

Растениеводство

- Бережная В.В., Клыков А.Г., Сидоренко М.Л., Слепцова Н.А., Тимофеева Я.О.**
Использование штаммов микроорганизмов для повышения урожайности яровой мягкой пшеницы (*Triticum aestivum* L.) 3
- Снигирева О.М., Ведерников Ю.Е., Баталова Г.А.** Формирование фотосинтетического аппарата яровой пшеницы сорта Баженка под влиянием регуляторов роста 7
- Илюшко М.В., Гученко С.С., Ромашова М.В.** Внутрикаллусная и межкallусная морфологическая изменчивость удвоенных гаплоидов риса, полученных в андрогенезе *in vitro* 11
- Багринцева В.Н., Ивашенко И.Н.** Оценка отзывчивости гибридов кукурузы на азотное удобрение 16

Защита растений

- Гаврилова О.П., Орина А.С., Гогина Н.Н., Гагкаева Т.Ю.** Совместная встречаемость метаболитов грибов *Alternaria* и *Fusarium*, ассоциированных с зерновыми культурами 20

Экология

- Бухарина И.Л., Исламова Н.А., Лебедева М.А.** Влияние инокуляции корневой системы эндофитом *Cylindrocarpon magnusianum* на показатели растений при воздействии солей тяжелых металлов 24

Агрoхимия. Почвоведение

- Хусайнов Х.А., Абасов М.Ш., Тунтаев А.В., Муртазалиев М.С., Завалин А.А.**
Изменение агрохимических показателей чернозема типичного при различных приемах обработки и использовании средств химизации и биологизации 30
- Соколов Н.М., Жолинский Н.М., Стрельцов С.Б., Кораблева И.Н.** Влияние основной обработки на динамику накопления нитратного азота в почве 34
- Якименко М.В., Бегун С.А.** Отличительные признаки ризобий видов *Sinorhizobium fredii* и *Bradyrhizobium japonicum*, обитающих в дальневосточных почвах 38

Животноводство

- Прохоров И.П., Калмыкова О.А., Пикуль А.Н., Александров А.В.**
Эффективность производства говядины при использовании промышленного скрещивания 42
- Позовникова М.В., Васильева О.К., Митрофанова О.В.** Ассоциация гаплотипа фертильности HCD с молочной продуктивностью и репродуктивными качествами голштинских коров 46
- Левина Г.Н., Максимчук М.Г., Артюх В.М.** Аминокислотный состав и биологическая ценность белков молока коров черно-пестрой породы и ее помесей с монбельярдской 50

Рыбоводство

- Бубунец Э.В., Жигин А.В., Лабенец А.В.** Влияние термических условий зимовки производителей на продолжительность инкубации икры и выдерживания предличинок осетровых рыб 54

Ветеринария

- Опарина О.Ю., Верещак Н.А., Малков С.В., Красноперов А.С.**
Воздействие экологических факторов на иммуногематологические показатели стельных коров 59
- Мамыкова О.И.** Экспериментальное изучение иммуотропной активности албендазола в низких дозах 63

Механизация

- Ахалая Б.Х., Шогенов Ю.Х., Старовойтов С.И.** Влияние конструктивных изменений в пневматических высевающих устройствах на качественные показатели посева семян 67

- Перечень статей, опубликованных в 2020 году** 71

Plant growing

Berezhnaya V.V., Klykov A.G., Sidorenko M.L., Sleptsova N.A., Timofeeva Ya.O. Use of microbial strains to increase the yield of spring soft wheat (*Triticum aestivum* L.) 3

Snigireva O.M., Vedernikov Yu.E., Batalova G.A. Ormation of photosynthetic apparatus of spring wheat cv. Bajenka under the influence of growth regulators 7

Ilyushko M.V., Guchenko S.S., Romashova M.V. Intracallus and intercallus morphological variability of rice doubled haploids, gained *in vitro* androgenesis 11

Bagrintseva V.N., Ivashenenko I.N. Experimental researches on the evaluation of hybrid corn of response to nitrogen fertilizer 16

Plant protection

Gavrilova O.P., Orina A.S., Gogina N.N., Gagkaeva T.Yu. Co-occurrence of the metabolites of *Alternaria* and *Fusarium* fungi associated with small-grain cereals 20

Ecology

Bukharina I.L., Islamova N.A., Lebedeva M.A. The effect of inoculation of the root system of plants with endophyte *Cylindrocarpon magnusianum* on plant performance when exposed to heavy metal salts 24

Agrochemistry. Pedology

Khusainov Kh.A., Abasov M.Sh., Tuntaev A.V., Murtazaliev M.S., Zavalin A.A. Change of agrochemical indicators of typical chernozem at different treatment and use of chemistry and biologization media 30

Sokolov N.M., Zholinsky N.M., Streltsov S.B., Korableva I.N. Influence of basic treatment on the dynamics of nitrate nitrogen accumulation in the soil 34

Yakimenko M.V., Begun S.A. Distinctive features of rhizobia species *Sinorhizobium fredii* and *Bradyrhizobium japonicum* living in the Far Eastern soil 38

Animal husbandry

Prohorov I.P., Kalmykova O.A., Pikul A.N., Aleksandrov A.V. Beef production efficiency using commercial cross breeding 42

Pozovnikova M.V., Vasileva O.K., Mitrofanova O.V. Association of HCD fertility haplotype with milk production and reproductive qualities of holstein cows 46

Levina G.N., Maksimchuk M.G., Artyukh V.M. Amino acid composition and biological value of proteins milk from Black-and-white cows and their crossbreeds from Montbeliard 50

Fish breeding

Bubunets E.V., Zhigin A.V., Labenets A.V. The impact of thermal conditions of wintering of spawners on duration of spawn incubation and exposition of yolk sac larva of sturgeon fish 54

Veterinary science

Oparina O.Yu., Vereshchak N.A., Malkov S.V., Krasnoperov A.S. Impact of environmental factors on immunohematological indicators pregnant cows 59

Mamykova O.I. Experimental study of albendazole immunotropic activity in low doses 63

Mechanization

Akhalaya B.Kh., Shogenov Yu.Kh., Starovoitov S.I. Influence of design changes in pneumatic seeding devices on the quality indicators of seeding 67

List of articles, published in 2020 71

Растениеводство

УДК 631.461:631.41:633.11«32

DOI: 10.31857/S2500262720060010

**ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ШТАММОВ МИКРООРГАНИЗМОВ
ДЛЯ ПОВЫШЕНИЯ УРОЖАЙНОСТИ ЯРОВОЙ МЯГКОЙ ПШЕНИЦЫ (*Triticum aestivum* L.)****В.В. Бережная¹**, аспирант, **А.Г. Клыков¹**, член-корреспондент РАН,
М.Л. Сидоренко², кандидат биологических наук, **Н.А. Слепцова²**, аспирант,
Я.О. Тимофеева², кандидат биологических наук¹Федеральный научный центр агробиотехнологий Дальнего Востока имени А.К. Чайки,
692539, Уссурийск, п. Тимирязевский, ул. Воложенина, 30²Федеральный научный центр Биоразнообразия наземной биоты Восточной Азии ДВО РАН,
690022, Владивосток, проспект 100-летия Владивостока, 159

E-mail: bereg911@mail.ru

*Представлены результаты исследований влияния предпосевной обработки семян и опрыскивания всходов яровой мягкой пшеницы (*Triticum aestivum* L.) сорта Приморская 39 азотфиксирующими, фосфат- и калийсолубилизирующими штаммами микроорганизмов на элементы структуры продуктивности, урожайность и численность почвенных микроорганизмов. Установлено, что общая численность бактерий увеличивается в фазе восковой спелости зерна как при предпосевной обработке семян, так и при опрыскивании всходов. Максимальное количество микроорганизмов в почве выявлено в варианте с использованием штаммов азотфиксирующих и калийсолубилизирующих микроорганизмов при предпосевной обработке ($1,9 \times 10^7$ КОЕ/г почвы) и фосфат- и калийсолубилизирующих при опрыскивании всходов ($2,0 \times 10^7$ КОЕ/г почвы). Наибольшее содержание подвижного фосфора (92 мг/кг) отмечено в варианте (a1+c2+f6) с предпосевной обработкой азотфиксирующими, калий- и фосфатсолубилизирующими микроорганизмами в фазе восковой спелости зерна. Высокая урожайность была в варианте (a1+f19) с предпосевной обработкой семян азотфиксирующими и фосфатсолубилизирующими штаммами – 4,3 т/га.*

**USE OF MICROBIAL STRAINS TO INCREASE THE YIELD
OF SPRING SOFT WHEAT (*Triticum aestivum* L.)****Berezhnaya V.V.¹, Klykov A.G.¹, Sidorenko M.L.², Sleptsova N.A.², Timofeeva Ya.O.²**¹FSC of Agricultural Biotechnology of the Far East named after A. K. Chaika,
692539, Ussuriysk, Primorsky kray, p. Timiryazvskiy, ul. Volozhenina, 30²Federal Scientific Center of the East Asia Terrestrial Biodiversity,
690022, Vladivostok, prospekt 100 let Vladivostoka, 159,

