

переместить рычаг установки на норму высева семян на определенное деление и открыть клапан высевающих аппаратов перемещением рычага в определенное положение [1].

Поэтому технологическое обслуживание выполняют по установленным правилам, которые необходимо соблюдать. Машины, не прошедшие очередного технического обслуживания, к работе не должны допускаться.

Библиографический список

1. Капустин, В. П. Сельскохозяйственные машины. Настройка и регулировка: Учебное пособие [Текст] / В. П. Капустин, Ю. Е. Глазков. - Тамбов: Издательство Тамбовского государственного технического университета, 2010. - 196 с.

2. Варнаков, В. В. Технический сервис машин сельскохозяйственного назначения [Текст] / В. В. Варнаков, В. В. Стрельцов, В. Н. Попов, В. Ф. Коренков. - М.: КолосС, 2004. - 253 с.

3. Брусенков, А. В. Совершенствование технического сервиса машин, используемых в растениеводстве [Текст] / А. В. Брусенков, В. П. Капустин // Ресурсосберегающие технологии при хранении и переработке с/х продукции: материалы XIV Международного научно-практического семинара. - Орёл: ООО полиграфическая фирма «Картуш», 2018. - С.109-116.

4. Эффективные технологии для села [Текст]. - М.: ФГНУ «Росинформагротех», 2006. - 148 с.

5. Брусенков, А. В. Диагностика и технологическое обслуживание сельскохозяйственных машин, используемых в АПК / А. В. Брусенков, В. П. Капустин, А. С. Пилягин // Современные тенденции в науке и образовании [электронный ресурс]: материалы Международной научно-практической конференции. - София: Издательство Кыца «СОРОС», 2017. - С.74-81.

УДК 632.911.2

МЕТОДЫ ЛАБОРАТОРНОЙ ДИАГНОСТИКИ ПОЧВООБИТАЮЩИХ ВИРУСОВ ЗЕРНОВЫХ КУЛЬТУР

Звягинцева Дарья Дмитриевна, аспирант кафедры защиты растений, ФГБОУ ВО РГАУ - МСХА имени К.А.Тимирязева, dzvyaginseva@gmail.com

Аннотация: Почвообитающие вирусы зерновых культур – широко распространённые, вредоносные и трудноискореняемые патогены, выявленные и в России. Для их идентификации во многих странах используются серологические и молекулярные методы, такие как ИФА и ОТ-ПЦР. Перспективным методом является ОТ-ПИРА.

Ключевые слова: зерновые культуры, вирусы, ОТ-ПЦР, ИФА, ОТ-ПИРА.

Введение. Почвообитающие вирусы (soil-borne virus) являются одной из наиболее вредоносных и трудноискореняемых групп патогенов злаковых зерновых культур. Эти патогены принадлежат к двум родам: *Furovirus* семейства *Virgaviridae* и *Bymovirus* семейства *Potyviriidae*. На сегодняшний день вирусы этой группы выявлены на посевах

зерновых в Германии, Польше, Италии, Франции, Бельгии, Великобритании, США, Индии, Японии и Австралии, а также в странах Южной Америки. В России почвообитающие вирусы обнаружены в Самарской, Ярославской и Оренбургской областях [1]. Потери урожая, вызванные этими вирусами, могут достигать 80%.

Характерными симптомами поражения почвообитающими вирусами ячменя и пшеницы являются розеточная карликовость растений и системная мозаичность листьев, а также часто - некроз концевой части листа. Похожие признаки могут быть вызваны и другими заболеваниями, как инфекционной, так и неинфекционной этиологии.

Переносчиком почвообитающих вирусов является грибоподобный организм из отдела Плазмодиофоромицеты *Polymyxa graminis*. Выявить его плазмодий в корнях зараженных растений и покоящиеся споры в почве можно при помощи методов световой микроскопии, однако их наличие, разумеется, не подтверждает присутствие вирусов. Такие методы, как визуальная оценка пораженности, использование растений-индикаторов, а также определение переносчика почвообитающих вирусов зерновых культур не являются достоверными, требуется диагностика вирусных болезней серологическим и молекулярно-генетическим методами.

Целью работы было проведение начального аналитического обзора источников возможных методов выявления на зерновых культурах вирусов родов *Furovirus* и *Vumovirus*.

