

Сравнение методов выделения ДНК вирусных инфекций из табачной белокрылки *Bemisia tabaci* (Genn.) на примере вируса желтой курчавости листьев томата (TYLCV)

УШКОВА М.В.¹, ИВАНОВ А.В.², БОНДАРЕНКО Г.Н.³

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

³ ФГАОУ ВО «Российский университет дружбы народов им. Патриса Лумумбы» (РУДН)

¹ORCID 0000-0003-0102-1332,
e-mail: ushkovamariavladislavovna@gmail.com

²ORCID: 0009-0002-5361-6100,
e-mail: tonijons8@mail.ru

³ORCID: 0000-0002-1635-2508,
e-mail: Reseachergm@mail.ru

АННОТАЦИЯ

Табачная белокрылка (*Bemisia tabaci* Genn.) – один из ключевых переносчиков фитопатогенных вирусов, прежде всего бегомовирусов (сем. *Geminiviridae*), к которым и относится вирус желтой курчавости листьев томата (TYLCV).

В связи с тем, что TYLCV имеет фитосанитарный статус и регулируется в соответствии с Решением Совета Евразийской экономической комиссии от 30 ноября 2016 г. № 158, особенно важно обеспечить его раннее выявление и идентификацию. В рамках настоящего исследования было принято решение определить возможность выделения ДНК TYLCV из особей табачной белокрылки, хранящихся разными способами – в 70%-м растворе этилового спирта и в замороженном состоянии. Питание данных особей происходило на растениях томата, зараженных TYLCV. Сравнивали выделение ДНК разными коммерческими наборами, после чего проводили измерение концентрации ДНК. Затем осуществляли постановку ПЦР в режиме реального времени.

Дополнительно с целью анализа генетической последовательности участка гена цитохромоксидазы *B. tabaci* после выделения тотальной НК ставили классическую ПЦР к искомому фрагменту. Как показало исследование, ДНК-продукт был детектирован при обоих способах выделения,

Comparison of methods for isolating DNA of viral infections from *Bemisia tabaci* (Genn.) using the case of tomato yellow leaf curl virus (TYLCV)

MARIA V. USHKOVA¹, ANTON V. IVANOV², GALINA N. BONDARENKO³

^{1,2,3} All-Russian Plant Quarantine Center (FGBU “VNIIKR”), Bykovo, Ramenskoye, Moscow Oblast, Russia, 140150

³ Peoples' Friendship University of Russia named after Patrice Lumumba (RUDN University)

¹ORCID 0000-0003-0102-1332,
e-mail: ushkovamariavladislavovna@gmail.com

²ORCID: 0009-0002-5361-6100,
e-mail: tonijons8@mail.ru

³ORCID: 0000-0002-1635-2508,
e-mail: Reseachergm@mail.ru

ABSTRACT

Silverleaf whitefly (*Bemisia tabaci* Genn.) is one of the key vectors of phytopathogenic viruses, primarily begomoviruses (family *Geminiviridae*), which include tomato yellow leaf curl virus (TYLCV).

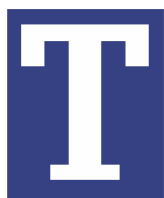
Since TYLCV has phytosanitary status and is regulated in accordance with Decision No. 158 of the Council of the Eurasian Economic Commission dated November 30, 2016, it is particularly important to ensure its early detection and identification. This study aimed to determine the feasibility of isolating TYLCV DNA from silverleaf whitefly individuals stored in different ways – in a 70% ethanol solution and frozen. These individuals fed on TYLCV-infected tomato plants. DNA extraction using different commercial kits was compared, after which DNA concentrations were measured. Real-time PCR was then performed.

Additionally, to analyze the genetic sequence of the *B. tabaci* cytochrome oxidase gene fragment after total NC isolation, classical PCR was applied to the

указанные методы применимы на практике. Так как в случае с образцами табачной белокрылки, хранящимися в 70%-м растворе этанола, наблюдали ингибирование реакции при выделении набором «Проба-НК», к использованию рекомендуется набор «ФитоСорб».

Ключевые слова. *Bemisia tabaci*, бегомовирусы, персистентно-циркулятивная передача, идентификация, карантин растений, ПЦР.

