

Carbohydrates. In the "Clinical Chemistry: theory, analysis, and correlation" (Kaplan, L. A., Pesce, A. J., Kazmierczak C. S. eds.), St. Louis: Mosby Company 2003 - p.1024-1036. 13. Григорьев, В. С. Становление и развитие факторов резистентности свиней / В. С. Григорьев, В. И. Максимов. - Самара : Самарская ГСХА, 2007. – 226 с. 14. Зайцев, С. Ю. Тензиометрический и биохимический анализ крови животных: фундаментальные и прикладные аспекты / С. Ю. Зайцев. – Москва : Издательство «Сельскохозяйственные технологии», 2016. - 192 с. 15. Zaitsev, S. Yu. Dynamic tensiometry as express-method for horse blood diagnostics / S. Yu. Zaitsev, V. I. Maximov, I. V. Milaeva // International Journal of Medical and Biological Frontiers. - 2011. – 17 (4–5). – P. 377–384. 16. Zaitsev, S. Yu. Dynamic surface tension measurements as general approach to the analysis of animal blood plasma and serum / S. Yu. Zaitsev // Advances in Colloid and Interface Science. - 2016. - V. 235. - P. 201–213.

УДК578.2:579.64

## **МЕТОДОЛОГИЯ ЭЛИМИНАЦИИ ВИРУСНЫХ И БАКТЕРИАЛЬНЫХ ИНФЕКЦИОННЫХ АГЕНТОВ КАРТОФЕЛЯ КАК КОРМОВОЙ КУЛЬТУРЫ В СКОТОВОДСТВЕ**

**Калашников А.Е.**

ФГБНУ «Всероссийский научно-исследовательский институт племенного дела МСХ РФ», г. Пушкино, п. Лесные поляны, Российская Федерация  
Федеральный исследовательский центр комплексного изучения Арктики имени академика Н.П. Лаврова УрО РАН, г. Архангельск, Российская Федерация

*При создании технологических схем оздоровления картофеля в настоящее время активно применяются методы ПЦР, в частности амплификация с гибридизационно-флуоресцентной детекцией в режиме «реального времени» и «по конечной точке». В настоящей работе применены оба эти метода и проведена диагностика разводимых сортов и линий картофеля на присутствие вирусных патогенов А, М, S, X, Y, андийских вирусов крапчатости и латентный тимовирус картофеля (APMV, APLV), а также вируида веретенобразности клубней (PSTVd) и вируса метельчатости верхушки картофеля (PMTV). Проведен анализ на наличие паразитарных заболеваний бледной Globodera pallida и золотистой цистообразующей нематод Globodera rostochiensis, бактериальных: кольцевой и бурой гнили Clavibacter michiganensis subsp. sepedonicus и Ralstonia solanacearum, а также грибного рака Synchytrium endobioticum. **Ключевые слова:** патоген, сорт, вирусы, материал, потеря урожая, ПЦР, биотехнологии, меристемы, оздоровление, клонирование.*

## **METHODOLOGY OF ELIMINATION OF VIRAL AND BACTERIAL INFECTIOUS AGENTS OF POTATO AS A FODDER CROP IN CATTLE BREEDING**

**Kalashnikov A.E.**

All-Russian Research Institute of Breeding, Pushkino, Lesnye Polyany,  
Russian Federation

The Federal Research Center for the Integrated Study of the Arctic named after Academician N.P. Laverov, Ural Branch of the Russian Academy of Sciences, Arkhangelsk, Russian Federation

*PCR methods, in particular amplification with hybridization-fluorescence detection in «real time» and «by endpoint» mode, are actively used to create technological schemes for potato health improvement. In this work, both of these methods were applied and the diagnosis of cultivated potato varieties and lines was carried out for the presence of viral pathogens A, M, S, X, Y, Andean mottling viruses and latent potato thymovirus (APMV, APLV), as well as tuber fusiformity viroid (PSTVd) and potato tip panicle virus (PMTV). The analysis for the presence of parasitic diseases of pale Globodera pallida and golden cyst-forming nematodes Globodera rostochiensis, bacterial: ring and brown rot Clavibacter michiganensis subsp. sepedonicus and Ralstonia solanacearum, as well as the fungal cancer Synchytrium endobioticum.*  
**Keywords:** *pathogen, variety, viruses, material, crop loss, PCR, biotechnology, meristems, health improvement, cloning.*

**Введение.** Сегодня важно решение проблемы прогрессирующей дегенерации культуры картофеля, которая выражается в значительном снижении его урожайности, качества и сроков хранения, в том числе из-за инфекций [2-3]. Наиболее опасными вирусами в настоящее время являются *PLRV* и *PVY* (*Potato leafroll virus*, вирус скручивания листьев, *Potato virus Y* – *Y* вирус картофеля, соответственно) [3, 8].