Результаты. Для выявления белков оболочки вируса в растительном материале широко используется метод иммуноферментного анализа (ИФА, DAS-ELISA). В основе этого метода лежит реакция “антиген-антитело” [2]. На первом этапе происходит иммобилизация антител в лунках планшета. Второй этап – внесение растительного экстракта и образование иммунокомплекса «антиген-антитело». Далее формируется комплекс «антитело-антиген-антитело-щелочная фосфатаза-конъюгат», который разрушается в ходе последующей ферментативной реакции щелочной фосфатазы с субстратом. В результате образуется свободный 4-нитрофенол и раствор приобретает желтую окраску, интенсивность которой оценивают спектрофотометрически. Интенсивность окраски образцов сравнивают с интенсивностью окраски контролей реакции, положительного и отрицательного, и по результатам сравнения делают выводы о присутствии белков оболочки вируса в исследуемых образцах. ИФА является экономически эффективным [4], но весьма трудоёмким методом, и требует большого количества времени – анализ занимает два дня. Также его порог чувствительности довольно высок по сравнению с альтернативными методиками.

Существенным ограничением является непригодность использования ИФА для выявления вирусов в сухих семенах - требуется предварительное проращивание, что также увеличивает время, необходимое для исследования. Наборы для проведения ИФА производят фирмы «Neogen» (США), «Loewe» (Германия) и другие.

В настоящее время метод обратной транскрипции – полимеразной цепной реакции (ОТ-ПЦР) является основным методом обнаружения вирусов в растительном материале. В основе этого метода лежит синтез ДНК на матрице кДНК со специфичными праймерами при помощи Таq-полимеразы. Обратная транскрипция может быть проведена отдельно, либо в ходе ОТ-ПЦР «в одной пробирке». Регистрация продуктов может проходить либо непосредственно в процессе реакции (ПЦР в реальном времени), либо при помощи гель-электрофореза («классическая» ПЦР). В первом случае проводят

регистрацию интенсивности флюоресценции реакционной смеси и сравнивают с заданным пороговым значением. Продукты «классической» ПЦР подвергают электрофорезу в агарозном геле и регистрируют результат в ультрафиолете. Метод ОТ-ПЦР характеризуется высокой чувствительностью и специфичностью, однако, в отличие от ИФА, требует предварительного выделения РНК из растительного экстракта. Наборы для проведения ОТ-ПЦР, а также реактивы для самостоятельной сборки тест-систем производят фирмы «Синтол» (Россия), «Агродиагностика» (Россия), «Евроген» (Россия), «Диалат» (Россия) и другие.

В 2000 году Нотоми и коллеги разработали метод петлевой изотермической реакции амплификации (ПИРА) [3]. В 2013 году Фукута и коллеги [4] предложили использовать ПИРА для диагностики вирусов злаковых зерновых культур. ПИРА основана на автоматическом заместительном синтезе ДНК при помощи Bst-ДНК-полимеразы на матрице кДНК со специфичными праймерами. В ПИРА используется набор из четырёх различных праймеров, комплементарных шести участкам целевой последовательности. В качестве побочного продукта реакции образуется пирофосфат магния, придающий раствору мутность, которую можно обнаружить в том числе визуально. ПИРА является изотермической, что позволяет использовать более простое и доступное оборудование. Другими достоинствами ПИРА по сравнению с ОТ-ПЦР является меньшая продолжительность реакции - ПИРА проходит за 40 минут, тогда как для прохождения ОТ-ПЦР требуется от 45 минут до 3 часов; более простой и быстрый способ детекции; возможность использовать один фермент (Bst-ДНК-полимераза с ревертазной активностью) для обратной транскрипции и амплификации; упрощенная пробоподготовка образцов для исследований – для ПИРА возможно использование растительного экстракта, тогда как для ОТ-ПЦР необходимо предварительное выделение РНК. Основная трудность этого метода состоит в дизайне праймеров [5].