ВВЕДЕНИЕ



Табачная белокрылка (*Bemisia tabaci* Genn.) – один из наиболее опасных вредителей сельскохозяйственных культур, является переносчиком широкого спектра фитопатогенных вирусов, включая вирусы семейства Geminiviridae. Большинство бегомовирусов передаются белокрылкой в персистентно-циркулятивном, но непроникающем режиме: вирусные частицы проходят кишечник, гемолимфу и слюнные железы насекомого, взаимодействуя с белками-проводниками, что определяет эффективность и специфичность передачи. Среди вирусов семейства Geminiviridae выделяется Tomato yellow leaf curl virus (TYLCV) (Ghanim, 2014), вызывающий серьезные повреждения растений-хозяев, приводящие к значительным экономическим потерям. Его распространение представляет серьезную угрозу для сельского хозяйства, поскольку снижает урожайность и качество продукции.

Особенно остро стоит необходимость разработки эффективных методов диагностики и раннего выявления патогенов, позволяющих своевременно реагировать на вспышки вирусных инфекций и предотвращать их дальнейшее распространение в открытом и защищенном грунте.

Одним из ключевых аспектов идентификации является выделение нуклеиновых кислот вируса из организма насекомых-вредителей. Методы выделения нуклеиновых кислот различаются по эффективности, надежности и простоте исполнения. Поэтому выбор оптимального метода важен для повышения точности и скорости диагностического процесса.

Цель настоящего исследования состояла в сравнении двух коммерческих наборов для выделения ДНК TYLCV из особей табачной белокрылки, хранившихся различными способами: в замороженном состоянии и в 70%-м спиртовом растворе. Оценивалась эффективность выделения НК, концентрация полученного материала и его пригодность для дальнейшего молекулярно-генетического анализа методом полимеразной цепной реакции (ПЦР).

target fragment. The study demonstrated that the DNA product was detected using both isolation methods, and these methods are applicable in practice. Since inhibition of the reaction was observed with the Proba-NC kit for silverleaf whitefly samples stored in 70% ethanol, the FitoSorb kit is recommended for use.

Key words. *Bemisia tabaci*, Begomoviruses, persistent circulating transmission, identification, plant quarantine, PCR.

INTRODUCTION



Silverleaf whitefly (*Bemisia tabaci* Genn.) is one of the most dangerous agricultural pests, it is a vector of a wide range of phytopathogenic viruses, including viruses of the Geminiviridae family. Most begomoviruses are transmitted by whiteflies in a persistent-circulating, but non-penetrating mode: viral particles pass through the insect's intestines, hemolymph, and salivary glands, interacting with carrier proteins, which determines the efficiency and specificity of transmission. Among the viruses of the Geminiviridae family, Tomato yellow leaf curl virus (TYLCV) stands out (Ghanim, 2014), causing severe damage to host plants, leading to significant economic losses. Its spread poses a serious threat to agriculture, as it reduces crop yields and product quality.

There is a particularly pressing need to develop effective methods for diagnostics and early detection of pathogens, allowing for a timely response to outbreaks of viral infections and preventing their further spread in open and protected ground.

One of the key aspects of identification is the isolation of viral nucleic acids from insects. Nucleic acid extraction methods vary in efficiency, reliability, and ease of implementation. Therefore, choosing the optimal method is important for improving the accuracy and speed of the diagnostic process.

The aim of this study was to compare two commercial kits for the extraction of TYLCV DNA from silverleaf whiteflies stored in different ways: frozen and in a 70% alcohol solution. The efficiency of DNA extraction, the concentration of the resulting material, and its suitability for subsequent molecular genetic analysis using polymerase chain reaction (PCR) were assessed.

Табл. 1. Состав реакционной смеси для проведения амплификации
Table 1. Composition of the reaction mixture for amplification

Реагент Reagent	Объем, мкл Volume, µl
Реакционная смесь TYLCV ВПК TYLCV vPK reaction mixture	20
SynTaq (ВПК-полимераза) SynTaq (vPK polymerase)	0.5
Вода высокоочищенная (DNA-free) Water, highly purified (DNA-free)	17
ДНК DNA	2.0

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Для выделения ДНК из анализируемых насекомых использовали следующие наборы реагентов: – «Проба-НК» (ООО «Агродиагностика», Россия) – набор реагентов для выделения тотальной ДНК для образцов растительного материала, наиболее часто применяемый для выделения ДНК вирусов. Метод основан на экстракции нуклеиновых кислот с помощью химических соединений без сорбентов;

– «ФитоСорб» (ООО «Синтол», Россия) – набор реагентов для выделения ДНК и РНК из растительного материала (на магнитных частицах). Методика выделения ДНК и РНК основана на сорбции ДНК и РНК на покрытых силикагелем магнитных частицах с последующим осаждением преципитирующим реагентом.

