat streak mosaic virus-PB («Синтол») и с праймерами и зондом WSMV-F1/WSMV-R1/WSMV-Probe (Tatinene et al., 2010) возможно при разведениях соответственно в 10^3 и 10^6 со 100%-й повторяемостью результатов. При этом в тестах с праймерами и зондом WSMV-F1/WSMV-R1/WSMV-Probe использование набора реагентов One Tube RT-PCR Taq Man («Евроген») имело некоторое преимущество по сравнению с использованием набора реагентов 5x Genta Single-tube RT-PCR master mix («ГенТерра») в плане более низких значений пороговых циклов для высоких разведений.

Чувствительность тестов с набором реагентов «Вирус полосатой мозаики пшеницы (WSMV)» («Агродиагностика») существенно зависела от варианта синтеза кДНК. При использовании для синтеза кДНК набора реагентов ОТ-1 («Синтол») выявление изолята WSMV наблюдалось при разведении в 10^3 и нестабильно – при разведении в 10^4 , тогда как при использовании наборов реагентов для обратной транскрипции фирм «Агродиагностика» и «Евроген» – лишь для исходных неразбавленных образцов (см. табл. 3).

Russia) and “Wheat streak mosaic virus-Real-Time” (Synthol, Russia), as well as primers and probes WSMV-F1/WSMV-R1/WSMV-Probe (Tatinene et al., 2010) and WsmF-7288/WsmR-7343/WsmP-7312 were tested (Price et al., 2010).

It was found that all these test systems are characterized by 100% specificity to the target object. No cross-reaction of these test systems with isolates of other viruses infecting grain crops was observed – BaMMV, BMV, BSMV, BStMV, BYDV-MAV, BYDV-PAV, CYDV, HPWMoV, MCMV, MDMV, SBCMV, SBWMV, SCMV, WDV and WSSMV. However, it was also found that the WsmF-7288/WsmR-7343/WsmP-7312 primers and probe allow diagnosing only isolates of the WSMV-D strain, while the other three test systems allow detecting isolates of the WSMV-B and WSMV-D strains (results not shown).

In subsequent experiments to assess the analytical sensitivity, it was found that the detection of the WSMV PC-0356 isolate in tests with the Wheat streak mosaic virus-Real-Time reagent kit (Synthol) and with primers and probe WSMV-F1/WSMV-R1/WSMV-Probe (Tatinene et al., 2010) is possible at dilutions of 10^3 and 10^6 , respectively, with 100% repeatability of the results. At the same time, in tests with primers and probe WSMV-F1/WSMV-R1/WSMV-Probe, the use of the One Tube RT-PCR Taq Man reagent kit (Evrogen) had some advantage over the use of the 5x Genta Single-tube RT-PCR master mix reagent kit (GenTerra) in terms of lower threshold cycle values for high dilutions.

The sensitivity of tests with the reagent kit “Wheat stripe mosaic virus (WSMV)” (AgroDiagnostica) significantly depended on the variant of cDNA synthesis. When using the reagent kit “OT-1” (Synthol) for cDNA synthesis, the detection of the WSMV isolate was observed at a dilution of 10^3 and unstable – at a dilution of 10^4 , while when using the reagent kits for reverse transcription from AgroDiagnostica and Evrogen – only for the original undiluted samples (Table 3).

Confirmatory tests for the presence of WSMV using classical RT-PCR were performed with primers PMB-70/PMB-71 (Jones et al., 2018), WSMV-CP-AM-F2/WSMV-CP-AM-R (Bennypaul et al., 2019), WSMV-CP-Czech-F/WSMV-CP-Czech-R (Bennypaul et al., 2019), WSMV-F/WSMV-R (Lee et al., 2013), WSMVL2/WSMVR2 (Deb and Anderson, 2008), WSMV-C1/WSMV-XC1 (Rogers et al., 2012) and WS8166F/WS8909R (Kudela et al., 2008). Preliminary testing of these primers was carried out in a 1-step RT-PCR format with the One Tube RT-PCR TaqMan reagent kit (Evrogen, Russia).

It was found that the primers WSMV-CP-AM-F2/WSMV-CP-AM-R (Bennypaul et al., 2019) and WSMV-C1/WSMV-XC1 (Rogers et al., 2012) are specific to the WSMV-D strain, the primers WSMV-CP-Czech-F/WSMV-CP-Czech-R (Bennypaul et al., 2019) detect only isolates of the WSMV-B strain, and the primers PMB-70/PMB-71 (Jones et al., 2018), WSMV-F/WSMV-R (Lee et al., 2013), WSMVL2/WSMVR2 (Deb, Anderson, 2008) and WS8166F/WS8909R (Kudela et al.,

Табл. 3. Определение аналитической чувствительности тест-систем для ПЦР-РВ к WSMV
Table 3. Determination of analytical sensitivity of RT-PCR test systems to WSMV