Заключение. В настоящее время для диагностики на зерновых культурах вирусов родов *Furovirus* и *Vumovirus* широко используются серологические и молекулярные методы, такие как ИФА (DAS-ELISA) и ОТ-ПЦР (RT-PCR). Оба этих метода обладают рядом достоинств и недостатков, и в практике диагностики вирусных заболеваний растений используются параллельно. Возможно использование одного метода в качестве скринингового, а другого в качестве подтверждающего. Метод ОТ-ПИРА обладает рядом достоинств по сравнению с ОТ-ПЦР и ИФА, и представляется наиболее перспективным, однако оптимизация ОТ-ПИРА для диагностики конкретных патогенных организмов весьма трудоёмка.

Библиографический список

1. Звягинцева, Д. Д. Мониторинг и меры защиты от почвообитающих вирусов пшеницы и ячменя [Текст] / Д. Д. Звягинцева, О. О. Белошапкина // Международная научная конференция молодых учёных и специалистов, посвящённая 160-летию В.А. Михельсона. - 2020. - Т. 1. - С. 23-25.
2. Abd El-Aziz, M. Three modern serological methods to detect plant viruses / M. Abd El-Aziz // Journal of Plant Science and Phytopathology. - 2019. - Vol. 3. - Pp. 101-106.
3. Bercher, L. Loop-mediated isothermal amplification (LAMP) – review and classification of methods for sequence-specific detection / L. Bercher [et al] // Analytical Methods. - 2020. - Vol. 12. - Pp. 717-746.

4. Fukuta, S. Differential detection of Wheat yellow mosaic virus, Japanese soil-borne wheat mosaic virus and Chinese wheat mosaic virus by reverse transcription loop-mediated isothermal amplification reaction / S. Fukuta [et al] // Journal of Virological Methods. - 2013. - Vol. 189. - Pp. 348-354.

5. Keizerweerd, A. T. Development of a reverse transcription loop-mediated isothermal amplification (RT-LAMP) assay for the detection of Sugarcane mosaic virus and Sorghum mosaic virus in sugarcane / A. T. Keizerweerd, A. Chandra, M. P. Grishama // Journal of Virological Methods. - 2015. - Vol. 212. - Pp. 23-29.

УДК 635.713

ВЫБОР ОПТИМАЛЬНОГО РЕЖИМА СТЕРИЛИЗАЦИИ ДЛЯ ВВЕДЕНИЯ СЕМЯН БАЗИЛИКА (*OCIMUM BASILICUM L.*) В КУЛЬТУРУ IN VITRO

Цеменовский Максим Анатольевич, аспирант кафедры биотехнологии ФГБОУ ВО РГАУ - МСХА имени К.А. Тимирязева, 79852372156@yandex.ru

Аннотация: Данная статья посвящена экспериментальному исследованию стерилизующих агентов с целью нахождения среди них оптимального для дезинфицирующей обработки семян растения базилика душистого и его последующей посадки в условиях *in vitro*. Целью проведённой работы является подбор оптимальных условий стерилизации путем сравнения режимов стерилизации, а также оценка энергии прорастания и всхожести семян. По полученным в результате данным установлено, что лучшими свойствами из исследуемых стерилизаторов обладает надуксусная кислота в концентрации 1% в течение 1 мин.

Ключевые слова: стерилизация, семена базилика, *Ocimum basilicum L.*, надуксусная кислота (НУК), введение культуры, *in vitro*, энергия прорастания, всхожесть.

Введение

Базилик душистый обыкновенный (*Ocimum basilicum L.*) – однолетнее или многолетнее, в зависимости от условий прорастания, травянистое растение семейства Яснотковые (Lamiaceae). Широко используется в пищевой промышленности (мясоперерабатывающей, ликёро-водочной, консервной, в качестве специи и т. д.), традиционной и народной медицине, фармацевтике, парфюмерии и в качестве декоративного растения [6].

Базилик является ценной культурой за счёт содержания широкого спектра биологически активных веществ, в их числе эфирные масла, фенольные соединения (включая флавоноиды и антоцианы). В ряде зарубежных сообщений указывается, что фиолетовый базилик является богатым источником ацилированных и гликозилированных антоцианов и может представить интерес в качестве уникального источника стабильных красных пигментов для пищевой промышленности [5].

Базилик выращивают в основном в качестве пряно-ароматической и лекарственной культуры, поскольку эфирное масло базилика обладает выраженной антибактериальной и антиоксидантной активностями.