E-mail: bereg911@mail.ru

*This research work presents the results of studies of the effect that pre-sowing seed treatment and spraying nitrogen-fixing, phosphate- and potassium-solubilizing bacteria on the seedlings of the Primorskaya 39 spring soft wheat (*Triticum aestivum* L.) variety have on the structure elements of productivity, yield and the number of soil microorganisms. It was established that the total number of bacteria increases in the middle dough stage when using both pre-sowing treatment of seeds and spraying microorganism strains on the seedlings. The maximum number of bacteria in the soil was revealed in the variant using strains of nitrogen-fixing and potassium-solubilizing microorganisms in pre-sowing treatment (1.9×10^7 cfu/g of soil) and phosphate- and potassium-solubilizing in spraying seedlings (2.0×10^7 cfu/g of soil). The variant a1+c2+f6 showed the highest content of mobile phosphorus (92 mg/kg) after pre-sowing treatment with nitrogen-fixing, potassium- and phosphate-solubilizing microorganisms in the middle dough stage. High yield (4.3 t/ha) was shown by the variant a1+f19 after pre-sowing seed treatment with nitrogen-fixing and phosphate-solubilizing strains.*

Ключевые слова: яровая пшеница, подвижный и валовой фосфор, азотфиксирующие, фосфат- и калийсолубилизирующие штаммы бактерий, урожайность

Key words: spring wheat, mobile and gross phosphorus, nitrogen-fixing, potassium- and phosphate-solubilizing bacteria strains, yield

Применение удобрений в сельском хозяйстве имеет большое значение для повышения урожайности и пищевой ценности сельскохозяйственных культур [1, 2]. Сокращение применения минеральных и органических удобрений создает необходимость поиска дополнительных источников питания растений. К приемам, способным обогатить почву элементами питания, относится применение бактериальных удобрений, состоящих из штаммов микроорганизмов [3-5]. Активные штаммы азотфиксирующих бактерий, позволяющие фиксировать азот атмосферы, могут обогащать почву азотистыми веществами. Фосфатсолубилизирующие микроорганизмы способны разлагать соединения фосфора (органического и минерального), недоступного для растений, до легкоусвояемой формы, а калийсолу-

билизирующие бактерии – высвободить калий в почвенный раствор из алюмосиликатов [6]. Бактериальные препараты применяют на различных типах почв под многие сельскохозяйственные культуры, в результате урожайность повышается в среднем на 10-12% [7, 8]. В связи с этим актуально изучение взаимодействия растений и микроорганизмов.

Цель работы – исследовать влияние штаммов бактерий на урожайность и численность микроорганизмов в разные фазы развития яровой мягкой пшеницы в условиях Приморского края.

Методика. Исследования проводили в 2018-2019 гг. на опытных посевах Федерального научного центра агробиотехнологий Дальнего Востока имени А.К. Чайки (г. Уссурийск, п. Тимирязевский) с сектором почво-

ведения и экологии почв ФНЦ Биоразнообразия наземной биоты Восточной Азии ДВО РАН (г. Владивосток). Использовали бактериальные штаммы микроорганизмов, фиксирующие азот в почве (азотфиксаторы) – а1, растворяющие силикатные минералы и высвобождающие из них соединения калия (калийсолюбилизующие микроорганизмы) – с2, участвующие в минерализации органических фосфорных соединений и переводящие их в доступную для растений форму (фосфатсолюбилизующие микроорганизмы) – ф6 и ф19, полученные из коллекции микроорганизмов ФНЦ Биоразнообразия наземной биоты Восточной Азии ДВО РАН. Из бактериальных штаммов готовили консорциум бактерий, а в качестве сравнения (эталоны) использовали коммерческий препарат Экстрасол. Комплексные препараты применяли для предпосевной обработки семян (раствор рабочей жидкости 10 л/т) и обработки вегетирующих растений (раствор рабочей жидкости 300 л/га).

Схема опыта включала 11 вариантов: 1 – контроль (без обработки); 2 – а1с2ф6; 3 – ф19с2; 4 – а1с2; 5 – а1ф19; 6 – Экстрасол – эталон (предпосевная обработка семян); 7 – а1с2ф6; 8 – ф19с2; 9 – а1с2; 10 – а1ф19; 11 – Экстрасол – эталон (обработка по всходам).

Площадь делянки составляла 15 м², расположение рендомизированное, повторность – 3-кратная. Предшественник – соя. В течение вегетации проводили фенологические наблюдения и учеты, отбор почвы для агрохимического анализа и исследования микрофлоры [9]. Почва опытных участков – лугово-бурая оподзоленная, по механическому составу – тяжело-суглинистая. Содержание органического вещества (по Тюрину) – 2,51%; валового фосфора – 1530 мг/кг; N л.г. (по Тюрину и Кононовой) – 69 мг/кг; P₂O₅ и K₂O (по Кирсанову) – 71 и 154 мг/кг соответственно; рН_{KCl} 6,5 и S – 25,2 (по Каппену-Гильковицу), Нг (по Каппену) – 1,12 ммоль/100 г почвы. Численность микроорганизмов в почве: азотфиксаторы – 4,6 × 10⁵ КОЕ/г почвы, калий- и фосфатсолюбилизующие микроорганизмы – 8 × 10⁴ и 7 × 10² КОЕ/г почвы соответственно, выявлены методом посева почвенной суспензии на плотные питательные среды [10]. Валовое содержание фосфора опытных образцов почвы определяли методом энергодисперсионной рентгенфлуоресцентной спектроскопии (EDX). Уборку проводили в фазе полной спелости зерна комбайном Неже 125. Статистическая обработка данных проведена по методике Б.А. Доспехова [11].

Результаты и обсуждение. Бактериальные препараты существенно влияют на формирование структурных элементов урожая яровой пшеницы, в результате повышается урожайность и улучшается качество продукции [3, 12]. В наших опытах высокая урожайность отмечена в варианте при предпосевной обработке семян штаммами а1+ф19 – 4,3 т/га и при опрыскивании всходов штаммами а1+с2 – 4,2 т/га (в контроле – 3,8 т/га). В этих же вариантах было и высокое число зерен в колосе – 26,8 и 26,3 шт. соответственно. С наибольшей массой 1000 зерен выделился вариант (а1+ф19) и применением азотфиксирующих и фосфатсолюбилизующих бактерий при предпосевной обработке семян – 36,5 г. (табл.).

Численный состав микроскопических существ почв отличается большой динамичностью и может меняться даже за относительно короткие промежутки времени [13, 14]. Общая численность микроорганизмов ризосферы изменялась по фазам развития растений (рис. 1).

По данным ряда исследователей [7, 15], причиной изменения численности бактериальных сообществ

Урожайность яровой пшеницы в зависимости от применения штаммов бактерий

Вариант	Высота растения, см	Число зерен в колосе, шт.	Масса 1000 семян, г	Урожайность, т/га
Контроль	105,4	23,7	34,7	3,8
Предпосевная обработка семян				
а1+с2+ф6	112,2	23,5	35,8	3,9
ф19+с2	105,9	26,3	34,9	4,1
а1+с2	106,4	25,5	36,0	4,0
а1+ф19	106,5	26,8	36,5	4,3
Экстрасол	110,8	26,1	34,6	3,9
Обработка всходов				
а1+с2+ф6	111,5	26,1	35,0	4,0
ф19+с2	107,6	25,8	34,8	4,1
а1+с2	112,3	26,3	35,3	4,2
а1+ф19	104,6	25,5	34,8	4,0
Экстрасол	106,6	23,9	34,2	3,9
НСР ₀₅	8,7	2,1	2,0	0,2

ризосферы в процессе вегетации является изменение состава и количества корневых выделений у растений, служащих источником питания для микроорганизмов. При предпосевной обработке семян и опрыскивании всходов максимальная численность микроорганизмов отмечена в фазе восковой спелости зерна (2,0 × 10⁷ КОЕ/г почвы). По нашему мнению, это связано с разложением отмирающих корневых остатков, в котором микроорганизмы активно участвуют.

В процессе роста и развития растений выявлены изменения в соотношении численности азотфиксирующих, калий- и фосфатсолюбилизующих микроорганизмов в ризосфере растений. Доля калийсолюбилизующих бактерий ризосферы увеличилась в фазе всходов при предпосевной обработке штаммами а1+ф19 и составила 25% (1,6 × 10⁵ КОЕ/г почвы), в контроле – 8,5 × 10⁴ КОЕ/г почвы. Количество азотфиксирующих штаммов было максимально при восковой спелости зерна – 97% (1,9 × 10⁷ КОЕ/г почвы) от общей численности бактерий – 2,0 × 10⁷ КОЕ/г почвы, в контроле – 4,1 × 10⁵ КОЕ/г почвы. Представители фосфатсолюбилизующих микроорганизмов составили 10% (8,7 × 10⁴ КОЕ/г почвы) от общей численности – 8,5 × 10⁵ КОЕ/г почвы при предпосевной обработке а1+с2+ф6 в фазе восковой спелости зерна. Таким образом, доля азотфиксирующих и фосфатсолюбилизующих бактерий в общей численности микроорганизмов ризосферы пшеницы возрастает в процессе роста и развития растений и максимальна в фазе восковой спелости зерна.

В результате жизнедеятельности почвенных микроорганизмов происходит мобилизация питательных веществ, находящихся в почве в недоступной для растений форме. Наиболее интенсивно микробиологические процессы происходят в ризосфере корневой системы. Благодаря этому накапливается большое количество доступных растению элементов минерального питания [15].