Варианты Variants	Набор реагентов «Вирус полосатой мозаики пшеницы (WSMV)» («Агродиагностика», Россия) Reagent kit "Wheat streak mosaic virus (WSMV)" (AgroDiagnostica, Russia)		Праймеры и зонд WSMV-F1/WSMV-R1/ WSMV-Probe с набором реагентов One Tube RT-PCR Taq Man («Евроген», Россия) Primers and probe WSMV-F1/WSMV-R1/WSMV-Probe with reagent kit 'One Tube RT-PCR Taq Man' (Evrogen, Russia)		Праймеры и зонд WSMV-F1/WSMV-R1/WSMV-Probe с набором реагентов 5x Genta Single-tube RT-PCR master mix («ГенТерра», Россия) Primers and probe WSMV-F1/WSMV-R1/WSMV-Probe with reagent kit '5x Genta Single-tube RT-PCR master mix' (GenTerra, Russia)	
	Реагенты (Cq) Reagent kits Wheat streak mosaic virus- Real-Time (Synthol, Russia) (Cq)	Набор реагентов для ОТ («Агродиагностика», Россия) (Cq) Reagent kits for OT (AgroDiagnostica, Russia) (Cq)	ММЛВ RT kit («Евроген», Россия) (Cq) MMLV RT kit (Evrogen, Russia) (Cq)	ОТ-1 («Синтол», Россия) (Cq) OT-1 (Synthol, Russia) (Cq)		
WSMV PC-0356 (без разведения - 1) WSMV PC-0356 (without dilution-1)	29,59	43,17	43,71	28,31	20,47	16,57
WSMV PC-0356 (без разведения - 2) WSMV PC-0356 (without dilution-2)	29,33	26,72	44,30	28,24	18,15	16,34
WSMV PC-0356 (без разведения - 3) WSMV PC-0356 (without dilution-3)	29,25	43,18	42,30	30,44	17,66	16,10
WSMV PC-0356 10 ⁻¹ -1	32,18	H/O N/D	H/O N/D	32,27	20,08	19,48
WSMV PC-0356 10 ⁻¹ -2	33,25	H/O N/D	H/O N/D	31,83	19,88	19,56
WSMV PC-0356 10 ⁻¹ -3	32,37	H/O N/D	H/O N/D	32,01	19,47	19,74
WSMV PC-0356 10 ⁻² -1	36,49	H/O N/D	H/O N/D	35,70	22,86	23,81
WSMV PC-0356 10 ⁻² -2	36,03	H/O N/D	H/O N/D	35,10	23,21	23,79
WSMV PC-0356 10 ⁻² -3	35,16	H/O N/D	H/O N/D	35,41	23,13	23,70
WSMV PC-0356 10 ⁻³ -1	38,72	H/O N/D	H/O N/D	38,36	26,38	28,60
WSMV PC-0356 10 ⁻³ -2	39,64	H/O N/D	H/O N/D	38,64	26,63	27,81
WSMV PC-0356 10 ⁻³ -3	38,91	H/O N/D	H/O N/D	38,48	26,83	29,05
WSMV PC-0356 10 ⁻⁴ -1	H/O N/D	H/O N/D	H/O N/D	40,40	30,29	32,99
WSMV PC-0356 10 ⁻⁴ -2	H/O N/D	H/O N/D	H/O N/D	H/O N/D	30,14	32,36
WSMV PC-0356 10 ⁻⁴ -3	H/O N/D	H/O N/D	H/O N/D	42,72	29,86	32,49
WSMV PC-0356 10 ⁻⁵ -1	H/O N/D	H/O N/D	H/O N/D	H/O N/D	32,98	37,01
WSMV PC-0356 10 ⁻⁵ -2	H/O N/D	H/O N/D	H/O N/D	H/O N/D	33,87	35,82
WSMV PC-0356 10 ⁻⁵ -3	H/O N/D	H/O N/D	H/O N/D	H/O N/D	33,51	36,26
WSMV PC-0356 10 ⁻⁶ -1	H/O N/D	H/O N/D	H/O N/D	H/O N/D	37,54	38,13
WSMV PC-0356 10 ⁻⁶ -2	H/O N/D	H/O N/D	H/O N/D	H/O N/D	37,05	38,65
WSMV PC-0356 10 ⁻⁶ -3	H/O N/D	H/O N/D	H/O N/D	H/O N/D	36,47	39,05
Отрицательный контроль Negative control	H/O N/D	H/O N/D	H/O N/D	H/O N/D	H/O N/D	

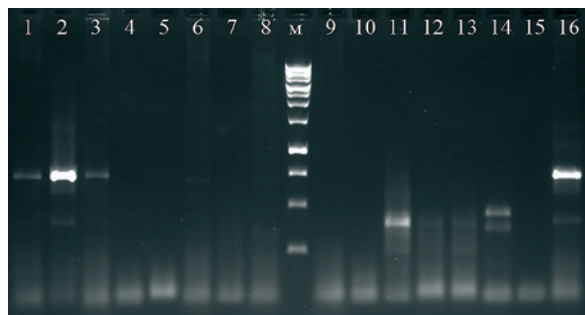
Обработку подтверждающих тестов на наличие WSMV методом классической ОТ-ПЦР проводили с праймерами PMB-70/PMB-71 (Jones et al., 2018), WSMV-CP-AM-F2/WSMV-CP-AM-R (Bennypaul et al., 2019), WSMV-CP-Czech-F/WSMV-CP-Czech-R (Bennypaul et al., 2019), WSMV-F/WSMV-R (Lee et al., 2013), WSMVL2/WSMVR2 (Deb and Anderson, 2008), WSMV-C1/WSMV-XC1 (Rogers et al., 2012) и WS8166F/WS8909R (Kudela et al., 2008). Предварительное испытание этих праймеров проводили в одноэтапном формате ОТ-ПЦР с набором реагентов One Tube RT-PCR TaqMan («Евроген», Россия).

Было установлено, что праймеры WSMV-CP-AM-F2/WSMV-CP-AM-R (Bennypaul et al., 2019) и WSMV-C1/WSMV-XC1 (Rogers et al., 2012) характеризуются специфичностью к штамму WSMV-D, праймеры WSMV-CP-Czech-F/WSMV-CP-Czech-R (Bennypaul et al., 2019) выявляют лишь изоляты штамма WSMV-B, а праймеры PMB-70/PMB-71 (Jones et al., 2018), WSMV-F/WSMV-R (Lee et al., 2013), WSMVL2/WSMVR2 (Deb, Anderson, 2008) и WS8166F/WS8909R (Kudela et al., 2008) позволяют диагностировать оба этих штамма. Для всех изучаемых праймеров не наблюдалось перекрестной реакции с нецелевыми вирусами зерновых культур, относящихся к семейству *Potyviriidae*: тритимовирусу BrSMV, бимовирусам BaMMV, BaYMV, WSSMV, потивирусам MDMV, JGMV, SCMV и SrMV. Принадлежность всех полученных продуктов амплификации к целевому объекту была подтверждена их секвенированием. Результаты испытания некоторых праймеров представлены на рис. 4.

Для последующих испытаний, ввиду полного отсутствия неспецифичных продуктов амплификации, были выбраны праймеры PMB-70/PMB-71 (Jones et al., 2018), комплементарные пограничному участку генов 6K1 и CI генома WSMV. Установлена возможность использования этих праймеров как в одноэтапном формате ОТ-ПЦР (см. табл. 3), так и в двухэтапном формате ОТ-ПЦР с набором реагентов 5x Mas^{DP}Mix-2025 («Диалат», Россия), но преимущество имеет использование одноэтапного формата. Установлено, что чувствительность теста в формате одноэтапной ОТ-ПЦР с праймерами PMB-70/PMB-71 и набором реагентов One Tube RT-PCR TaqMan («Евроген», Россия) является очень высокой. Выявление изолята WSMV PV-0356 достигалось вплоть до разведения 10^6 со 100%-й повторяемостью результатов (см. рис. 5). Чувствительность теста с этими праймерами и набором реагентов 5x Genta Single-tube RT-PCR master mix («ГенТерра», Россия) оказалось значительно менее высокой: стабильное выявление изолята WSMV PV-0356 наблюдалось лишь для разведения 10^2 , а для разведения 10^{-3} было нестабильным (результаты не показаны).

С целью апробации разработанной методики 95 образцов зерновых культур, отобранных в 2024 г. на территории Краснодарского края, были протестированы методом ИФА с тест-системой фирмы Agdia, методом ОТ-ПЦР-PB с праймерами и зондом WSMV-F1/WSMV-R1/WSMV-Probe (Tatineni et al., 2010) и методом классической ОТ-ПЦР с праймерами PMB-70/PMB-71

2008) allow diagnosing both of these strains. For all the primers studied, no cross-reaction was observed with non-target cereal viruses belonging to the *Potyviriidae* family: tritymovirus BrSMV, bimoviruses BaMMV,



а) Праймеры WS8166F/WS8909R (Kudela et al., 2008), 740 п.о.
а) Primers WS8166F/WS8909R (Kudela et al., 2008), 740 bp.