При помощи микросателлитного анализа сейчас возможно проводить генетическую идентификацию сортов картофеля, селекционных линий [6, 8]. При помощи молекулярно-генетических методов можно выявлять патогены - вирусные, бактериальные, грибковые и паразитарные заболевания при лабораторных, селекционных и полевых работах [10-12].

В сельском хозяйстве биотехнология выращивания картофеля рассматривается не только в рамках производства культуры клеток и тканей растений, но также и в микроклональном размножении растений [11]. При помощи сочетания биотехнологии и молекулярной диагностики [1, 7, 10].

Молекулярная диагностика является неотъемлемой частью схемы стерилизации и очистки культивируемых образцов от патогенов, полученных при их приобретении или в ходе экспериментальных работ и выращивании первичных апикальных меристем при черенковании [4, 5].

Целью настоящей работы являлось проведение диагностики при помощи методов молекулярной генетики элитных сортов картофеля на наличие бактериальных, грибковых, паразитарных и вирусных патогенов.

Финансирование проекта было обеспечено благодаря договору двустороннего сотрудничества ФГБОУ ВО ГАУСЗ и ФГБНУ ВНИИплем.

**Материалы и методы исследований.** Биологическим материалом для исследований являлись стерильные листья побегов, распространенных сортов картофеля (n=15). ДНК из биологических образцов выделяли при помощи коммерческих наборов ДНК Экстран-3 или Сорб ГМО-Б (с ЦТАБ) (Синтол, Россия). Из биологических образцов картофеля была выделена РНК. Смесь РНК/ДНК экстрагировали при помощи набора Рибо-сорб (ЦНИИ эпидемиологии, Россия или РНК Эстран, Синтол, Россия), с увеличением длительности стадии первичного

лизиса с протеиназой К до 2 ч. Реакцию обратной транскрипции проводили с применением обратной транскриптазы MMLV (Синтол, Россия).

Биологическим материалом служили сорта: ранние: Гала, Чароит, Антонина, Люкс, Юбиляр, Жуковский ранний; ранне-спелые: Аляска, Ильинский, Саровский, Регги, Пушкинец, Любава; средне-ранние: Сантэ, Памяти Рогачева, Невский, Лина, Сафо, Кузнечанка, Накра, Сударыня, Амур, Браво, Андретта, Ред Скарлетт, Тулеевский, Евразия; средне-спелые: Гусар, Старт, Хозяюшка, Фиолетовый, Терра, Солнечный, Родео.

Перечень выявляемых патогенов был определен доступными наборами для тестирования, производимыми коммерчески: для выявления РНК-содержащих геномов патогенов применяли наборы для амплификации компании Синтол и Агродиагностика (Россия): *PVA* (А потивирис), *PVM* (М кардавирус), *PVS* (S вирус), *PVX* (X потексвирус), *PVY* (Y потивирис), *PSTVd* (вириод веретенообразности (spindle tuber viroid), *PMTV* (вирус метельчатости верхушек), *APLV* (андийский латентный тимовирус), *APMV* (андийский вирус крапчатости), ДНК бактериальных заболеваний: кольцевой гнили *Clavibacter michiganensis subsp. Sepedonicus* и *Ralstonia solanacearum*, ДНК гриба рака *Synchytrium endobioticum*, паразитарных ДНК: бледной *Globodera pallida* и золотистой цистообразующей нематод *Globodera rostochiensis*.

Амплификацию по методам ОТ-ПЦР (ПЦР со стадией обратной транскрипции), РТ-ПЦР (ПЦР в режиме «реального времени») проводили в репликах (3-кратном повторе) согласно протоколам на амплификаторе Quadro-2 (Bio-Rad, США) с последующей детекцией на Gene-4 (ДНК-Технологии, Россия). Протокол для амплификации с детекцией в режиме «конечной точки»: для выявления бактерий, грибов, нематод: 94<sup>0</sup>С 3 мин, далее {94<sup>0</sup>С 1 мин 30 сек, 67<sup>0</sup>С 15 сек} 5 циклов и {94<sup>0</sup>С 5 сек, 62<sup>0</sup>С 15 сек} 40 циклов; а вирусов и вириодов: 94<sup>0</sup>С 3 мин {94<sup>0</sup>С 3 мин, 61<sup>0</sup>С 5 сек, 62<sup>0</sup>С 10 сек} 5 циклов {94<sup>0</sup>С 15 сек, 60<sup>0</sup>С 10 сек, 61<sup>0</sup>С 45 сек} 40 циклов, для амплификации с детекцией по конечной точке на Q5 (Termo-Fisher, США): 94<sup>0</sup>С 1 мин 30 сек {94<sup>0</sup>С 20 сек, 61<sup>0</sup>С 5 сек, 62<sup>0</sup>С 10 сек} 5 циклов {94<sup>0</sup>С 1 мин, 54<sup>0</sup>С 5 сек, 60<sup>0</sup>С 5 сек} 40 циклов (Файзиев В.Б. и др., 2019; Кондакова О.А. и др., 2016).