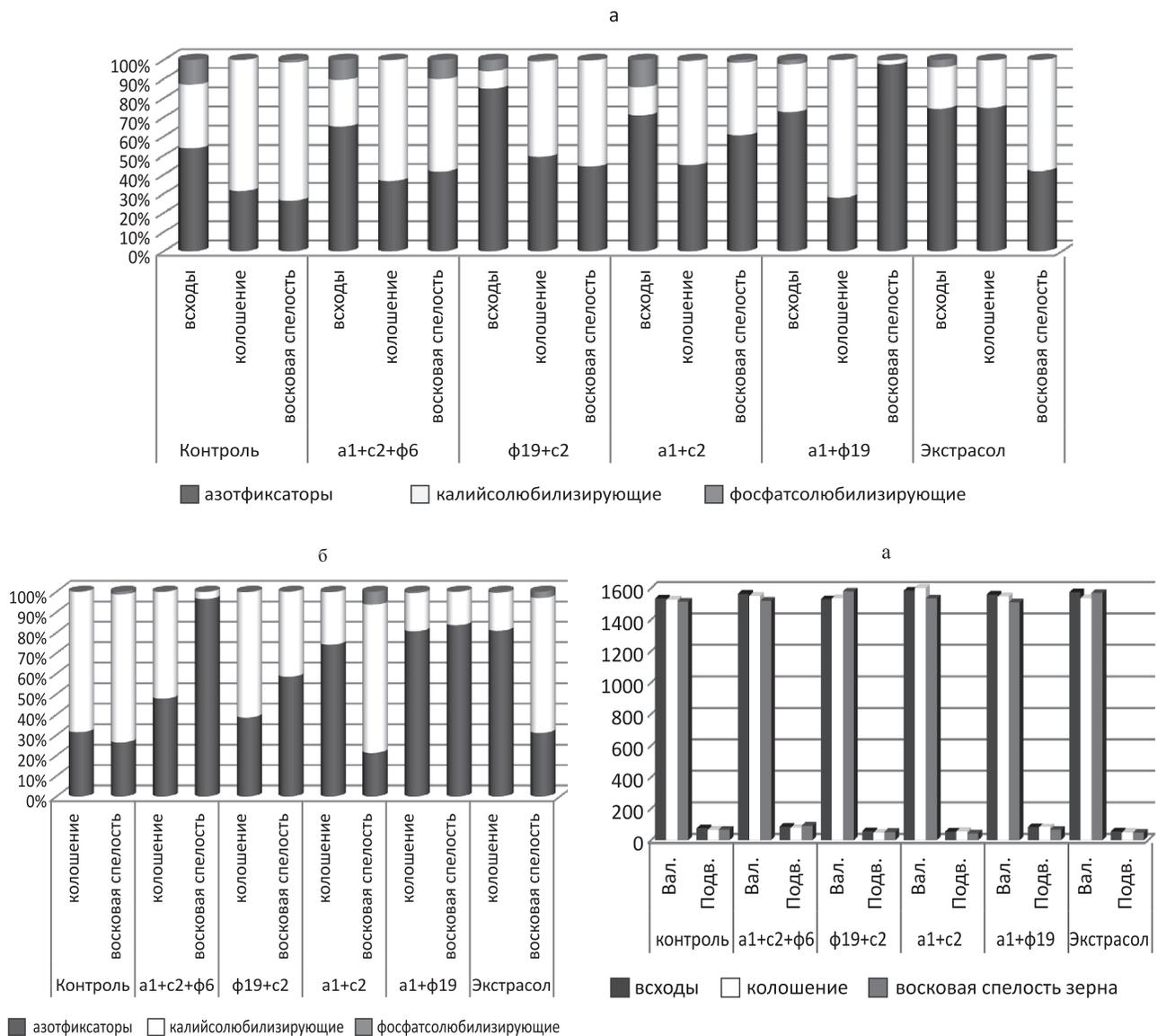


Рис. 1. Соотношение (%) численности микроорганизмов в разные фазы развития растений: а – при предпосевной обработке семян, б – при обработке всходов.

По значению в питании растений фосфор занимает второе место после азота [16, 17]. Рост и развитие растений зависят от наличия в почве водорастворимых форм фосфора. По сравнению с другими почвенными питательными веществами содержание доступного для растений фосфора в почве очень низкое – 25-37 мг/кг [18]. В последнее время все чаще используют био-препараты, содержащие бактерии, способствующие в процессе жизнедеятельности переводу этого элемента из труднодоступной в легкоусвояемую форму.

В наших опытах применение микроорганизмов влияло на содержание подвижных форм фосфора в почве в разные фазы развития растений (рис. 2).

При обработке семян консорциумом азотфиксирующих и калийсолюбилизующих бактерий (a1+c2) концентрация доступного растениям фосфора была максимальной в фазе колошения – 83 мг/кг. Высокое содержание подвижного фосфора также отмечено в ва-

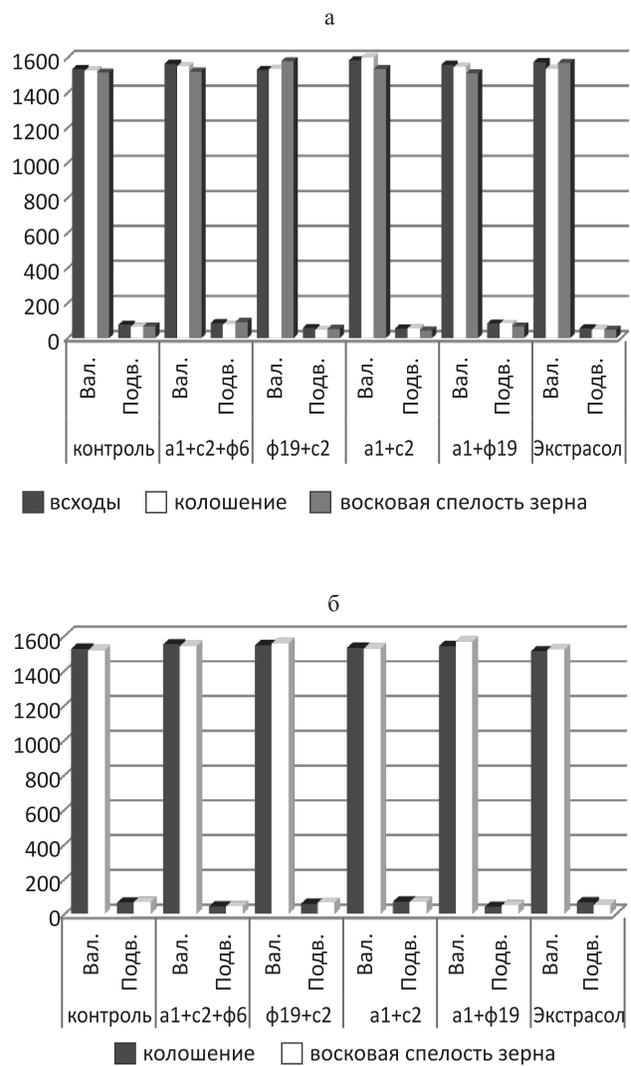


Рис. 2. Динамика содержания (мг/кг) валового и подвижного фосфора в почве в разные фазы развития растений: а – при предпосевной обработке семян, б – при обработке всходов.

рианте с азотфиксирующими, калий- и фосфатсолобилизирующими микроорганизмами (a1+c2+ф6) в фазе всходов – 86 мг/кг и восковой спелости зерна – 92 мг/кг. При опрыскивании всходов азотфиксирующими и калийсолобилизирующими бактериями в фазе колошения и восковой спелости зерна увеличилось количество доступного фосфора в почве до 69 мг/кг, при этом его валовые формы незначительно превышали контроль. Высокие значения валовых форм фосфора наблюдали при предпосевной обработке семян в вариантах с азотфиксирующими и калийсолобилизирующими микроорганизмами (a1+c2) в фазе всходов и колошения – 1585 и 1600 мг/кг соответственно и с фосфат- и калийсолобилизирующими штаммами (ф19+c2) – 1580 мг/кг в фазе восковой спелости зерна.

Таким образом, агрономически полезные почвенные микроорганизмы в разные фазы развития способствуют увеличению общей численности микроорганизмов ризосферы по фазам развития растений яровой пшеницы. Опрыскивание всходов фосфат- и калийсолобилизирующими бактериями в варианте (ф19+c2) в фазе восковой спелости зерна увеличивает общую численность микроорганизмов с $4,1 \times 10^5$ до $2,0 \times 10^7$ КОЕ/г почвы. В варианте с предпосевной обработкой (a1+c2+ф6) азотфиксирующими, калий- и фосфатсолобилизирующими микроорганизмами в фазе восковой спелости зерна отмечено высокое содержание подвижного фосфора – 92 мг/кг. Наибольшее число зерен в колосе – 26,8 шт. и масса 1000 зерен – 36,5 г получены при инокуляции семян перед посевом штаммами a1+ф19, что положительно влияло на формирование урожайности яровой пшеницы, которая составила 4,3 т/га.