б) Праймеры WSMV-F/WSMV-R (Lee et al., 2013), 834 п.о.
b) Primers WSMV-F/WSMV-R (Lee et al., 2013), 834 bp.



в) Праймеры PMB-70/PMB-71 (Jones et al., 2018), 748 п.о.
c) Primers PMB-70/PMB-71 (Jones et al., 2018), 748 bp.

Рис. 4. Результаты испытаний праймеров WS8166F/WS8909R (Kudela et al., 2008), WSMV-F/WSMV-R (Lee et al., 2013) и PMB-70/PMB-71 (Jones et al., 2018).
Образцы: 1 – WSMV PV-0356 DSMZ (штамм WSMV-B), 2 – WSMV +K, Agdia C3101 (штамм WSMV-D), 3 – WSMV +K, Loewe 07048PC (штамм WSMV-B), 4 – WSMV -K, N/D SP1521, 5 – BrSMV, +K Loewe 07123PC, 6 – WSSMV PC-0541, 7 – WSSMV +K, Agdia C2682, 8 – WSSMV +K, Loewe 07171PC, 9 – BaMMV PC-0329, BaYMV +K, Loewe 07006PC, 11 – MDMV PC-0802, 12 – SCMV PC- 0731, 13 - SrMV PC-0801, 14 - JGMV +K, Agdia, 15 – -K (вода), 16 – +K (смесь изолятов WSMV)

Fig. 4. Results of testing primers WS8166F/WS8909R (Kudela et al., 2008), WSMV-F/WSMV-R (Lee et al., 2013) and PMB-70/PMB-71 (Jones et al., 2018).
Samples: 1 – WSMV PV-0356 DSMZ (strain WSMV-B), 2 – WSMV +K, Agdia C3101 (strain WSMV-D), 3 – WSMV +K, Loewe 07048PC (strain WSMV-B), 4 – WSMV -K, N/D SP1521, 5 – BrSMV, +K Loewe 07123PC, 6 – WSSMV PC-0541, 7 – WSSMV +K, Agdia C2682, 8 – WSSMV +K, Loewe 07171PC, 9 – BaMMV PC-0329, BaYMV +K, Loewe 07006PC, 11 – MDMV PC-0802, 12 – SCMV PC- 0731, 13 - SrMV PC-0801, 14 - JGMV +K, Agdia, 15 – -K (water), 16 – +K (WSMV isolate mixture).

Табл. 4. Сравнение результатов ИФА, ОТ-ПЦР-РВ и классической ОТ-ПЦР в выявлении WSMV в образцах зерновых культур Краснодарского края

Table 4. Comparison of the results of ELISA, real-time RT-PCR and classical RT-PCR in the detection of WSMV in samples of grain crops of Krasnodar Krai

Образец	Sample	ИФА (о.е.)* ELISA (o.u.)*	WSMV F1/WSMV R1/WSMV P**	PMB70/PMB-71 1-step***
Пшеница, с. Алексеич	Wheat, Alekseich	0,715	20,84^a	+^b
Пшеница с. Алексеич, поле № 2122	Wheat, Alekseich, field No. 2122	0,214	24,55	+
Пшеница с. Алексеич, поле № 0205	Wheat, Alekseich, field No. 0205	0,633	23,56	+
Пшеница с. Алексеич, поле № 0205	Wheat, Alekseich, field No. 0205	0,893	18,51	+
Пшеница с. Алексеич	Wheat, Alekseich	0,298	22,13	+
Пшеница с. Вызов	Wheat, Vyzov	0,057	32,45	-^c
Пшеница с. Хит	Wheat, Hit	0,412	20,90	+
Пшеница с. Таня	Wheat, Tanya	0,320	17,40	+
Пшеница с. Эмма	Wheat, Emma	0,557	19,50	+
Пшеница с. Таврида	Wheat, Tavrida	0,446	17,62	+
Пшеница с. Гном	Wheat, Dwarf	0,061	H/O ^d	-
Пшеница с. Еланчик	Wheat, Elanchik	0,481	18,77	+
Пшеница с. Вызов	Wheat, Call	0,459	21,23	+
Пшеница с. Тимирязевка-150	Wheat, Timiryazevka 150	0,306	23,29	+
Пшеница с. Кольчуга	Wheat, Kolchuga	0,719	17,78	+
Пшеница с. Стиль-18	Wheat, Stil 18	0,350	30,43	+
Пшеница с. Баграт, поле № 16	Wheat, Bagrat, field No. 16	0,333	17,96	+
Пшеница с. Баграт, поле № 16	Wheat, Bagrat, field No. 16	0,065	H/O	-
Пшеница с. Таня, поле № 35	Wheat, Tanya, field No. 35	0,304	17,82	+
Пшеница с. Таня, поле № 35	Wheat, Tanya, field #35	0,524	18,53	+
Пшеница с. Еланчик, поле № 5K82	Wheat, Elanchik, field #5K82	0,362	18,25	+
Пшеница с. Победа-75, поле № 5K82	Wheat, Pobeda 75, field #5K82	0,071	H/O	-
Пшеница с. Стиль-18, поле № 5K82	Wheat, Stil 18, field #5K82	0,378	18,13	+
Пшеница с. Стиль-18, образец 3/6	Wheat, Stil 18, sample 3/6	0,241	23,58	+
Пшеница с. Эмма, образец 4/10	Wheat, Emma, sample 4/10	0,748	23,79	+
Пшеница с. Век, образец 3/11	Wheat, Vek, sample 3/11	2,542	19,19	+
Пшеница с. Еланчик, образец 3/11	Wheat, Elanchik, sample 3/11	1,988	19,92	+
Пшеница с. Стиль, образец 3/17	Wheat, Stil, sample 3/17	0,496	21,61	+
Пшеница с. Победа-75, образец 3/11	Wheat, Pobeda 75, sample 3/11	2,734	20,35	+
Отрицательный контроль	Negative control	0,063	H/O	-
Положительный контроль	Positive control	2,753	19,48	+

* Результаты ИФА (в оптических единицах)

с тест-системой к WSMV фирмы Agdia;

** ПЦР в «реальном времени» с праймерами и зондом WSMV F1/WSMV R1/WSMV P (Tatinene et al., 2010) и набором реагентов One Tube RT-PCR TaqMan («Евроген», Россия);

*** Классическая ПЦР с праймерами PMB70/PMB-71 (Jones, 2008) и набором реагентов One Tube RT-PCR mix («Евроген», Россия);

а – пороговый цикл, при котором произошло выявление целевого объекта;