Данные экспериментов были получены с применением контрольных образцов. Статистическая обработка данных поведена в соответствии с инструкцией производителя диагностикумов в операционной среде unix ubuntu 20.04 и программной среде R (CRAN Task View: Official Statistics & Survey Statistics, в визуализаторе R-studio.

**Результаты исследований.** Молекулярная диагностика является неотъемлемой частью схемы стерилизации и очистке культивируемых образцов от патогенов, полученных при их приобретении или в ходе экспериментальных работ и выращивании первичных апикальных меристем при черенковании [5]. Для выявления фитопатогенов картофеля также могут применяться методы tp-ELISA и проточной фотометрии [9], в рамках работы лаборатории ДНК-технологий - технология ПЦР. В частности, при исследованиях использовались методы РТ-ПЦР FLASH (детекция с гибридизацией флуоресцентных зондов в режиме «конечной точки») и в «реальном времени».

В образцах клонов возбудителей заболеваний выявлено не было всего 44% от всего количества тестируемых образцов): *ранних* сортов Р-3-6 (n=5, 12%);

ранне-спелых сортов (РС-1, РС-5, РС-6) (n=3, 7,6%); средне-ранних сортов СР-9-14 (n=6, 15%); средне-спелых сортов СС-3-6 (n=4, 10%).

Выявлены вирусные возбудители *PVM*, *PVS*, *PVX*, *PVY* в ряде образцов с общей частотой 25% для ранних (n=1, 2,5%), ранне-спелых (n=4, 10%), средне-ранних (n=8, 2,5%), среднеспелых (n=2, 5%) и средне-поздних (n=3, 7,6%) сортов. Возбудители *PVA*, *APLV*, *APMV*, *PSTVd*, *PMTV*, *PLV* не были обнаружены ни в каких образцах.

Также проведена ПЦР-диагностика наличия бактериальных патогенов. Паразитарные инфекции бледной (*Globodera pallida*) и золотистой цистообразующей нематодой (*Globodera rostochiensis*) в исследуемых образцах не были выявлены. Бактериальных инфекций кольцевой гнили (*Clavibacter michiganensis* subsp. *Sepedonicus*) и бурой гнили (*Ralstonia solanacearum*) не были выявлены, а также не обнаружено в образцах спор и тел рака (*Synchytrium endobioticum*).

**Заключение.** Проанализированы образцы меристем ранних, ранне-спелых, средне-ранних, средне-спелых и средне-поздних сортов картофеля, из которых чистыми по отношению к бактериальным, паразитарным и грибковым патогенам оказались все исследуемые сорта. По отношению патогенам оказались не инфицированными 44% сортов, в то время как выявлено 25% носителей (для ранних, ранне-спелых, средне-ранних и средне-спелых сортов: 12,0, 7,6, 15,0 и 10,0% от общего количества соответственно). При использовании картофеля как пищевой добавки в рационы кормления скота с целью как снижения потери урожая, так и экологической и биологической безопасности необходимо применять методы молекулярной диагностики при микроклональном оздоровлении сельскохозяйственных кормовых культур.