Литература

1. Дмитриев Н.Н., Гамзиков Г.П. Систематическое применение удобрений как фактор стабилизации плодородия серых почв и продуктивности зерновых культур в зернопаровом севообороте // *Агрехимия*. – 2015. – N 2. – С. 3-12.
2. NFDC. (2002). *Fertilizer Review. National Fertilizer Development Centre (NFDC), Planning and Development Division. Islamabad. Publication No.3/2002.*
3. *Технология эффективного применения бактериальных препаратов для повышения продуктивности сельскохозяйственных культур в степной зоне Поволжья / сост. Т.М. Ярошенко, Д.Ю. Журавлев, Н.Ф. Климова, В.А. Куликова. – Саратов, 2017. – 26 с.*
4. Vance C.P. *Symbiotic nitrogen fixation and phosphorus acquisition. Plant nutrition in a world of declining renewable resources // Plant physiology*. – 2001. – V. 127(2). – P. 390-397.
5. Быковская А.Н., Сидоренко М.Л., Слепцова Н.А., Клыков А.Г., Бережная В.В., Колесникова Д.А. Применение агрономически ценных бактерий для повышения почвенного плодородия и урожайности ярового ячменя (*Hordeum vulgare* L. // *Вестник ДВО РАН*. – 2020. – N 1 (209). – С. 75-82. DOI:10.25808/08697698.2020.209.1.008
6. Кефели В.И., Сидоренко О.Д. *Физиология растений с основами микробиологии*. – М.: Агрпромиздат, 1991. – 335 с.
7. *Новые технологии производства и применения биопрепаратов комплексного действия / под. общ. ред. А.А. Завалина, А.П. Кожемякова. – СПб.: Химиздат, 2010. – 64 с.*
8. Defreita J.R., Germida J.J. *Plant Growth Promoting Rhizobacteria for Winter Wheat // Canadian Journal of Microbiology*. – 1990. – V. 36. – P. 265-272.
9. *Методы почвенной микрофлоры и биохимии / под ред. Д.Г. Звягинцева. – М.: Изд-во МГУ, 1991. – 303 с.*
10. *Практикум по биологии почв / под ред. Г.М. Зеновой. – М.: МГУ, 2002. – 689 с.*
11. Доспехов Б.А. *Методика полевого опыта (с основами статистической обработки результатов исследований)*. – М.: Альянс, 2014. – 351 с.
12. Девликамов М.Р. *Влияние бактериальных препаратов и микроэлементов на урожайность и качество зерна яровой пшеницы в лесостепи Среднего Поволжья: дис. ... канд. с.-х. наук. – Пенза, 2007. – 122 с.*
13. Мишустин Е.Н. *Ассоциации почвенных микроорганизмов*. – М.: Наука, 1975. – 107 с.
14. Звягинцев Д.Г. *Почва и микроорганизмы* – М.: Изд-во МГУ, 1987. – 256 с.
15. Ягодин Б.А., Жуков Ю.П., Кобзаренко В.И. *Агрехимия*. – М.: Колос, 2002. – 582 с.
16. Мишустин Е.Н., Емцев В.Т. *Микробиология*. – М.: Агрпромиздат, 1987. – 368 с.
17. Wahid F., Sharif M., Khan M.A., Ali A., Khattak A.M., Saljoqi A.R. *Addition of Rock Phosphate to Different Organic Fertilizers Influences Phosphorus Uptake and Wheat Yield // Ciência e Técnica*. – 2015. – V. 30. – P. 91-100.
18. *Характеристика агроземов Приморья: коллективная монография / отв. ред. Ю.И. Слабко, В.И. Сунельников. – Уссурийск: ГЦАС «Приморский», ДВО ДОП РАН, 2001. – 172 с.*

Поступила в редакцию 09.07.20
Принята к публикации 20.07.20

ФОРМИРОВАНИЕ ФОТОСИНТЕТИЧЕСКОГО АППАРАТА ЯРОВОЙ ПШЕНИЦЫ СОРТА БАЖЕНКА ПОД ВЛИЯНИЕМ РЕГУЛЯТОРОВ РОСТА

О.М. Снигирева, аспирант, Ю.Е. Ведерников, кандидат сельскохозяйственных наук,
Г.А. Баталова, академик РАН

Федеральный аграрный научный центр Северо-Востока имени Н.В. Рудницкого,
610007, Киров, ул. Ленина, 166 а
E-mail: g.batalova@mail.ru

В 2017 и 2019 гг. изучено влияние регуляторов роста Альбит и Эмистим Р, пестицида Бункер на площадь листьев растений яровой мягкой пшеницы сорта Баженка и содержание фотосинтетических пигментов в условиях Кировской области на опытном поле ФАНЦ Северо-Востока. При использовании для обработки семян регулятора роста Эмистим Р индивидуально и в баковой смеси с фунгицидом Бункер, регулятора роста Альбит в сочетании с фунгицидом наблюдали наибольшее количество хлорофиллов а и б во флаговом листе (соответственно 9,1-9,4 и 5,1-6,6 мг/г сухой массы) и наибольшую урожайность (3,1; 3,5 и 3,0 т/га при 1,7 т/га в контроле). Установлено значимое влияние площади флагового листа на урожайность ($r = 0,58$), количество Chl а и б и число зерен в колосе ($r = 0,58$; $r = 0,57$). Количество пигментов в листьях в период от всходов до колошения определяли температура: Chl а ($r = -0,89$), Chl б ($r = -0,81$), каротиноиды – Car ($r = -0,79$) и осадки: Chl а ($r = 0,90$), Chl б ($r = 0,85$) и Car ($r = 0,86$). Корреляции – отрицательные с количеством осадков и положительные с температурой определены для площади листьев главного стебля и подфлагового листа.

FORMATION OF PHOTOSYNTHETIC APPARATUS OF SPRING WHEAT CV. BAJENKA UNDER THE INFLUENCE OF GROWTH REGULATORS

Snigireva O.M., Vedernikov Yu.E., Batalova G.A.

Federal Agricultural Research Center of the North-East named N.V. Rudnitsky,
610007, Kirov, ul. Lenina, 166
E-mail: g.batalova@mail.ru

The influence of the growth regulators Albit and Emistim R, the pesticide Bunker on the leaf area and the content of photosynthetic pigments in plants of the spring soft wheat cv. 'Bazhenka' were studied in the conditions of the Kirov region on the experimental field of the FARC North-East in 2017 and 2019. When growth regulator Emistim P was used for seed treatment individually and in tank mixture with the fungicide Bunker, as well as the growth regulator Albite combined with the fungicide, the largest amount of Chl a and b in flag leaf (respectively 9.1-9.4 and 5.1-6.6 mg/g dry matter) and the greatest yield (3.1 t/ha; 3.5 t/ha, and 3.0 t/ha at 1.7 t/ha in control) was observed. A significant effect was established of flag leaf area on yield ($r = 0.58$), and of Chl a and b on the number of grains in ear ($r = 0.58$; $r = 0.57$). The amount of pigments in the leaves in period from seedlings to ear formation was determined by temperature: Chl a ($r = -0.89$), Chl b ($r = -0.81$), Car ($r = -0.79$) and precipitation: Chl a ($r = 0.90$), Chl b ($r = 0.85$) and Car ($r = 0.86$). Negative correlations with the amount of precipitation and positive with the temperature were shown for the area of total leaves and the second leaf of the main stem.

Ключевые слова: яровая мягкая пшеница, регуляторы роста, фотосинтетические пигменты – хлорофилл, каротиноиды, площадь листьев

Key words: spring soft wheat, growth regulators, photosynthetic pigments – chlorophyll, carotenoids, leaf area

В современных условиях все большее внимание уделяют вопросам увеличения производства зерна, в первую очередь пшеницы. Это определяет не только интенсификацию исследований в области селекции, но и разработку сортовых технологий и их отдельных элементов. По мнению А.А. Ничипоровича [1], рост урожайности обеспечивают посевы, способные использовать энергию фотосинтетической активной радиации (ФАР) с высоким коэффициентом полезного действия. Продуктивность, уровень урожая биомассы и зерна обуславливают три физиолого-биохимических процесса: фотосинтез – образование органического вещества, дыхание – расщепление органического вещества на жизнедеятельность и транслокация – транспортировка пластических веществ в репродуктивные органы (зерновки) [2].

На развитие фотосинтезирующих структур и продуктивность зерновых культур, качество семян положительно влияют регуляторы роста [3, 4]. Они стимулируют активность ключевых ферментов фотосинтеза, способствуют повышению интенсивности ростовых и формообразовательных процессов [5, 6]. Регуляторы

роста воздействуют на размер ассимилирующей поверхности растений, продолжительность ее функционирования и соответственно на поглощение и аккумуляцию ФАР [7]. Основной фотосинтезирующий орган растений – лист; отмечена прямая зависимость урожая биомассы и зерна от размера площади листьев [8, 9]. Любые изменения в функционировании листьев в ходе онтогенеза растений влияют на весь организм. Листья разных ярусов имеют различный вклад в продуктивность растений. Фотоассимиляты флагового и подфлагового листьев идут на формирование зерна, остальных листьев – в основном на поддержание собственного метаболизма [10, 11]. Наиболее высокой фотосинтетической активностью обладает флаговый лист, у которого в несколько раз больше количество хлоропластов на единицу ассимилирующей поверхности листа, чем у других органов.