б – целевой объект не выявлен;

в – наличие специфической полосы планируемой величины в геле, означающее выявление целевого объекта;

г – отсутствие специфической полосы в геле, означающее отсутствие целевого объекта

* Results of ELISA (in optical units)

with the test system for WSMV from Agdia

** Real-time PCR with primers and probe WSMV F1/WSMV R1/WSMV P (Tatinene et al., 2010) and One Tube RT-PCR TaqMan reagent kit (Evrogen, Russia)

*** Classical PCR with primers PMB70/PMB-71 (Jones, 2008) and the reagent kit “One Tube RT-PCR mix” (Evrogen, Russia)

a – threshold cycle at which the target object was detected

b – target object was not detected

c – presence of a specific band of the planned value in the gel, indicating detection of the target object

d – absence of a specific band in the gel, indicating the absence of the target object

(Jones et al., 2008). Некоторые партии образцов были протестированы также наборами для ОТ-ПЦР-РВ к WSMV фирм «Агродиагностика» и «Синтол» и методом классической ОТ-ПЦР с праймерами WSMV-F/WSMV-R (Lee et al., 2013). Результаты тестирования одной из партий образцов представлены в табл. 4.

Полное совпадение результатов во всех трех тестах наблюдалось для 28 образцов из 29 протестированных, или в 96,6% случаев. Лишь в образце пшеницы с. Вязов выявление WSMV методом ОТ-ПЦР-РВ не было подтверждено тестами методом ИФА и методом классической ОТ-ПЦР. Тем самым совпадение результатов ИФА и классической ОТ-ПЦР составило 100%, совпадение результатов ИФА и ОТ-ПЦР-РВ – 96,5%, совпадение результатов ОТ-ПЦР-РВ и классической ОТ-ПЦР – 96,5% (см. табл. 4).

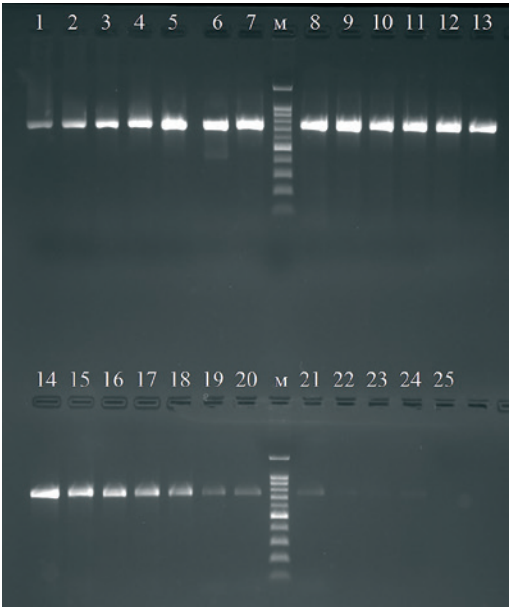


Рис. 5. Определение аналитической чувствительности теста с праймерами PMB-70/PMB-71 (Jones et al., 2018) и набором реагентов One Tube RT-PCR TaqMan («Евроген», Россия)

Fig. 5. Determination of analytical sensitivity of the test with primers PMB-70/PMB-71 (Jones et al., 2018) and the One Tube RT-PCR TaqMan reagent kit (Evrogen, Russia)

Схема опыта		no dilution – без разведения	
Experiment scheme:		dilution – разведение	
1	WSMV PV-0356, no dilution	14	WSMV PV-0356, dilution 10 ⁻⁴
2	WSMV PV-0356, no dilution	15	WSMV PV-0356, dilution 10 ⁻⁴
3	WSMV PV-0356, no dilution	16	WSMV PV-0356, dilution 10 ⁻⁵
4	WSMV PV-0356, dilution 10 ⁻¹	17	WSMV PV-0356, dilution 10 ⁻⁵
5	WSMV PV-0356, dilution 10 ⁻¹	18	WSMV PV-0356, dilution 10 ⁻⁵
6	WSMV PV-0356, dilution 10 ⁻¹	19	WSMV PV-0356, dilution 10 ⁻⁶
7	WSMV PV-0356, dilution 10 ⁻²	20	WSMV PV-0356, dilution 10 ⁻⁶
8	WSMV PV-0356, dilution 10 ⁻²	21	WSMV PV-0356, dilution 10 ⁻⁶
9	WSMV PV-0356, dilution 10 ⁻²	22	WSMV PV-0356, dilution 10 ⁻⁷
10	WSMV PV-0356, dilution 10 ⁻³	23	WSMV PV-0356, dilution 10 ⁻⁷
11	WSMV PV-0356, dilution 10 ⁻³	24	WSMV PV-0356, dilution 10 ⁻⁷
12	WSMV PV-0356, dilution 10 ⁻³	25	-K (water)
13	WSMV PV-0356, dilution 10 ⁻⁴		

BaYMV, WSSMV, potyviruses MDMV, JGMV, SCMV and SrMV. The belonging of all the obtained amplification products to the target object was confirmed by their sequencing. The results of testing some primers are presented in Figure 4.

For subsequent testing, due to the complete absence of non-specific amplification products, primers PMB-70/PMB-71 (Jones et al., 2018) complementary to the border region of the 6K1 and CI genes of the WSMV genome were selected. It was established that these primers can be used both in the 1-step RT-PCR format (Table 3) and in the 2-step RT-PCR format with the 5x Mas^{DP}Mix-2025 reagent kit (Dialat, Russia), but the 1-step format has an advantage. It was found that the sensitivity of the test in the 1-step RT-PCR format with primers PMB-70/PMB-71 and the One Tube RT-PCR TaqMan reagent kit (Evrogen, Russia) is very high. Detection of the WSMV PV-0356 isolate was achieved up to a dilution of 10⁶ with 100% repeatability of the results (Fig. 5). The sensitivity of the test with these primers and the reagent kit “5x Genta Single-tube RT-PCR master mix” (GenTerra, Russia) was significantly lower: stable detection of the WSMV PV-0356 isolate was observed only for a dilution of 10², and for a dilution of 10⁻³ it was unstable (results not shown).

In order to test the developed methodology, 95 samples of grain crops collected in 2024 in Krasnodar Krai were tested using the ELISA method with the Agdia test system, real-time RT-PCR method with primers and probe WSMV-F1/WSMV-R1/WSMV-Probe (Tatineni et al., 2010) and the classical RT-PCR method with primers PMB-70/PMB-71 (Jones et al., 2008). Some batches of samples were also tested with real-time RT-PCR kits for WSMV by AgroDiagnostica and Synthol and the classical RT-PCR method with primers WSMV-F/WSMV-R (Lee et al., 2013). The testing results of one of the sample batches of are presented in Table 4.