Выделение НК проводили по прилагаемым к наборам инструкциям фирм-производителей.

Смысл с особей Bemisia tabaci

Брали особей табачной белокрылки, питающихся на растениях томата, зараженного TYLCV, что было подтверждено методами, указанными в Методических рекомендациях для выявления и идентификации данного вируса (МР ВНИИКР 39-2015). Помещали особей в пробирку объемом 1,5 мл, добавляли в пробирку 500 мкл экстрагирующего буфера, инкубировали в течение 40 мин с периодическим встряхиванием.

Последующее выделение наборами «Проба-НК» и «ФитоСорб» осуществляли согласно инструкции производителя.

После этапа выделения концентрацию и чистоту экстрагированной ДНК определяли на спектрофотометре NanoDrop 2000 (Thermo Fisher, США) для количественного определения ДНК в трехкратной повторности.

Для проведения амплификации использовали набор реагентов для диагностики ДНК бегомовирусов компании «Синтол» (Лозовая Е.Н. и др., 2023). Состав реакционной смеси представлен в табл. 1.

Амплификацию проводили на термоциклере BioRad CFX 96 (США). Условия приведены в табл. 2.

Дополнительно в качестве контроля выделения ДНК TYLCV из насекомых использовали ПЦР с праймерами к участку гена цитохромоксидазы (COI) табачной белокрылки. Проводили постановку классической ПЦР с универсальной праймерной системой S1859/A2191 (Garner, Slavicek, 1996; Schreiber et al., 1997) (см. табл. 3, 4).

MATERIALS AND METHODS

The following reagent kits were used to extract DNA from the analyzed insects:

– Proba-NK (Agrodiagnostika LLC, Russia) – a reagent kit for the extraction of total DNA from plant material samples, most commonly used for the isolation of viral DNA. The method is based on the extraction of nucleic acids using chemical compounds without sorbents;

– "FitoSorb" (Synthol LLC, Russia) is a reagent kit for the extraction of DNA and RNA from plant material (using magnetic particles). The DNA and RNA extraction method is based on the sorption of DNA and RNA onto silica-coated magnetic particles followed by precipitation with a precipitating reagent.

The isolation of NA was carried out according to the instructions supplied with the kits by the manufacturers.

Washing from Bemisia tabaci

Silverleaf whitefly individuals were collected feeding on TYLCV-infected tomato plants, which was confirmed using the methods specified in the Methodological Recommendations for the Detection and Identification of this virus (MR VNIKR 39-2015). Individuals were placed in a 1.5 ml test tube, 500 µl of extraction buffer was added to the tube, and the tube was incubated for 40 minutes with periodic shaking.

Subsequent isolation using the Proba-NK and FitoSorb kits was carried out according to the manufacturer's instructions.

After the extraction step, the concentration and purity of the extracted DNA were determined using a NanoDrop 2000 spectrophotometer (Thermo Fisher, USA) for DNA quantification in triplicate.

For amplification, a "Synthol" reagent kit for diagnostics of begomovirus DNA was used (Lozovaya E.N. et al., 2023). The composition of the reaction mixture is presented in Table 1.

Amplification was performed on a BioRad CFX 96 thermal cycler (USA). The conditions are given in Table 2.

Additionally, PCR with primers to the cytochrome oxidase (COI) gene region of the silverleaf whitefly was used as a control for the extraction of TYLCV DNA from

Табл. 2. Условия амплификации для детекции TYLCV набором Tomato yellow leaf curl disease-PB («Синтол», Россия)
Table 2. Amplification conditions for detection of TYLCV using the Tomato yellow leaf curl disease-PB kit (Synthol, Russia)

Этапы Stages	Условия амплификации Amplification conditions		
	T °C	t, мин t, min	Циклы Cycles
Первичная денатурация Primary denaturation	95	5:00	1
Денатурация Denaturation	95	0:15	50
Отжиг праймеров Primer annealing	60	0:40	

Табл. 3. Последовательность праймерной системы S1859/A2191

Table 3. Sequence of the S1859/A2191 primer system

Праймеры Primers	Последовательность праймера Primer sequence	Размер продукта, п.о. Product size, p.b.	Источник Source
S1859	5'-GGAACIGGATGAAC(A/T)GTTTA(C/T)CCICC-3'	350	Garner, Slavicek, 1996; Schreiber et al., 1997
A2191	5'-CCCGGTAAAATATAAACTTC-3'		