У высших растений пигменты фотосинтеза делят на два класса: хлорофиллы и каротиноиды. Содержание хлорофилла – один из косвенных индикаторов фотосинтетической активности растений [11]. Количественные и качественные изменения пигментного

комплекса служат показателем физиологического состояния растений, активности их фотосинтетического аппарата [12]. Содержание пигментов свидетельствует о степени развития фотосинтетического аппарата, характеризует ассимиляционную деятельность растений и потенциально возможный урожай.

Целью исследований был анализ изменений показателей фотосинтетического аппарата под влиянием регуляторов роста в связи с перспективами повышения продуктивности посевов яровой мягкой пшеницы сорта Баженка

Методика. Исследования проведены в 2017 и 2019 гг. на опытном поле Федерального аграрного научного центра (ФАНЦ) Северо-Востока. Почва опытного участка – дерново-подзолистая среднесуглинистая, предшественник – чистый пар. Объект исследования – сорт яровой мягкой пшеницы Баженка. Для предпосевной обработки семян (ОС) и обработки посевов (ОП) в фазе кушения использовали регуляторы роста Эмистим Р (0,01 г/л продуктов метаболизма симбионтного гриба *Acremonium lichenicola*), Альбит (биофунгицид, антистрессант) и системный химический фунгицид Бункер, КС (дифеноконазол 30 г/л + ципроконазол 6,3 г/л) для ОС семян индивидуально и в составе баковых смесей с регуляторами роста. Схема опыта включала: 1(К) – контроль – ОС водой, посева без обработки; 2 – ОС Бункер; 3 – ОС Эмистим Р; 4 – ОС Альбит; 5 – ОС Эмистим Р + Бункер; 6 – ОС Альбит + Бункер; 7 – ОП Эмистим Р; 8 – ОП Альбит; 9 – ОС и ОП Эмистим Р; 10 – ОС и ОП Альбит; 11 – ОС Эмистим Р + Бункер, ОП Эмистим Р; 12 – ОС Альбит + Бункер, ОП Альбит. Учетная площадь деланки составляла 10 м², повторность – 4-кратная.

В 2017 г. условия вегетации пшеницы характеризовались избыточным увлажнением, особенно в период выхода в трубку – колошения (126-189% от средней многолетней), и пониженными температурами (-2,7-0,7 °С), что привело к затягиванию сроков колошения. В 2019 г. увлажнение изменялось от избыточного в фазе выхода в трубку (137%) до недостаточного в колошение (69%) при дефиците тепла; среднемесячная температура была на 0,5-2,1 °С ниже средней многолетней. Хорошее развитие вегетативной массы растений привело к частичному их полеганию, что спровоцировало развитие грибных патогенов на листьях и колосе.

В фазы кушения и колошения проводили учет высоты и массы 15 растений с каждого повторения, в фазе колошения – площади листьев [13]. Концентрацию пигментов (хлорофилл *a* и *b*, каротиноиды) определяли во флаговом листе с использованием спектрофотометра UVmini-1240 (SHIMADZU Corporation, Japan), выделение пигментов и расчет их содержания проводили в ацетоновых вытяжках (100% ацетон) при длинах волн 644,8 и 661,6 нм для хлорофилла (*Chl a* и *b* соответственно), 470 нм – для каротиноидов (*Car*) [14]. Чистую продуктивность фотосинтеза (ЧПФ) определяли по методике [1]. Статистическая обработка данных проведена с использованием пакета прикладных программ AGROS 2.07 и табличного процессора Microsoft Office Excel 2007.

Результаты и обсуждение. Известно, что у наземных растений *Chl a* количественно преобладает над *Chl b*. Он представлен в реакционных центрах фотосистем и светособирающих комплексах (ССК) хлоропластов [11], хлорофилл *b* – в ССК. Наряду с этими пигментами в процессе накопления биомассы участвуют *Car*, улавливающие световую энергию в слабо используемых хлорофиллами частях ее спектра. Каротиноиды уве-

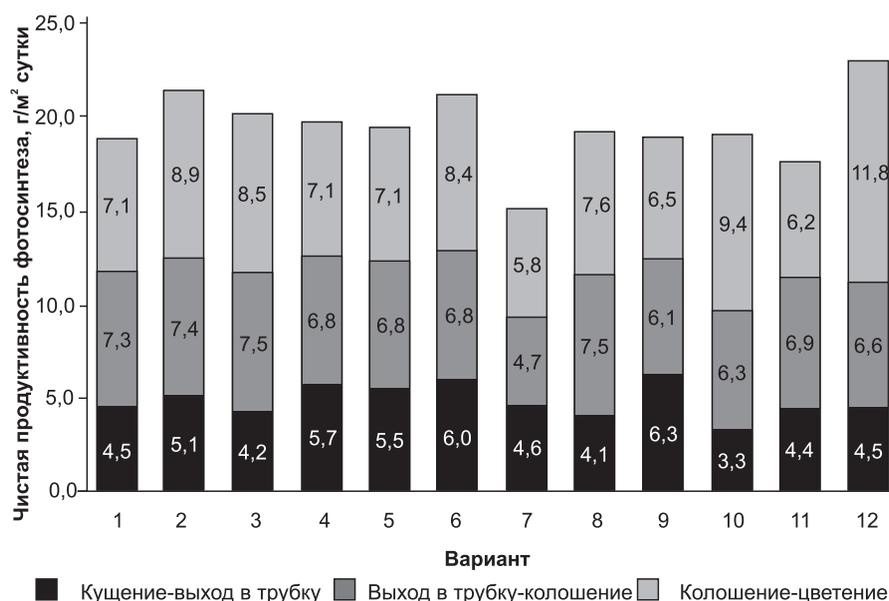
личивают гибкость мембран хлоропластов и способствуют тем самым эффективному функционированию фотосинтетического аппарата в условиях пониженных температур [14]. При продолжительном световом дне европейской части Северо-Востока России они могут функционировать как дополнительные светосборщики.

Регуляторы роста индивидуально и в сочетании с фунгицидом оказали в разной степени положительное влияние на пигментный комплекс флагового листа (табл. 1). Наибольшее количество *Chl a* и *b*, *Car* отмечено при использовании для обработки семян регулятора роста Эмистим Р с фунгицидом Бункер (вариант 5) и индивидуально (вариант 3), а также баковой смеси препаратов Альбит и Бункер (вариант 6). Положительное влияние регуляторов роста на содержание пигментов в надземных частях растений отмечали ранее [15]. При высоких показателях содержания *Chl a* и *b* в вариантах 3, 5, 6 наблюдали наибольшую среднюю урожайность – соответственно 3,1; 3,5 и 3,0 т/га при 1,7 т/га в контроле. Имеются данные, что содержание *Chl* в листьях высокопродуктивных сортов пшеницы может быть различным по величине, а высокий его уровень указывает на меньшую степень фотонгибирования при действии стресса [7]. В вариантах 9 и 12 с содержанием *Chl a* 8,5; *Chl b* 5,1; *Car* 2,4 и 2,6 мг/г сухой массы урожайность была несколько ниже (2,9 и 2,8 т/га).

Соотношение *Chl (a+b)/Car* служит индикатором «зелености» растений. В норме у листьев на прямом солнечном свете оно составляет 4,2-5,0 и 5,5-7,0 у «теневых» растений [14]. В исследованиях 2019 г. это соотношение было в указанных пределах для двух групп растений. В большей части вариантов его величина варьировала от 4,03 до 4,91. В вариантах 8, 9 и 10 соотношение составило 5,94-6,16, что может быть связано с частичным полеганием растений и свидетельствует о недостаточной эффективности накопления растительной биомассы. В 2017 г. соотношение *Chl (a+b) / Car*

Табл. 1. Содержание пигментов (мг/г сухой массы) во флаговых листьях растений в зависимости от препаратов (среднее за 2017 и 2019 гг.)

Вариант	<i>Chl a</i>	<i>Chl b</i>	<i>Car</i>	<i>Chl a/Chl b</i>	<i>Chl (a+b)/Car</i>
1К	7,8	4,2	2,0	1,9	6,0
2	7,2	4,3	2,2	1,7	5,2
3	9,1	5,8	2,6	1,6	5,7
4	7,1	3,6	2,3	1,9	4,6
5	9,4	6,6	3,0	1,4	5,3
6	9,0	5,1	2,6	1,8	5,4
7	7,7	3,9	2,3	1,9	5,0
8	7,9	4,2	2,5	1,9	4,8
9	8,5	5,1	2,4	1,7	5,6
10	8,3	4,3	2,4	1,9	5,2
11	8,3	4,0	2,3	2,1	5,3
12	8,5	5,1	2,6	1,7	5,2



Чистая продуктивность фотосинтеза (г/м² сутки), средняя за 2017 и 2019 гг.

превысило предел верхнего показателя для «теневых» растений, что указывает на недостаточную их освещенность в период, предшествующий отбору листовых проб. В результате средние за годы исследований значения соотношения составили 4,6-6,0, а в вариантах 5 и 6 с высокой средней урожайностью (3,5 и 3,0 т/га) выявлена его промежуточная величина, равная 5,3 и 5,4.