**Литература.** 1. Григорян, М. А. Опыт определения вирусов картофеля методом ПЦР в реальном времени / М. А. Григорян, О. В. Ткаченко // Научная волна. - 2017. – С. 54-57. 2. Логинов, Ю. П. Картофелеводство Сибири надежный резерв продовольственной безопасности страны / Ю. П. Логинов, А. А. Казак, Л. И. Якубышина // Инновации в технологиях возделывания сельскохозяйственных культур : материалы Всероссийской научно-практической конференции. - 2017. – С. 192-197. 3. Устойчивость картофеля к вирусам: современное состояние и перспективы / С. С. Макарова [и др.] // Вавиловский журнал генетики и селекции. – 2017. - № 21 (1). – С. 62-73. 4. Нуриддинов, Я. А. Микроклональное размножение картофеля / Я. А. Нуриддинов, Г. В. Тоболова // Актуальные вопросы науки и хозяйства: новые вызовы и решения : материалы LII Международной студенческой научно-практической конференции ГАУ Северного Зауралья. Часть 1. - Тюмень, 2018. – С. 150-153. 5. Ступин, А. С. Регуляторы роста растений. Стимуляторы и ингибиторы / А. С. Ступин // Потенциал науки и современного образования в решении приоритетных задач АПК и лесного хозяйства : материалы юбилейной национальной научно-практической конференции. – 2019. – С. 288-293. 6. Тараканец, Л. Д. Возможности использования геномных технологий в ветеринарии / Л. Д. Тараканец, Я. А. Кабицкая, Л. А. Глазунова // Актуальные вопросы науки и хозяйства. Новые вызовы и решения : сборник материалов LIV Студенческой научно-практической конференции. - Тюмень, 2020. – С. 24-31. 7. Тихомирова, М. А. Разработка методов диагностики американских вирусов картофеля, создающих опасность для картофелеводства Российской Федерации / М. А. Тихомирова, Ю. А. Шнейдер // Актуальные проблемы картофелеводства:

фундаментальные и прикладные аспекты. - 2018. С. 232-234. 8. Трифонова, Е. А. Сравнительное изучение термической перестройки вирусов с икосаздрическим и спиральным типом симметрии / Е. А. Трифонова, Н. А. Никитин // Вестник Московского университета. - Серия 16: Биология. - 2017. - Т. 72, № 4. - С. 209-214. 9. Изучение распространения и определения растений-резерваторов X и L вирусов картофеля методом иммуноферментного анализа / В. Б. Файзиев [и др.] // Научное обозрение. Биологические науки. - 2019. - № 2. - С. 79-86. 10. Шнейдер, Ю. А. Разработка методов диагностики вируса метельчатости верхушки картофеля и вируса желтой карликовости картофеля в Российской Федерации / Ю. А. Шнейдер, Ю. Н. Приходько, Е. В. Каримова // Современные подходы и методы в защите растений : материалы II Международной научно-практической конференции. - Екатеринбург, 2020. С. 118-119. 11. Яловик, А. В. Вопросы оздоровления картофеля от вирусов / А. В. Яловик, Ю. Н. Федорова // Проблемы инновационного развития АПК : материалы международной научно-практической конференции. - Великие Луки, 2017. - С. 34-37. 12. The P25 Protein of Potato Virus X (PVX) Is the Main Pathogenicity Determinant Responsible for Systemic Necrosis in PVX-Associated Synergisms / E. Aguilar [et al.] // J. Virology. - 2015. - V 89 (18). - P. 9699. 13. UNECE Standard S-1, Concerning the marketing and commercial quality control of seed potatoes. UNITED NATIONS, New York and Geneva, 2013. - 41 p.

УДК 636.2.03:636.2.085.12-034.26

## **ВЛИЯНИЕ РАЗЛИЧНЫХ ДОЗИРОВОК НАНОЧАСТИЦ ХРОМА НА ПРОДУКТИВНОСТЬ ТЕЛЯТ ДО 75-ДНЕВНОГО ВОЗРАСТА**

**\*Козинец А. И., \*Козинец Т. Г., \*Голушко О. Г., \*\*Капитонова Е.А., \*\*Бородин А.Ю.**

\*РУП «Научно-практический центр Национальной академии наук Беларуси по животноводству», г. Жодино, Республика Беларусь

\*\*УО «Витебская ордена «Знак Почета» государственная академия ветеринарной медицины», г. Витебск, Республика Беларусь

*Использование наночастиц хрома в рационах молодняка крупного рогатого скота в первые три месяца выращивания в количествах 0,05 и 0,075 мг на 1 килограмм сухого вещества рациона способствует увеличению среднесуточных приростов на 3,3-6,6 %, снижению себестоимости получаемой продукции на 1,4-4,9 % и получению дополнительной прибыли в размере 4,9-18,0 рублей в расчете на 1 голову. **Ключевые слова:** телята, нанохром, кровь, среднесуточный прирост, дополнительная прибыль.*

## **THE EFFECT OF DIFFERENT DOSAGES OF CHROMIUM NANOPARTICLES ON THE PRODUCTIVITY OF CALVES UP TO 75 DAYS OF AGE**

**\*Kozinets A.I., \*Kozinets T.G., \*Golushko O.G., Kapitonova E.A., \*\*Borodin A.Y.**

\*Scientific and Practical Center of the National Academy of Sciences of Belarus on Animal Breeding, Zhodino, Republic of Belarus

\*\*Vitebsk State Academy of Veterinary Medicine, Vitebsk, Republic of Belarus