Табл. 4. Состав реакционной смеси для проведения амплификации с праймерной системой S1859/A2191 на фрагмент гена COI (на 25 мкл реакции)

Table 4. Composition of the reaction mixture for amplification with the S1859/A2191 primer system for the COI gene fragment (per 25 µl of reaction)

Реагент Reagent	Объем, мкл Volume, µl
5x Screen mix HS 5x Screen mix HS	5,0
S1859 праймер, 10 pmol S1859 primer, 10 pmol	0,5
A2191 праймер, 10 pmol A2191 primer, 10 pmol	0,5
Вода Water	17
ДНК DNA	2,0

ПЦР проводили в амплификаторе ProFlex™ PCR System (Сингапур, Thermo Fisher Scientific). Условия приведены в табл. 5.

После амплификации 5 мкл ПЦР-продукта раскапывали в лунки 1,5%-го агарозного геля с бромистым этидием в 0,5x TBE-буфере, разделяли с помощью электрофореза, рассматривали и фотографировали под УФ-светом. Полученный продукт ПЦР использовали для секвенирования.

Перед секвенированием проводили очистку ампликонов с использованием коммерческого набора DNA Purification Kit компании Thermo Fisher (США). Секвенирование осуществляли согласно MR VНИИКР 116-2018 на генетическом анализаторе Genetic Analyzer AB-3500 (Applied Biosystems, США).

Для изучения видовой принадлежности ДНК образца проводили первичное сравнение полученных последовательностей с базой данных ГенБанка с помощью интернет-ресурса NCBI BLAST. Последующую проверку, редактирование и выравнивание по референсной последовательности из ГенБанка последовательностей выполняли в редакторе «BioEdit version 7.0.5.3».

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Средние значения определения концентрации и коэффициента качества выделенной тотальной НК приведены в табл. 6. Оценку качества экстрагированной ДНК проводили на основании измерения оптической плотности раствора ДНК при 280 и 260 нм. Для качественно очищенных образцов ДНК соотношение оптических плотностей,

Табл. 5. Условия амплификации фрагмента гена COI с праймерной системой S1859/A2191

Table 5. Conditions for amplification of the COI gene fragment with the S1859/A2191 primer system

Этапы Stages	Условия амплификации Amplification conditions		
	T °C	t, мин t, min	Циклы Cycles
Первичная денатурация Primary denaturation	95	10:00	1
Денатурация Denaturation	95	0:15	
Отжиг праймеров Primer annealing	55	0:30	35
Элонгация Elongation	72	1:30	
Финальная элонгация Final elongation	72	3:00	1

* Примечание: T, °C – температура в градусах Цельсия; t, мин – время в минутах

* Note: T, °C – temperature in degrees Celsius; t, min – time in minutes

insects. Classical PCR was performed with the universal primer system S1859/A2191 (Garner and Slavicek, 1996; Schreiber et al., 1997) (see Tables 3 and 4).

PCR was performed in a ProFlex™ PCR System (Singapore, Thermo Fisher Scientific). The conditions are listed in Table 5.

After amplification, 5 µl of the PCR product was pipetted into wells of a 1.5% agarose gel containing ethidium bromide in 0.5x TBE buffer, separated by electrophoresis, examined, and photographed under UV light. The resulting PCR product was used for sequencing.

Before sequencing, amplicons were purified using a commercial DNA Purification Kit from Thermo Fisher (USA). Sequencing was performed according to MR VНИИКР 116-2018 on a Genetic Analyzer AB-3500 (Applied Biosystems, USA).

To determine the species identity of the DNA sample, an initial comparison of the obtained sequences with the GenBank database was performed using the NCBI BLAST online resource. Subsequent verification, editing, and alignment with the GenBank reference sequence were performed using BioEdit version 7.0.5.3.