Снижение соотношения *Chl a/Chl b* относительно контроля (на 0,1-0,5 мг/г сухой массы) может свидетельствовать о повышении адаптивного потенциала растений под влиянием изучаемых препаратов и быть показателем устойчивости растений к стрессу. В данном случае стрессовым фактором оказались пониженные температуры. На количество пигментов в период от всходов до колошения значимо отрицательно влияла (при $p \leq 0,05$) температура: *Chl a* ($r = -0,89$), *Chl b* ($r = -0,81$), *Car* ($r = -0,79$). Осадки в этот период были благоприятны (значимо при $p \leq 0,05$) для накопления *Chl a* ($r = 0,90$), *Chl b* ($r = 0,85$) и *Car* ($r = 0,86$). В фазе колошения определено значимое влияние (при $p \leq 0,05$) *Chl a* и *b* на длину главного колоса пшеницы ($r = 0,64$; $r = 0,58$ соответственно) и число зерен в нем ($r = 0,58$; $r = 0,57$), площади флагового листа на урожайность ($r = 0,58$).

Площадь листовой поверхности – важный элемент структуры фотосинтетического аппарата растений, обеспечивающий поглощение световой энергии для процесса фотосинтеза [4]. Площадь листьев наряду с препаратами определяли погодные условия. В фазе колошения наблюдали положительную корреляционную зависимость (значимо при $p \leq 0,05$) площади листьев главного стебля и подфлагового листа от температуры ($r = 0,74$ и $r = 0,60$ соответственно) и отрицательную – с количеством осадков ($r = -0,73$ и $r = -0,64$). Площадь листьев главного стебля была во всех вариантах выше, чем в контроле, значимое превышение наблюдали в 3, 5, 6, 9 вариантах, для которых отмечена высокая урожайность (табл. 2).

В среднем за годы исследований под влиянием обработки семян регулятором роста Эмистим Р в сочетании с фунгицидом Бункер (вариант 5) наиболее значимо

увеличилась площадь листьев главного стебля растений (+9,6 см²), флагового (+5,1 см²) и подфлагового (+1,7 см²) листьев относительно контроля. Высокие показатели получены при индивидуальной обработке семян препаратом Эмистим Р (вариант 3). Отмечена эффективность обработки семян баковой смесью препаратов Альбит и Бункер (вариант 6).

Наряду с другими показателями важной составляющей формирования урожайности является чистая продуктивность фотосинтеза (ЧПФ). Она характеризует количество абсолютно сухого вещества, накапливаемого 1 м² площади листовой поверхности в сутки, динамику накопления биологического урожая [16]. В наших исследованиях величина ЧПФ варьировала в зависимости от применения препаратов (рис.). В межфазный период

кущения – выхода в трубку значения ЧПФ были невысокие (3,3-6,3 г/м² сутки), что объясняется недостаточной интенсивностью фотосинтеза в молодых листьях. Наибольшие показатели достигались в период колошения – цветения. Максимальную ЧПФ отмечали в варианте обработки семян баковой смесью препаратов Альбит и Бункер с последующей обработкой посевов Альбит (11,8 г/м² сутки).

Табл. 2. Площадь листьев растений в зависимости от обработки препаратами (среднее за 2017 и 2019 гг.)

Вариант	Площадь листьев, см²					
	главного стебля		флагового листа		подфлагового листа	
	показатель	к контролю	показатель	к контролю	показатель	к контролю
1К	28,3	-	13,1	-	11,6	-
2	32,6	3,2	12,8	0,2	11,7	0,1
3	37,1	6,2	14,5	1,4	14,0	2,4
4	31,3	1,9	12,8	-0,3	11,0	-0,6
5	39,0	9,6	18,2	5,1	13,3	1,7
6	35,5	5,7	14,6	0,9	13,7	1,1
7	31,3	4,1	10,5	-1,8	10,0	-1,6
8	28,8	3,4	10,2	-2,9	8,3	-2,0
9	34,8	4,9	14,0	0,3	11,1	0,5
10	30,7	1,3	11,8	-0,8	10,4	-1,2
11	30,7	1,3	11,3	-1,8	11,4	0,2
12	28,6	4,2	9,2	0,1	9,8	-0,3
НСР ₀₅	4,8		3,4		0,9	

В вариантах 3, 5 и 6 с высокой средней урожайностью накопление биологического урожая проходило более равномерно, чем в варианте 12, что, по-видимому, обеспечило закладку большего количества цветков и их развитие на первом этапе, а также последующее формирование большего числа зерен в колосе и более высокой продуктивности. Это соответствует мнению других исследователей, что оптимизация работы фотосинтетического аппарата способствует росту урожайности на 10-60% [17, 18].

Таким образом, установлено положительное влияние регуляторов роста Альбит и Эмистин Р при индивидуальном использовании для обработки семян и посевов и в сочетании с фунгицидом Бункер на фотосинтетический аппарат растений яровой мягкой пшеницы сорта Баженка – количество пигментов в листьях и площадь листьев, чистую продуктивность фотосинтеза. Наибольшее количество хлорофилла *a* и *b* во флаговом листе (соответственно 9,1-9,4 и 5,1-6,6 мг/г сухой массы), более равномерное накопление биологического урожая по периодам вегетации наблюдали при использовании для обработки семян регулятора роста Эмистин Р индивидуально и в баковой смеси с фунгицидом Бункер, а также регулятора роста Альбит в сочетании с фунгицидом, что обеспечило получение наибольшей средней урожайности 3,0-3,5 т/га.

Литература

1. Ничипорович А.А. Фотосинтетическая деятельность растений в посевах (методы и задачи учета в связи с формированием урожая). – М. 1961. – 135 с.
2. Хисамова К.Ч., Яшин Е.А., Куликова А.Х. Формирование посевов и урожая ячменя в зависимости от применения в системе удобрения соломы и биологического препарата Байкал ЭМ-1 // Вестник Ульяновской государственной сельскохозяйственной академии. – 2016. – N 2(34). – С. 65-73.
3. Воложанина Е.Н., Баталова Г.А., Лисицын Е.М., Влияние обработки семян и посевов препаратами на кормовую продуктивность и фотосинтетический аппарат голозерного овса сорта Вятский // Аграрный вестник Верхневолжья. – 2016. – N 1. – С. 5-10.
4. Завалин А.А. Применение биопрепаратов при возделывании полевых культур // Достижения науки и техники АПК. – 2011. – N 8. – С. 9-11.
5. Белоухов С.Л., Бугаев П.Д., Ламмас М.Е., Прохоров И.С. Влияние биопрепаратов на фотосинтетическую деятельность ячменя // Агротехнический вестник. – 2013. – N 5. – С. 19-21. eLIBRARY ID: 21014437.
6. Гулянов Ю.А. Продуктивность фотосинтеза озимой пшеницы // Земледелие. – 2006. – N 6. – С. 30-31.
7. Юсов В.С., Юсова О.А., Евдокимов М.Г., Фризен Ю.В. Флаговый лист как фактор повышения продуктивности яровой твердой пшеницы // Евразийский союз ученых. – 2015. – N 2-4(11). – P. 76-79. <https://www.elibrary.ru/item.asp?id=27643107>
8. Шатилов И.С., Замаев А.Г., Чаповская Г.В. Формирование и продуктивность работы фотосинтетического аппарата сельскохозяйственных растений в севообороте // Известия ТСХА. – 1969. – Вып. 6. – С. 18-26.
9. Ничипорович А.А. Физиология фотосинтеза и продуктивность растений // Физиология фотосинтеза. – М., 1982. – С. 7-34.
10. Беденко В.П., Коломейченко В.В. Основы продуктивного процесса растений. – Орел: Изд. дом «Орлик». 2003. – 260 с.
11. Лисицын Е.М., Баталова Г.А., Щенникова И.Н. Генетическая основа алюмоустойчивости овса и ячменя // В кн.: Создания сортов овса и ячменя для кислых почв. Теория и практика. Palmarium Academic Publishing, Saarbrücken, Germany, 2012. – С. 173-228.
12. Воронин П.Ю., Ефимцев Е.И., Васильев А.А., Ватковский О.С., Мокроносов А.Т. Проектное содержание хлорофилла и биоразнообразие растительности основных ботанико-географических зон России // Физиология растений. – 1995. – Т. 42. – С. 295-30.
13. Зелинский М.И., Наумова Т.В. Расчетный способ определения площади листьев (зерновые культуры). – Л.: ВИР, 1984. – 20 с.
14. Lichtenthaler H.K., Buschmann C. Chlorophylls and carotenoids: measurement and characterization by UV-VIS spectroscopy // Current protocols in food analytical chemistry. – 2001. – F. 4.3.1-F. 4.3.8.
15. Гинс М.С., Гинс В.К., Байков А.А., Кононков П.Ф., Пивоваров В.Ф., Сидельников Н.И., Рабинович А.М., Загуменникова Т.Н., Коцюбинский А.В., Злотников А.К., Злотников К.М., Гончарова О.И. Содержание антиоксидантов в растениях *Passiflora incarnata* на начальном этапе онтогенеза при действии биопрепарата Альбит // Российская сельскохозяйственная наука. – 2017. – N 4. – С. 21-26.
16. Bahar B. Relationships among flag chlorophyll content, agronomical traits, and some physiological traits of winter wheat genotypes. DUFED. – 2015. – V. 4. – Iss. 1. – P. 1-5.
17. Long S.P., Marshall-Colon A., Zhu X-G. Meeting the global food demand of the future by engineering crop photosynthesis and yield potential. Cell. – 2015. – V. 161. – P. 56-66. DOI: 10/1016/j.cell.2015.03.019.
18. Parry M.A.J., Hawkesford M.J. An integrated approach to crop genetic improvement. // J. Integr. Plant. Biol. – 2012. – V. 54. – P. 250-259. DOI: 10.1111/j.1744-7909.2012.01109/x.