Complete match of the results in all three tests was observed for 28 samples out of 29 tested, or in 96.6% of cases. Only in the wheat sample from Vyzov village, the detection of WSMV by the real-time RT-PCR method was not confirmed by the tests by the ELISA method and the classical RT-PCR method. Thus, the agreement of the ELISA and classical RT-PCR results was 100%, the agreement of the ELISA and real-time RT-PCR results was 96.5%, the agreement of the real-time RT-PCR and classical RT-PCR results was 96.5% (Table 4).

Similar results were obtained when testing other sample batches. In addition, it was found that the ELISA method and the classical RT-PCR method, as a rule, do not confirm the presence of the target object in samples in which WSMV was detected by the real-time RT-PCR method at high threshold cycles (Cq > 35).

In this series of experiments, the possibility of effective use of primers and probe WSMV F1/WSMV R1/WSMV P with the reagent kit “2.5x Reaction mixture for RT-PCR” (Synthol, Russia) was also established. A high level of coincidence of test results by the classical RT-PCR method with primers PMB-70/PMB-71 (Jones et al., 2008) and WSMV-F/WSMV-R (Lee et al., 2013).

Сходные результаты были получены и при тестировании других партий образцов. Наряду с этим было констатируется, что метод ИФА и метод классической ОТ-ПЦР, как правило, не подтверждают наличие целевого объекта в образцах, в которых WSMV был выявлен методом ОТ-ПЦР-PB на высоких пороговых циклах ($C_q > 35$).

В данной серии экспериментов установлена также возможность эффективного использования праймеров и зонда WSMV F1/WSMV R1/WSMV P с набором реагентов 2,5х реакционная смесь для ПЦР-PB («Синтол», Россия). Констатируется также высокий уровень совпадения результатов тестов методом классической ОТ-ПЦР с праймерами PMB-70/PMB-71 (Jones et al., 2008) и WSMV-F/WSMV-R (Lee et al., 2013).

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Проведенные исследования позволили разработать методические рекомендации по выявлению и идентификации вируса полосатой мозаики пшеницы (WSMV), в которых для проведения отборочных (скрининговых) тестов рекомендуется использовать один из следующих тестов: методом ИФА с тест-системой к WSMV фирмы Agdia (США), методом ПЦР в «реальном времени» с набором реагентов для ОТ-ПЦР-PB к WSMV фирм «Агродиагностика» и «Синтол», или методом ПЦР в «реальном времени» с праймерами и зондом WSMV-F1/WSMV-R1/WSMV-probe (Tatinene et al., 2010). Наборы реагентов для ПЦР-PB к WSMV фирм «Агродиагностика» и «Синтол» целесообразно использовать для выявления WSMV при проведении фитосанитарного мониторинга посевов и для анализа семян зерновых культур, предназначенных для использования внутри Российской Федерации. Для анализа зерновой продукции, предназначенной для экспорта, в качестве скринингового теста более целесообразно использовать метод ИФА или одноэтапную ОТ-ПЦР-PB с праймерами и зондом WSMV F1/WSMV R1/WSMV P (Tatinene et al., 2010). Подтверждающий тест рекомендуется проводить с праймерами PMB-70/PMB-71 (Jones, 2008) в формате одноэтапной классической ОТ-ПЦР.

Исследования выполнены в рамках государственного задания (рег. № НИОКТР 123022100120-4).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Аблова И.Б., Беспалова Л.А., Мокроусов В.В., Аблова О.С., Бойко А.П. Вирусные болезни зерновых культур в Краснодарском крае// Защита и карантин растений. – 2012. – № 6. – С. 14–17.
2. Богоутдинов Д.З., Кастальева Т.Б., Гирсова Н.В. Вирусные заболевания зерновых культур в Самарской области// Вестник Оренбургского государственного университета. – 2017. – № 4 (204). – С. 46–52.
3. Власов Ю.И., Ларина Э.И. Сельскохозяйственная вирусология// М., Колос. – 1982. – 240 с.
4. Глинушкин А.П. Фитопатогенный комплекс пшеницы и меры борьбы с ним// Автореферат дисс... доктора с.-х. наук. – М., 2013. – 38 с.
5. Демьяненко Ф.П., Будзановска И.Х., Полищук В.П., Холоненко О.Л. Использование математических моделей для оценки распространённости фитовирусов в некоторых регионах Украины//

CONCLUSION

The conducted studies allowed to develop methodological guidelines for the detection and identification of wheat streak mosaic virus (WSMV), in which for conducting selection (screening) tests it is recommended to use one of the following tests: ELISA method with the test system for WSMV from Agdia (USA), PCR method in “real time” with a set of reagents for real-time RT-PCR for WSMV by AgroDiagnostica and Synthol, or real-time PCR with primers and probe WSMV-F1/WSMV-R1/WSMV-probe (Tatinene et al., 2010). It is advisable to use reagent kits for RT-PCR for WSMV by AgroDiagnostica and Synthol to detect WSMV during phytosanitary monitoring of crops and for analysis of grain crop seeds intended for use within the Russian Federation. For the analysis of grain products intended for export, it is more appropriate to use the ELISA method or a 1-step real-time RT-PCR with primers and probe WSMV F1/WSMV R1/WSMV P as a screening test (Tatinene et al., 2010). The confirmatory test is recommended to be carried out with primers PMB-70/PMB-71 (Jones, 2008) in the format of a 1-step classical RT-PCR.

The research was carried out within the framework of the State assignment (Reg. No. R&D 123022100120-4).

REFERENCES

1. Ablova I.B., Bepalova L.A., Mokrousov V.V., Ablova O.S., Boyko A.P. Viral diseases of cereal crops in Krasnodar Krai [Virusnyye bolezni zernovykh kultur v Krasnodarskom kraye] // Plant protection and quarantine. 2012; 6: 14–17. (In Russ.)
2. Bogoutdinov D.Z., Kastalyeva T.B., Girsova N.V. Viral diseases of grain crops in Samara Oblast [Virusnyye zabolevaniya zernovykh kultur v Samarskoy oblasti] // Bulletin of the Orenburg State University. 2017; 4 (204): P. 46–52. (In Russ.)
3. Vlasov Yu.I., Larina E.I. Agricultural virology [Selskokhozyaystvennaya virusologiya] // M., Kolos. 1982; 240 p. (In Russ.)
4. Glinushkin A.P. Phytopathogenic complex of wheat and control measures [Fitopatogennyy kompleks pshehitsy i mery borby s nim] // Abstract of diss... doctor of agricultural sciences. – M., 2013; 38 p. (In Russ.)
5. Demyanenko F.P., Budzanivska I.Kh., Polischuk V.P., Kholonenko O.L. Using mathematical models to assess the prevalence of phytoviruses in some regions of Ukraine [Ispolzovaniye matematicheskikh modeley dlya otsenki rasprostranennosti fitovirusov v nekotorykh regionakh Ukrainy] // Abstracts of the 2nd international conference “Bioresources and viruses”. Kyiv, 1998; 4-5. (In Russ.)
6. Zhivaeva T.S., Prikhodko Yu.N., Shneyder Yu.A., Lozovaya E.N., Pruchkina M.A., Selyavkin S.N., Khorina N.A., Karimova E.V. Seromonitoring of viruses in wheat crops on the territory of the Russian Federation [Seromonitoring virusov v posevakh pshehitsy na territorii Rossiyskoy Federatsii] // V All-Russian Congress on Plant Protection. Collection of abstracts of reports. SPb.: FGBNU VIZR, 2024; 44. (In Russ.)