Табл. 6. Сравнение методов выделения ДНК
Table 6. Comparison of DNA extraction methods

Метод Storage method	«Проба-НК» Proba-NK			«ФитоСорб» FitoSorb		
	№ п/п №	Концентрация, нг/мкл Concentration, ng/μl	Показатель 260/280 нм Indicator 260/280 nm	№ п/п №	Концентрация, нг/мкл Concentration, ng/μl	Показатель 260/280 нм Indicator 260/280 nm
Заспиргованы Alcohol-preserved	1	34,7	2,01	1	22,3	1,88
	2	29,1	2,04	2	25,4	1,96
	3	31,6	1,95	3	34,3	2,07
	4	33,7	2,00	4	21,5	2,00
	5	26,3	1,93	5	32,5	2,08
Заморожены Frozen samples	6	39,2	1,80	6	23,2	1,89
	7	41,3	2,03	7	31,7	1,98
	8	43,5	2,05	8	34,8	2,13
	9	37,4	2,04	9	27,8	1,95
	10	34,2	1,89	10	41,3	2,02

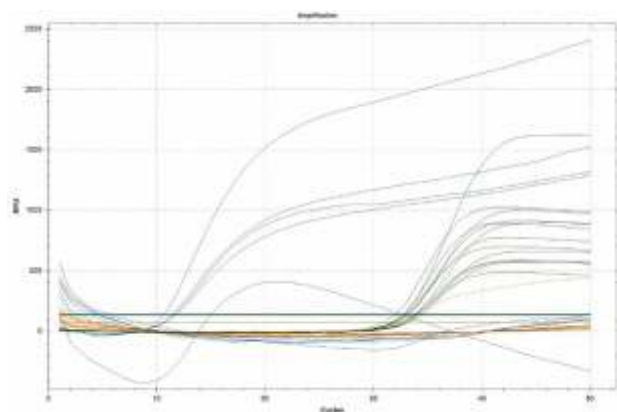


Рис. 1. Результаты ПЦР-РВ с исследуемыми образцами табачной белокрылки: слева – выделение набором «Проба-НК», справа – «ФитоСорб», где FAM – TYLCV (специфичный ген) (синий); HEX – внутренний положительный контроль (зеленый)

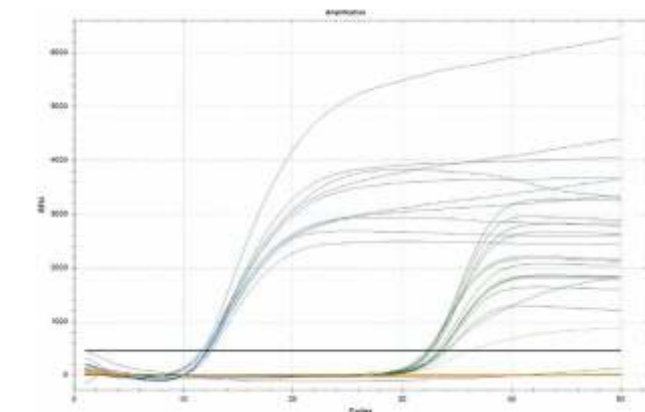


Fig. 1. Results of RT-PCR with the studied silverleaf whitefly samples: on the left – isolation by the Proba-NK kit, on the right – by the FitoSorb kit, where FAM is TYLCV (specific gene) (blue); HEX is the internal positive control (green)

полученных при 260/280 нм, должно быть в интервале 1,8–2,2. Более низкий показатель может указывать на наличие значительного количества белковых примесей, фенолов или других контаминантов, которые сильно поглощают свет при 280 нм, что говорит о возможном загрязнении образца остатками веществ после процесса экстракции.

Результаты ПЦР-реакции с использованием набора «ФитоСорб» показали успешное выявление целевой последовательности ДНК TYLCV, что подтверждает эффективность метода экстракции. Напротив, применение набора «Проба-НК» не показало результата в отношении заспиртованных образцов, что указывает на возможное ингибирование реакции ПЦР или недостаточную очистку образцов (см. табл. 7, рис. 1).

По результатам постановки классической ПЦР с праймерной системой S1859/A2191 на фрагмент гена COI ДНК продукт амплифицировался успешно и в случае выделения набором «Проба-НК», и в случае выделения набором «Фитосорб» (см. рис. 2). Длина полученного продукта ПЦР составляет примерно 350 п.о.

RESULTS AND DISCUSSION

The average values for the determination of the concentration and quality factor of the isolated total NA are presented in Table 6. The quality of the extracted DNA was assessed by measuring the optical density of the DNA solution at 280 and 260 nm. For high-quality purified DNA samples, the ratio of optical densities obtained at 260/280 nm should be in the range of 1.8–2.2. A lower value may indicate the presence of significant amounts of protein impurities, phenols, or other contaminants that strongly absorb light at 280 nm, indicating possible contamination of the sample with residues from the extraction process.