Поступила в редакцию 12.02.20
Принята к публикации 20.05.20

ВНУТРИКАЛЛУСНАЯ И МЕЖКАЛЛУСНАЯ МОРФОЛОГИЧЕСКАЯ ИЗМЕНЧИВОСТЬ УДВОЕННЫХ ГАПЛОИДОВ РИСА, ПОЛУЧЕННЫХ В АНДРОГЕНЕЗЕ *in vitro***М.В. Илюшко**, кандидат биологических наук, **С.С. Гученко**,
М.В. Ромашова, кандидат сельскохозяйственных наукФедеральный научный центр агробιοтехнологий Дальнего Востока имени А.К. Чайки,
692539, Приморский край, п. Тимирязевский, ул. Воложенина, 30
E-mail: ilyushkoiris@mail.ru

*Изучена внутрикаллусная и межкаллусная морфологическая изменчивость удвоенных гаплоидов риса *Oryza sativa* L., полученных в андрогенезе *in vitro* на каллусных линиях с множественной регенерацией. Использовали регенеранты от гибридов второго поколения F₂; Дон 4237×(Зарваси 70×Хейлундзян) – D×3×X, растение №8; Романика×(Дарий 122×Краснодар 9167) – P×D×67, растение №15; Китаец×(ВНИИР 3223×Кензо) – K×23×K, растения №26 и №28. Семенное потомство удвоенных гаплоидов риса первого поколения R₁ высевали на вегетационной площадке в сосудах размером 1,54 м², наполненных полевой почвой. Всего проанализировано 1383 растения 144 линий удвоенных гаплоидов восьми каллусных линий. В результате дисперсионного анализа выявлены статистически значимые различия между удвоенными гаплоидами двух каллусных агрегатов одного пыльника и разных пыльников одного гибрида. Обнаружена корреляционная зависимость (p<0,05) ряда биометрических показателей от высоты растений: длина метелки (r=0,72), масса зерна главной метелки (r=0,80), масса зерна растения (r=0,59), масса 1000 зерен (r=0,74). Таким образом, высокорослые растения оказались более продуктивными, чем низко- и среднерослые. После первичной оценки линий удвоенных гаплоидов по биометрическим показателям объединили семенное потомство наиболее продуктивных растений одной каллусной линии с целью увеличения объема образца и его быстрого размножения. Это позволит скорее перейти от рассмотрения продуктивности отдельных растений к полевой оценке урожайности.*

INTRACALLUS AND INTERCALLUS MORPHOLOGICAL VARIABILITY OF RICE DOUBLED HAPLOIDS, GAINED *in vitro* ANDROGENESIS**Ilyushko M.V., Guchenko S.S., Romashova M.V.**Federal Scientific Centre of Agrobiotechnology of the Far East named A.K. Chaika,
692539, Primorskiy kray, p. Timiryasevskiy, ul. Volozhenina, 30
E-mail: ilyushkoiris@mail.ru

*Intracallus and intercallus morphological variability of rice doubled haploids of *Oryza sativa* L., obtained *in vitro* androgenesis on callus lines with multiple regeneration, was studied. Used regenerants gained from hybrids of the second generation F₂, next hybrid combinations: Don 4237×(Szarvasi 70×Heilunjiang) – D×S×X, plant No. 8; Romanika×(Darius 122×Krasnodar 9167) – P×D×67, plant No. 15; Kitaets×(VNIIR 3223×Kenzo) – K×23×K, plants No. 26 and No. 28. The seed progeny of doubled haploids of the first generation R₁ were sown on the vegetation site in vessels of 1.54 m² in size, filled with field soil. A total of 1383 plants were analyzed, 144 lines of doubled haploids of eight callus lines. The analysis of variance revealed statistically significant differences (p<0.05) between doubled haploids of two callus aggregates of same anther and different anthers of one hybrid. A correlation dependence (p<0.05) of biometric indicators on the plant height was found: panicle length (r = 0.72), grain mass of the main panicle (r = 0.80), plant grain mass (r = 0.59), mass of 1000 grains (r = 0.74), i.e. tall plants were more productive than low and medium-sized plants. After an initial assessment of doubled haploid lines by biometric indicators, the seed progeny of the most productive plants of the same callus line were combined to increase the volume of the sample and their rapid reproduction. This will make it possible to move more quickly from considering the productivity of individual plants to a field assessment of yield.*

Ключевые слова: *Oryza sativa* L., удвоенные гаплоиды, внутрикаллусная морфологическая изменчивость, селекционный процесс**Key words:** *Oryza sativa* L., doubled haploids, intracallus morphological variability, plant breeding

Использование удвоенных гаплоидов (doubled-haploids – DH) служит эффективной технологией в селекционном процессе растений [1-3], и рис – одна из первых культур, где она была успешно применена в культуре пыльников *in vitro* [1, 4, 5]. Основные исследовательские работы в этой области на любых сельскохозяйственных культурах, как и прежде, сосредоточены в основном на оптимизации существующих методик получения удвоенных гаплоидов и связаны с изучением условий произрастания растений-доноров, предобработкой пыльников, оптимизацией питательных сред и удвоением хромосом в клетках [1, 2, 5]. Кроме этого множество трудно культивируемых *in vitro* генотипов представляет большой интерес для селекционеров, что требует изучения факторов, детерминирующих андрогенетический успех [6-9]. Некоторые известные лаборатории организовали широкомасштабное производство удвоенных гаплоидов для селекционных целей

[2]. Интерес к DH-технологиям наметился с внедрением маркер-ориентированной селекции (marker assistant selection – MAS), позволившей получить линии удвоенных гаплоидов с целевыми признаками. Например, у риса – линии с генами устойчивости к грибному возбудителю пирикулярноза *Pyricularia grisea* Sacc. [10, 11], резистентные к двум видам патогенов [12], глютинозные [13], у яровых зерновых – формы, устойчивые к грибным болезням [2].

DH-технология и MAS (отдельно и совместно) призваны ускорить селекционный процесс [2, 14]. Однако можно отметить некоторые ограничения для каждой из них. Считается, что гомозиготные линии удвоенных гаплоидов можно получить за 2-3 поколения вместо 6-9 генераций как при привычном отборе гибридных растений [5, 14]. Но даже при большой отзывчивости группы генотипов (например, различные гибридные комбинации одинаковых родителей) у некоторых из них отсут-

Средние значения морфологических признаков внутри каллусной линии, рассчитанные по усредненным значениям линий удвоенных гаплоидов

Гибридное растение	Каллусная линия	Объем выборки	Высота растений, см	Длина метелки, см	Кущение, шт.	Число зерен главной метелки, шт.	Масса зерна главной метелки, г	Масса зерна растения, г	Масса 1000 шт. зерен	Соотношение зерно:солома	Прочность соломины
Д×3×Х(8)	88.2.1	16	87,5	18,1	3,1	85,8	2,4	5,7	27,9	1,28	0,18
	97.1.1	7	85,1	18,9	2,7	89,1	2,4	5,3	28,6	1,56	0,16
	125.1.1	6	74,8	16,6	3,0	93,6	2,5	5,4	25,9	1,35	0,18
	p**	–	0,07	0,17	0,61	0,69	0,97	0,88	0,05	0,22	0,05
Р×Д×67(15)	54.2.1	15	77,0	14,6	1,1	60,3	1,5	3,4	24,9	1,21	0,14
	55.1.1	18	80,2	15,5	0,8	67,5	1,6	4,5	24,6	1,04	0,15
	62.2.2	19	90,1	15,6	0,8	65,3	1,6	4,6	24,5	0,99	0,16
	62.2.4	14	82,3	15,7	1,4	61,2	1,5	4,5	23,8	0,95	0,16
	p*	–	0,02	0,80	0,48	0,08	0,16	0,64	0,29	0,33	0,94
	p**	–	0,000003	0,007	0,002	0,003	0,12	0,002	0,26	0,0002	0,004
К×В×К(26)	80.2.1	16	94,8	16,9	1,5	76,3	2,2	4,7	28,9	1,10	0,16
	80.2.2	12	106,8	20,1	1,7	91,2	2,7	5,7	30,2	1,24	0,16
	p*	–	0,00005	0,00002	0,55	0,004	0,006	0,03	0,03	0,29	0,95
К×В×К(28)	126.1.1	21	93,0	19,3	3,1	60,9	2,2	5,8	32,4	1,91	0,17

Примечание. p* – уровень достоверности различий между удвоенными гаплоидами двух каллусных агрегатов единой каллусной линии по результатам дисперсионного анализа; p** – уровень достоверности различий между удвоенными гаплоидами разных каллусных линий одного гибридного растения по результатам дисперсионного анализа.