Тезисы докладов 2-й международной конференции «Биоресурсы и вирусы». – Киев, 1998. – С. 4–5.

6. Живаева Т.С., Приходько Ю.Н., Шнейдер Ю.А., Лозовая Е.Н., Пручкина М.А., Селявкин С.Н., Хорина Н.А., Каримова Е.В. Серомониторинг вирусов в посевах пшеницы на территории Российской Федерации// V Всероссийский конгресс по защите растений. Сборник тезисов докладов. СПб.: ФГБНУ ВИЗР, 2024. – С. 44.

7. Приходько Ю. Н., Живаева Т. С., Лозовая Е. Н., Шнейдер Ю. А., Пручкина М. А., Башкирова И. Г., Каримова Е. В., Селявкин С. Н., Касаткин Д. Г., Комаров Д. А., Кобзарь В. Ф., Аблова И. Б., Пузырная О. Ю., Керимов Р. В. Видовой состав и распространенность вирусов пшеницы в Российской Федерации// Фитосанитария. Карантин растений. – 2024. – №4S (20B). – С. 71–72. <https://doi.org/10.69536/FKR.2024.38.66.001>.

8. Приходько Ю.Н., Живаева Т.С., Лозовая Е.Н., Селявкин С.Н., Шнейдер Ю.А., Пручкина М.А., Каримова Е.В. Серомониторинг вирусов пшеницы (2021–2023 гг.) Фитосанитария. Карантин растений. 2024. № S2-1 (18). С. 44.

9. Развязкина Г.М., Калкова Е.А., Белянчикова Ю.В. Вирус полосатой мозаики пшеницы // Защита растений от вредителей и болезней. – 1963. – № 9. – С. 54–55.

10. Bennypaul H., Abdullahi I., Harding M.W., Aboukhaddour R. First detection of European isolates of Wheat streak mosaic virus in Canada// Plant Disease. – 2019. – Vol.103. – P. 1442. <https://doi.org/10.1094/PDIS-12-18-2193-PDN>.

11. Coutts B.A., Banovic M., Kehoe M.A., Severtson D.L., Jones R.A.C. Epidemiology of Wheat streak mosaic virus in wheat in a Mediterranean-type environment// Eur. J. Plant Pathol. – 2014 a. – Vol. 140. – P. 797–813. DOI:10.1007/s10658-014-0510-x.

12. Coutts B.A., Hammond N.E.B., Kehoe M.A., Jones, R.A.C. Finding Wheat streak mosaic virus in southwest Australia// Aust. J. Agric. Res. – 2008 a. – Vol. 59. – P. 836–843. <https://doi.org/10.1071/AR08034>.

13. Deb M., Anderson J.M. Development of a multiplexed PCR detection method for Barley and Cereal yellow dwarf viruses, Wheat spindle streak virus, Wheat streak mosaic virus and Soil-borne wheat mosaic virus// J. Virol. Methods. – 2008. – Vol. 148. – P. 17–24. DOI: 10.1016/j.jviromet.2007.10.015.

14. Hall T.A. 1999. BioEdit: a user-friendly biological sequence alignment editor and analysis program for Windows 95/98/NT. Nucl. Acids. Symp. Ser.41: 95–98.

15. Inoue-Nagata A.K., Jordan R., Kreuze J., Li F., López-Moya J.J., Mäkinen K., Ohshima K., Wylie S.J. ICTV Virus Taxonomy Profile: Potyviridae// Journal of General Virology. – 2022. – 103:001738.

16. Jones A.C. Global plant virus disease pandemics and epidemics// Plants. – 2021, 10, 233. – <https://doi.org/10.3390/plants10020233>.

17. Jones R. A.C. Developing a sensitive dry seed test to detect seed-borne viruses in bulk seed samples of wheat// Project DAW00141, Department of Agriculture and Food Western Australia. – (DAFWA). – 2008. – 56 s.

18. Jones R.A.C., Vazquez-Iglesias I., Hajizadeh M., McGreig S., Gibbs A.J. Phylogenetics and

7. Prikhodko Yu. N., Zhivaeva T. S., Lozovaya E. N., Shneyder Yu. A., Pruchkina M. A., Bashkirova I. G., Karimova E. V., Selyavkin S. N., Kasatkin D. G., Komarov D. A., Kobzar V. F., Ablova I. B., Puzyrnaya O. Yu., Kerimov R. V. Species composition and prevalence of wheat viruses in the Russian Federation [Vidovoy sostav i rasprostranennost virusov pshenitsy v Rossiyskoy Federatsii] // Plant Health and Quarantine. 2024; 4S (20B): 71–72.<https://doi.org/10.69536/FKR.2024.38.66.001>. (In Russ.)

8. Prikhodko Yu.N., Zhivaeva T.S., Lozovaya E.N., Selyavkin S.N., Shneyder Yu.A., Pruchkina M.A., Karimova E.V. Seromonitoring of wheat viruses (2021–2023) [Seromonitoring virusov pshenitsy (2021–2023 gg.)] // Plant Health and Quarantine. 2024; S2-1 (18): 44. (In Russ.)

9. Razvyazkina G.M., Kalkova E.A., Belyanchikova Yu.V. Wheat stripe mosaic virus [Virus polosatoy mozaiki pshenitsy] // Plant protection from pests and diseases. 1963; 9: 54–55. (In Russ.)

10. Bennypaul H., Abdullahi I., Harding M.W., Aboukhaddour R. First detection of European isolates of Wheat streak mosaic virus in Canada// Plant Disease. – 2019. – Vol.103. – P. 1442. <https://doi.org/10.1094/PDIS-12-18-2193-PDN>.

11. Coutts B.A., Banovic M., Kehoe M.A., Severtson D.L., Jones R.A.C. Epidemiology of Wheat streak mosaic virus in wheat in a Mediterranean-type environment// Eur. J. Plant Pathol. – 2014 a. – Vol. 140. – P. 797–813. DOI:10.1007/s10658-014-0510-x.

12. Coutts B.A., Hammond N.E.B., Kehoe M.A., Jones, R.A.C. Finding Wheat streak mosaic virus in southwest Australia// Aust. J. Agric. Res. – 2008 a. – Vol. 59. – P. 836–843. <https://doi.org/10.1071/AR08034>.