The PCR results using the FitoSorb kit demonstrated successful detection of the target TYLCV DNA sequence, confirming the effectiveness of the extraction method. In contrast, the Proba-NK kit failed to detect alcohol-preserved samples, indicating possible inhibition of the PCR reaction or insufficient sample purification (see Table 7, Fig. 1).

Табл. 7. Результаты ПЦР-РВ с исследуемыми образцами табачной белокрылки: слева – выделение набором «Проба-НК», справа – «ФитоСорб»

Table 7. Results of RT-PCR with the studied samples of silverleaf whitefly: on the left – isolation by the Proba-NK kit, on the right – by the FitoSorb kit

	№ п/п №	Образец Sample	Ср, FAM Av, FAM	Ср, HEX Av, HEX	№ п/п №	Образец Sample	Ср, FAM Av, FAM	Ср, HEX Av, HEX
Заспиргованные образцы Alcohol-preserved	1	1	N/A	31,95	1	1	11,60	32,45
	2	2	N/A	33,15	2	2	11,85	33,57
	3	3	N/A	32,54	3	3	12,13	33,20
	4	4	N/A	32,82	4	4	12,10	33,45
	5	5	N/A	33,81	5	5	12,35	32,21
Замороженные образцы Frozen samples	6	6	11,72	34,36	6	6	11,77	32,42
	7	7	10,65	33,14	7	7	12,58	33,48
	8	8	11,45	34,20	8	8	12,07	32,77
	9	9	15,08	32,89	9	9	12,19	32,62
	10	10	11,87	33,88	10	10	12,26	32,49
Контроль Controls	11	К+	32,82	33,69	11	К+	33,97	33,73
	12	-К	N/A	N/A	12	-К	N/A	N/A
	13	-К	N/A	N/A	13	-К	N/A	N/A

Примечание: FAM – фрагмент гена (TYLCV) (по каналу флуоресценции FAM/Green); HEX – внутренний положительный контроль (ВПК) (по каналу флуоресценции R6G/HEX)

Note: FAM is a gene fragment (TYLCV) (using the FAM/Green fluorescence channel); HEX is an internal positive control (IPC) (using the R6G/HEX fluorescence channel)



Рис. 2. Электрофореграмма классической ПЦР с праймерной системой S1859/A2191, где 1–10 – виды *Bemisia tabaci*: с 1-го по 5-й – выделенные набором «Проба-НК», с 6-го по 10-й – выделенные набором «ФитоСорб», 11 – положительный контроль, К – отрицательный контроль, М – маркер молекулярного веса

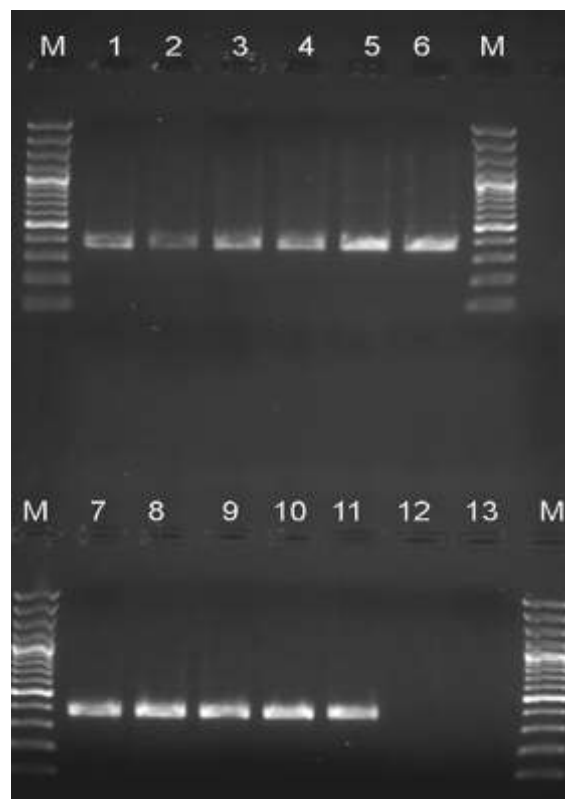


Fig. 2. Electropherogram of classical PCR with the S1859/A2191 primer system, where 1–10 are *Bemisia tabaci* species: 1–5 isolated with the Proba-NK kit, 6–10 isolated with the FitoSorb kit, 11 is the positive control, K is the negative control, M is the molecular weight marker