13. Deb M., Anderson J.M. Development of a multiplexed PCR detection method for Barley and Cereal yellow dwarf viruses, Wheat spindle streak virus, Wheat streak mosaic virus and Soil-borne wheat mosaic virus// J. Virol. Methods. – 2008. – Vol. 148. – P. 17–24. DOI: 10.1016/j.jviromet.2007.10.015.

14. Hall T.A. 1999. BioEdit: a user-friendly biological sequence alignment editor and analysis program for Windows 95/98/NT. Nucl. Acids. Symp. Ser.41: 95–98.

15. Inoue-Nagata A.K., Jordan R., Kreuze J., Li F., López-Moya J.J., Mäkinen K., Ohshima K., Wylie S.J. ICTV Virus Taxonomy Profile: Potyviridae// Journal of General Virology. – 2022. – 103:001738.

16. Jones A.C. Global plant virus disease pandemics and epidemics// Plants. – 2021, 10, 233. – <https://doi.org/10.3390/plants10020233>.

17. Jones R. A.C. Developing a sensitive dry seed test to detect seed-borne viruses in bulk seed samples of wheat// Project DAW00141, Department of Agriculture and Food Western Australia. – (DAFWA). – 2008. – 56 s.

18. Jones R.A.C., Vazquez-Iglesias I., Hajizadeh M., McGreig S., Gibbs A.J. Phylogenetics and evolution of Wheat streak mosaic virus: Its global origin and the source of the Australian epidemic// Plant Pathology. – 2022. – Vol.71. – P.1660–1673. <https://doi.org/10.1111/ppa.13609>.

evolution of Wheat streak mosaic virus: Its global origin and the source of the Australian epidemic// *Plant Pathology*. – 2022. – Vol.71. – P. 1660–1673. <https://doi.org/10.1111/ppa.13609>.

19. Kúdela O., Kúdelová M., Nováková S., Glasa M. First report of Wheat streak mosaic virus in Slovakia// *Plant Disease*. – 2008. – Vol. 92, No. 9. – P. 1365. DOI: 10.1094/PDIS-92-9-1365C.

20. Lanoiselet V.M., Hind-Lanoiselet T.L., Murray G.M. Studies on the seed transmission of Wheat streak mosaic virus// *Australasian Plant Pathology*. – 2008. – Vol.37. – P. 584–588. <https://doi.org/10.1071/AP08059>.

21. Lee S., Kang E.-H., Chu Y.M., Shin Y.-G., Ahn T.-Y. Development of PCR diagnosis system for plant quarantine seed-borne Wheat streak mosaic virus// *Korean Journal of Microbiology*. – 2013. – Vol. 49, No. 2. – P. 112–117. <https://doi.org/10.7845/kjm.2013.3013>.

22. Masumi M., Rastegar M., Zare A., Lese-mann D.E., Ebrahim-Nesbat F., Izadpanah K. Wheat eqliid mosaic virus: a novel Potyviridae in Iran// *Parasitica*. – 2005. – Vol. Vol 61 (1). – P. 101–104.

23. Mishchenko L.T., Dunich S.A., Mishchenko I.A., Petrenkova V.P., Mukha T.I. Monitoring of economically important wheat viruses under weather conditions change in Ukraine and investigation of seed transmission of Wheat streak mosaic virus// *Bulgarian Journal of Agricultural Science*. – 2018. – Vol. 24 (No 4). – P. 660–669.

24. Navia D., de Mendonça R.S., Skoracka A., Szydo W., Knihinicki D., Hein G.L., da Pereira P.R.V., Truol G., Lau D. Wheat curl mite, *Aceria tosichella*, and transmitted viruses: an expanding pest complex affecting cereal crops// *Experimental and Applied Acarology*. – 2013. – Vol.59 (1/2). – P. 95–143. <https://doi.org/10.1007/s10493-012-9633-y>.

25. Price J.A., Smitha J., Simmons A., Fellers J., Rusha C.M. Multiplex real-time RT-PCR for detection of Wheat streak mosaic virus and Triticum mosaic virus// *Journal of Virological Methods*. – 2010. – Vol. 165. – P. 198–201. DOI: 10.1016/j.jviromet.2010.01.019.

26. Rabenstein F., Seifers D.L., Schubert J., French R., Stenger D.C. Phylogenetic relationships, strain diversity and biogeography of tritimoviruses// *Journal of General Virology*. – 2002. – Vol.83 (4). – P. 895–906. DOI: 10.1099/0022-1317-83-4-895.

27. Redila C.D., Prakash V., Nouri S. Metagenomics analysis of the wheat virome identifies novel plant and fungal-associated viral sequences// *Viruses*. – 2021. – 13, 2457. <https://doi.org/10.3390/v13122457>.

28. Rogers S.M., Payton M., Allen R.W., Melcher U., Carver J., Fletcher J. Method: a single nucleotide polymorphism genotyping method for Wheat streak mosaic virus// *Genetics* 2012, 3:10. – <http://www.investigativegenetics.com/content/3/1/10>.

29. Tamura K., Stecher G., and Kumar S. (2021) MEGA11: Molecular Evolutionary Genetics Analysis version 11. *Molecular Biology and Evolution* 38:3022–3027.

30. Tatineni S., Graybosch R.A., Hein G.L., Wegulo S.N., French R. Wheat cultivar-specific disease synergism and alteration of virus accumulation during co-infection with Wheat streak mosaic virus and Triticum mosaic virus// *Phytopathology*. – 2010. – Vol. 100 (3). – P. 230–238. DOI: 10.1094/PHYTO-100-3-0230.

19. Kúdela O., Kúdelová M., Nováková S., Glasa M. First report of Wheat streak mosaic virus in Slovakia// *Plant Disease*. – 2008. – Vol. 92, No. 9. – P. 1365. DOI: 10.1094/PDIS-92-9-1365C.

20. Lanoiselet V.M., Hind-Lanoiselet T.L., Murray G.M. Studies on the seed transmission of Wheat streak mosaic virus// *Australasian Plant Pathology*. – 2008. – Vol.37. – P. 584–588. <https://doi.org/10.1071/AP08059>.

21. Lee S., Kang E.-H., Chu Y.M., Shin Y.-G., Ahn T.-Y. Development of PCR diagnosis system for plant quarantine seed-borne Wheat streak mosaic virus// *Korean Journal of Microbiology*. – 2013. – Vol. 49, No. 2. – P.112–117. <https://doi.org/10.7845/kjm.2013.3013>.

22. Masumi M., Rastegar M., Zare A., Lese-mann D.E., Ebrahim-Nesbat F., Izadpanah K. Wheat eqliid mosaic virus: a novel Potyviridae in Iran// *Parasitica*. – 2005. – Vol. Vol 61 (1). – P.101–104.