Табл. 8. Результаты секвенирования участка гена COI видов *Bemisia tabaci*

Table 8. Results of sequencing of the COI gene region of *Bemisia tabaci* species

№ п/п №	Результат исследования (испытания) Study (test) result	Покрытие Coverage	Идентичность Identity
1	<i>Bemisia tabaci</i> isolate	100%	99,06%
2	<i>Bemisia tabaci</i> isolate	98%	99,08%
3	<i>Bemisia tabaci</i> isolate	100%	99,08%
4	<i>Bemisia tabaci</i> isolate	94%	92,72%
5	<i>Bemisia tabaci</i> isolate	100%	99,08%
6	<i>Bemisia tabaci</i> isolate	100%	99,38%
7	<i>Bemisia tabaci</i> isolate	99%	98,77%
8	<i>Bemisia tabaci</i> isolate	98%	99,08%
9	<i>Bemisia tabaci</i> isolate	99%	98,43%
10	<i>Bemisia tabaci</i> isolate	98%	99,04%

По результатам секвенирования были получены последовательности участка гена COI видов *Bemisia tabaci*. Данные представлены в табл. 8.

Как показало исследование, ДНК-продукт выделился аналогично в обоих способах экстракции, оба набора применимы на практике. Так как в случае с образцами табачной белокрылки, хранящимися в 70%-м растворе этанола, наблюдалось ингибирование реакции при выделении набором «Проба-НК», к использованию рекомендуется набор «ФитоСорб».

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

По результатам исследования ДНК насекомых и вируса выделились одинаково, оба набора применимы на практике. Однако при выделении набором «Проба-НК» в связи с ингибированием ПЦР с праймерами для выявления табачной белокрылки при тестировании образцов, хранящихся в 70%-м растворе этанола, к использованию рекомендуется набор «ФитоСорб».

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Лозовая Е.Н., Приходько Ю.Н., Живаева Т.С., Шнейдер Ю.А. Диагностика вирусов рода *Begomovirus*. Фитосанитария. Карантин растений. 2023; (1): 23–31. <https://doi.org/10.69536/v0718-2972-0994-b>
2. МР ВНИИКР 39-2015. Методические рекомендации по выявлению и идентификации бегомовируса желтой курчавости листьев томата Tomato yellow leaf curl begomovirus ФГБУ «ВНИИКР», 2015, 99 с.
3. De Barro, P.J.; Liu, S.-S.; Boykin, L.M.; Dinsdale, A.B. *Bemisia tabaci*: A statement of species status. Annu. Rev. Entomol. 2011, 56, 1–19.
4. Ghanim, M. A review of the mechanisms and components that determine the transmission efficiency of tomato yellow leaf curl virus (Geminiviridae; Begomovirus) by its whitefly vector. Virus Res. 2014, 186, 47–54.
5. Fiallo-Olivé, E.; Pan, L.L.; Liu, S.S.; Navas-Castillo, J. Transmission of begomoviruses and other whitefly-borne viruses: Dependence on the vector species. Phytopathology 2020, 110, 10–17.
6. Hogenhout, S.A.; Ammar, E.-D.; Whitfield, A.E.; Redinbaugh, M.G. Insect vector interactions with

According to the results of classical PCR with the S1859/A2191 primer system on the COI gene fragment, the DNA product was successfully amplified in the case of isolation with both the Proba-NK kit and the Fitosorb kit (Fig. 2). The length of the obtained PCR product is approximately 350 bp.

Based on the sequencing results, the sequences of the COI gene region of *Bemisia tabaci* species were obtained. The data are presented in Table 8.

The study showed that the DNA product was isolated similarly using both extraction methods, and both kits are applicable in practice. Since inhibition of the reaction was observed with the Proba-NK kit for tobacco whitefly samples stored in 70% ethanol, the FitoSorb kit is recommended for use.

CONCLUSION

Based on the study results, insect and viral DNA extraction was identical, and both kits are applicable. However, due to inhibition of PCR with silverleaf whitefly primers when testing samples stored in 70% ethanol, the FitoSorb kit is recommended for use with the Proba-NK kit.