23. Mishchenko L.T., Dunich S.A., Mishchenko I.A., Petrenkova V.P., Mukha T.I. Monitoring of economically important wheat viruses under weather conditions change in Ukraine and investigation of seed transmission of Wheat streak mosaic virus// *Bulgarian Journal of Agricultural Science*. – 2018. – Vol. 24 (No 4). – P. 660–669.

24. Navia D., de Mendonça R.S., Skoracka A., Szydo W., Knihinicki D., Hein G.L., da Pereira P.R.V., Truol G., Lau D. Wheat curl mite, *Aceria tosichella*, and transmitted viruses: an expanding pest complex affecting cereal crops// *Experimental and Applied Acarology*. – 2013. – Vol. 59 (1/2). – P. 95–143. <https://doi.org/10.1007/s10493-012-9633-y>.

25. Price J.A., Smitha J., Simmons A., Fellers J., Rusha C.M. Multiplex real-time RT-PCR for detection of Wheat streak mosaic virus and Triticum mosaic virus// *Journal of Virological Methods*. – 2010. – Vol. 165. – P. 198–201. DOI: 10.1016/j.jviromet.2010.01.019.

26. Rabenstein F., Seifers D.L., Schubert J., French R., Stenger D.C. Phylogenetic relationships, strain diversity and biogeography of tritimoviruses// *Journal of General Virology*. – 2002. – Vol.83 (4). – P.895–906. DOI: 10.1099/0022-1317-83-4-895.

27. Redila C.D., Prakash V., Nouri S. Metagenomics analysis of the wheat virome identifies novel plant and fungal-associated viral sequences// *Viruses*. – 2021. – 13, 2457. <https://doi.org/10.3390/v13122457>.

28. Rogers S.M., Payton M., Allen R.W., Melcher U., Carver J., Fletcher J. Method: a single nucleotide polymorphism genotyping method for Wheat streak mosaic virus// *Genetics* 2012, 3:10. – <http://www.investigativegenetics.com/content/3/1/10>.

29. Tamura K., Stecher G., and Kumar S. (2021) MEGA11: Molecular Evolutionary Genetics Analysis version 11. *Molecular Biology and Evolution* 38:3022–3027.

30. Tatineni S., Graybosch R.A., Hein G.L., Wegulo S.N., French R. Wheat cultivar-specific disease synergism and alteration of virus accumulation during co-infection with Wheat streak mosaic virus and Triticum mosaic virus// *Phytopathology*. – 2010. – Vol.100 (3). – P.230–238. DOI: 10.1094/PHYTO-100-3-0230.

31. Tatineni S., Hein G.L. Tritimoviruses and Ry-moviruses (Potyviridae)// Taxonomy – International Committee on Taxonomy of Viruses (ICTV). – 2020. – <https://talk.ictvonline.org/taxonomy/>.

32. CABI, 2025. Wheat streak mosaic virus (wheat streak) datasheet // <https://www.cabi.org/isc/datasheet/56858> (последнее обращение: 11.03.2025).

33. <https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi> (дата обращения: 15.01.2025).

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ

Живаева Татьяна Степановна, научный сотрудник научно-методического отдела вирусологии ФГБУ «ВНИИКР», р. п. Быково, м. о. Раменский, Московская обл., Россия, 140150;
e-mail: zhivaeva.vniikr@mail.ru

Приходько Юрий Николаевич, кандидат сельскохозяйственных наук, ведущий научный сотрудник научно-методического отдела вирусологии ФГБУ «ВНИИКР», р. п. Быково, м. о. Раменский, Московская обл., Россия;
e-mail: prihodko_yuri59@mail.ru

Лозовая Евгения Николаевна, научный сотрудник отдела аспирантуры ФГБУ «ВНИИКР», р. п. Быково, м. о. Раменский, Московская обл., Россия, 140150; *e-mail: evgeniyaf@mail.ru*

Шнейдер Юрий Андреевич, кандидат биологических наук, начальник научно-методического отдела вирусологии, ведущий научный сотрудник ФГБУ «ВНИИКР», р. п. Быково, м. о. Раменский, Московская обл., Россия, 140150;
ORCID 0000-0002-7565-1241, e-mail: yury.shneyder@mail.ru

Башкирова Ида Геннадьевна, кандидат биологических наук, научный сотрудник научно-методического отдела вирусологии ФГБУ «ВНИИКР», р. п. Быково, м. о. Раменский, Московская обл., Россия, 140150;
e-mail: bashkirova@mail.ru

Каримова Елена Владимировна, кандидат биологических наук, старший научный сотрудник, начальник научно-методического отдела вирусологии и бактериологии ФГБУ «ВНИИКР», р. п. Быково, м. о. Раменский, Московская обл., Россия;
ORCID 0000-0001-6474-8913, e-mail: elenavkar@mail.ru

31. Tatineni S., Hein G.L. Tritimoviruses and Ry-moviruses (Potyviridae)// Taxonomy – International Committee on Taxonomy of Viruses (ICTV). – 2020. – <https://talk.ictvonline.org/taxonomy/>.

32. CABI, 2025. Wheat streak mosaic virus (wheat streak) datasheet // <https://www.cabi.org/isc/datasheet/56858> (last accessed – 11.03.2025 r).

33. <https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi> (last accessed: 15.01.2025 r).

INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

Tatiana Zhivaeva, Researcher, Research and Methodology Department of Virology FGBU “VNIICR”, Bykovo, Ramenskoye, Moscow Oblast, Russia, 140150;
e-mail: zhivaeva.vniikr@mail.ru

Yuri Prikhodko, PhD in Agriculture, Leading Researcher, Research and Methodology Department of Virology, FGBU “VNIICR”, Bykovo, Ramenskoye, Moscow Oblast, Russia; *e-mail: prihodko_yuri59@mail.ru*

Evgeniya Lozovaya, Researcher, Postgraduate Department, FGBU “VNIICR”, Bykovo, Ramenskoye, Moscow Oblast, Russia, 140150; *e-mail: evgeniyaf@mail.ru*

Yuri Shneyder, PhD in Biology, Leading Researcher, Head of Research and Methodology Department of Virology, FGBU “VNIICR”, Bykovo, Ramenskoye, Moscow Oblast, Russia, 140150;
ORCID 0000-0002-7565-1241, e-mail: yury.shneyder@mail.ru

Ida Bashkirova, PhD in Biology, Researcher, Research and Methodology Department of Virology, FGBU “VNIICR”, Bykovo, Ramenskoye, Moscow Oblast, Russia, 140150; *e-mail: bashkirova@mail.ru*

Elena Karimova, PhD in Biology, Senior Researcher, Head of Research and Methodology Department of Virology and Bacteriology, FGBU “VNIICR”, Bykovo, Ramenskoye, Moscow Oblast, Russia;
ORCID 0000-0001-6474-8913, e-mail: elenavkar@mail.ru