REFERENCES

1. Lozovaya E.N., Prikhodko Yu.N., Zhivaeva T.S., Shneyder Yu.A. Diagnosis of viruses of the genus *Begomovirus*. Plant Health and Quarantine. 2023; (1): 23–31. <https://doi.org/10.69536/v0718-2972-0994-b>
2. MR VNIKR 39-2015. Methodological recommendations for the detection and identification of tomato yellow leaf curl begomovirus FGBU "VNIKR", 2015, 99 p.
3. De Barro, P.J.; Liu, S.-S.; Boykin, L.M.; Dinsdale, A.B. *Bemisia tabaci*: A statement of species status. Annu. Rev. Entomol. 2011, 56, 1–19.
4. Ghanim, M. A review of the mechanisms and components that determine the transmission efficiency of tomato yellow leaf curl virus (Geminiviridae; Begomovirus) by its whitefly vector. Virus Res. 2014, 186, 47–54.

persistently transmitted viruses. *Annu. Rev. Phytopathol.* 2008, 46, 327–359.

7. Power, A.G. Insect transmission of plant viruses: A constraint on virus variability. *Curr. Opin. Plant. Biol.* 2000, 3, 336–340.

8. Rosen, R.; Kanakala, S.; Kliot, A.; Cathrin Pakkianathan, B.; Farich, B.A.; Santana-Magal, N.; Elimelech, M.; Kontsedalov, S.; Lebedev, G.; Cilia, M.; et al. Persistent, circulative transmission of begomoviruses by whitefly vectors. *Curr. Opin. Virol.* 2015, 15, 1–8.

9. Whitfield, A.E.; Falk, B.W.; Rotenberg, D. Insect vector-mediated transmission of plant viruses. *Virology* 2015, 479, 278–289.

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ

Ушкова Мария Владиславовна, младший научный сотрудник лаборатории энтомологии ИЛЦ ФГБУ «ВНИИКР», пгт Быково, м. о. Раменский, Московская обл., Россия.

ORCID 0000-0003-0102-1332,

e-mail: ushkovamariavladislavovna@gmail.com

Иванов Антон Владиславович, младший научный сотрудник лаборатории гельминтологии ИЛЦ ФГБУ «ВНИИКР», пгт Быково, м. о. Раменский, Московская обл., Россия.

Бондаренко Галина Николаевна, старший научный сотрудник – начальник ИЛЦ ФГБУ «ВНИИКР», пгт Быково, м. о. Раменский, Московская обл., Россия. Доцент РУДН, Москва, Россия.

ORCID: 0000-0002-1635-2508,

e-mail: Reseachergm@mail.ru

5. Fiallo-Olivé, E.; Pan, L.L.; Liu, S.S.; Navas-Castillo, J. Transmission of begomoviruses and other whitefly-borne viruses: Dependence on the vector species. *Phytopathology* 2020, 110, 10–17.

6. Hogenhout, S.A.; Ammar, E.-D.; Whitfield, A.E.; Redinbaugh, M.G. Insect vector interactions with persistently transmitted viruses. *Annu. Rev. Phytopathol.* 2008, 46, 327–359.

7. Power, A.G. Insect transmission of plant viruses: A constraint on virus variability. *Curr. Opin. Plant. Biol.* 2000, 3, 336–340.

8. Rosen, R.; Kanakala, S.; Kliot, A.; Cathrin Pakkianathan, B.; Farich, B.A.; Santana-Magal, N.; Elimelech, M.; Kontsedalov, S.; Lebedev, G.; Cilia, M.; et al. Persistent, circulative transmission of begomoviruses by whitefly vectors. *Curr. Opin. Virol.* 2015, 15, 1–8.

9. Whitfield, A.E.; Falk, B.W.; Rotenberg, D. Insect vector-mediated transmission of plant viruses. *Virology* 2015, 479, 278–289.

INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

Maria Ushkova, Junior Researcher, Entomology Laboratory, Testing Laboratory Center, FGBU “VNIKR”, Bykovo, Ramenskoye, Moscow Oblast, Russia.

ORCID 0000-0003-0102-1332,

e-mail: ushkovamariavladislavovna@gmail.com

Anton Ivanov, Junior Researcher, Helminthology laboratory, Testing Laboratory Center, FGBU “VNIKR”, Bykovo, Ramenskoye, Moscow Oblast, Russia.

ORCID: 0009-0002-5361-6100,

e-mail: tonijons8@mail.ru

Galina Bondarenko, Senior Researcher – Head of Testing Laboratory Center, FGBU “VNIKR”, Bykovo, Ramenskoye, Moscow Oblast, Russia. Associate Professor, RUDN University, Moscow, Russia.

ORCID: 0000-0002-1635-2508,

e-mail: Reseachergm@mail.ru