ствуется каллусообразование или регенерация [15, 16]. В этом случае используют гибриды второго поколения, которые более отзывчивы на культуру пыльников *in vitro* и обеспечивают больший выход зеленых регенерантов [5, 17]. Для неподдающихся генотипов необходим подбор особых условий культивирования *in vitro* [6-9], что требует дополнительных временных и материальных затрат. Ситуация усугубляется тем, что отдельные гены, ответственные за хозяйственно полезные признаки, негативно влияют на андрогенетический ответ растений [18], а целевые гены MAS часто сцеплены с показателями продуктивности растений и ведут к негативному отбору [19], или отсутствует фенотипическое проявление признаков, по которым вели молекулярно-генетический отбор [12]. После создания исходного материала необходимо оценить агрономически важные признаки полученных линий удвоенных гаплоидов, их урожайность, что занимает еще минимум шесть лет [2].

Потенциал увеличения урожайности за счет создания новых сортов основных сельскохозяйственных культур традиционными методами в основном исчерпан. Поэтому во всем мире стремятся вывести суперсорта и супергибриды, которые преодолели бы барьер повышения продуктивности культур [4]. Для этого уже недостаточно просто гибридизации, создания соматоклональных регенерантов, удвоенных гаплоидов или отобранных по одному признаку с помощью MAS селекционных линий. Современные селекционные схемы усложняются различными комбинациями прежних методик: предложены схема обогатительно-восстано-

вительной селекции (один цикл – 7 лет), основанной на применении дигаплоидных линий, для сбора в гомозиготной линии благоприятных аллелей, отвечающих за гетерозис [20]; пирамидирование генов гибридизацией с применением MAS [14, 21, 22]; закрепление гетерозиса гибридов комбинацией ДН-технологии и молекулярно-генетического сопровождения (6 лет) [4]; насыщение гермоплазмы лучших сортов целевыми генами с молекулярно-генетическим контролем (10 лет) [23]. Эти методы работы, безусловно, результативны, но при этом еще больше возрастает срок создания новых сортов.

Интенсификация селекционного процесса необходима не только на этапе создания исходного материала, но и на последующих этапах оценки и размножения. Для быстрого, точного и массового описания растений разработано автоматическое фенотипирование растений [14]. Ускорить размножение возможно формированием популяции растений с одинаковой комбинацией целевых генов (10-35 линий) [22], то есть проведением массового отбора. Среди линий удвоенных гаплоидов принято проводить индивидуальный отбор [4, 15, 24]. Считается, что для эффективного отбора достаточно 100-150 линий одного образца [Zongxiu, Chengzhang, 1992, по: 5]. В этом случае не обсуждается вопрос принадлежности линий удвоенных гаплоидов одному пыльнику или разным пыльникам или микроспорам. Между тем на одной каллусной линии, полученной с одного пыльника, может образоваться более сотни удвоенных гаплоидов [25], многие из которых морфо-

растений (при $p=0,02$); у гибрида $K \times 23 \times K(26)$ по шести признакам между каллусами 80.2.1 и 80.2.2 при $p < 0,03$ (таблица). Вероятно, каллусные агрегаты одного пыльника развились из разных пыльцевых зерен, что выразилось в различиях удвоенных гаплоидов одного пыльника. Далее разные каллусные агрегаты рассматривали как различные пыльники одного гибридного растения.

Анализ различий между удвоенными гаплоидами разных пыльников показал достоверные различия по дисперсиям у двух представленных гибридов (таблица): по двум признакам у растений $D \times 3 \times X(8)$ при $p=0,05$ и по семи признакам у растений $P \times D \times 67(15)$ при $p < 0,007$. Удвоенные гаплоиды разных пыльников и различных каллусных агрегатов гетерогенны и не могут быть объединены в один образец без предварительного анализа биометрических показателей.

Сравнили внутрикаллусный и межкаллусный уровень изменчивости (С) удвоенных гаплоидов двух гибридных растений $D \times 3 \times X(8)$ и $P \times D \times 67(15)$. Во многих случаях внутрикаллусный коэффициент вариации превышал межкаллусный или оставался таким же (рисунки). Это означает, что существует внутрикаллусная дифференциация удвоенных гаплоидов, поэтому целесообразно вести индивидуальный отбор регенерантов первого поколения.

Выявлена корреляционная зависимость ($p < 0,05$) ряда биометрических показателей от высоты растений: длина метелки ($r=0,72$), масса зерна главной метелки ($r=0,80$), масса зерна растения ($r=0,59$), масса 1000 зерен ($r=0,74$). Таким образом, высокорослые растения в нашем эксперименте оказались более продуктивными, чем низко- и среднерослые. Все эти удвоенные гаплоиды были получены с гибридных растений одной комбинации $K \times 23 \times K$. В отечественной литературе среди специалистов по зерновым культурам продолжается обсуждение актуальности генов зеленой революции (гены полукарликовости), которые позволили с середины 60-х годов на очень высоком минеральном питании значительно повысить урожайность пшеницы и риса за счет отсутствия полегаемости [27-29]. Между тем, китайскими и японскими учеными выявлены природные источники с генами *IPM1* [30] и *SCM2* [31, 32], которые ответственны за толстую прочную соломинку риса. Это высокорослые, устойчивые к полеганию растения, которые при значительных дозах удобрений обладают более высокой зерновой продуктивностью, чем полукарликовые формы. Отдельные селекционные линии рассматривают как перспективные, и некоторые их недостатки пытаются откорректировать с помощью методов геномного редактирования [33]. Вероятно, можно говорить о наметившейся смене парадигмы в селекции риса на такие показатели как высота растений и устойчивость к полеганию.

Для дальнейшей селекционной работы мы выделили линии удвоенных гаплоидов с высокими значениями продуктивности растения, индекса прочности соломины и массой 1000 зерен 30,0 г и более: с каллусной линии 88.2.1 – семенное потомство двух растений (75 г, $I_c=0,16$), линии 97.1.1 – потомство одного растения (60 г, $I_c=0,18$) – гибридное растение $D \times 3 \times X(8)$; удвоенные гаплоиды гибридного растения $P \times D \times 67(15)$ сформировали мелкие семена – около 25 г, поэтому отбракованы; с каллусного агрегата 80.2.1 – семенное потомство пяти растений и с каллусного агрегата 80.2.2 – четырех растений, объединенных в два отдельных селекционных образца (246 г, $I_c=0,17$ и 256 г, $I_c=0,17$ соответственно) – гибридное растение $K \times 23 \times K(26)$.

Самый большой образец из девяти растений отобран с каллусной линии 126.1.1 (531 г, $I_c=0,17$) – гибридное растение $K \times 23 \times K(28)$. Ранее аналогичный анализ мы провели с применением молекулярных маркеров [11]. Семена удвоенных гаплоидов одной каллусной линии с идентифицированными генами устойчивости риса к пирикулярриозу *Pi-ta2*, после предварительной морфологической оценки были объединены и переданы для полевых испытаний.

Таким образом, считаем возможным после первичной оценки линий удвоенных гаплоидов по биометрическим показателям объединение семенного потомства наиболее продуктивных растений одной каллусной линии с целью увеличения объема образца и его быстрого размножения. Это позволит скорее перейти от рассмотрения продуктивности отдельных растений к полевой оценке урожайности.

Литература.

- Mishra R., Rao G.J.N. *In-vitro androgenesis in rice: advantages, constraints and future prospects // Rice Science.* – 2016. – V. 23. – № 2. – P. 57-68.
- Dwivedi S., Britt A., Tripathi L., Sharma S., Upadhyaya H.D., Ortiz R. *Haploids: constraints and opportunities in plant breeding.* – 2015. <http://dx.doi.org/10.1016/j.biotechadv.2015.07.001>.
- Germana M. *Anther culture for haploid and doubled haploid production // Plant Cell Tiss. Organ. Cult.* – 2011. – V. 104. – P. 283-300.
- Гончарова Ю.К., Харитонов Е.М. *Генетические основы повышения продуктивности риса.* – Краснодар: ФГБНУ ВНИИ риса, Просвещение-Юг, 2015. – 314 с.
- Sarao N.K., Gosal S.S. *In vitro androgenesis for accelerated breeding in rice // Biotechnologies of crop improvement / S.S. Gosal, S.H. Wani (eds.). – Springer International Publishing AG, Switzerland, 2018. – V. 1. – P. 407-435.*
- Tripathy S.K., Swain D., Mohapatra P.M., Prusti A.P., Sahoo B., Panda S., Dash M., Chakma B., Behera S.K. *Exploring factors affecting anther culture in rice (Oryza sativa L.) // Journal of Applied Biology and Biotechnology.* – 2019. – V. 7. – № 2. – P. 87-92.
- Maharani A., Fanata W.I.D., Laeli F.N.L., Kim K.-M., Handoyo T. *Callus induction and regeneration from anther cultures of Indonesian indica black rice culture // J. Crop. Sci. Biotech.* – 2020. – V. 23. – № 1. – P. 21-28.
- Esteves P., Belzile F. *TDZ in cereal gametic embryogenesis // Thidiazuron: from urea deviation to plant growth regulator / N. Ahmad, M. Faisal (eds.). – Springer Nature Singapore Pte Ltd., 2018. – P. 160-174.*
- Гончарова Ю.К., Харитонов Е.М., Бушман Н.Ю., Верецагина С.А. *Сравнительный анализ эффективности питательных сред для индукции каллусообразования у гибридов риса // Доклады Российской академии сельскохозяйственных наук.* – 2013. – № 6. – С. 6-9.
- Windarsih G., Utami D.W., Widyastuti U. *Molecular markers application for blast resistance selection on the double haploid rice population // Makara J. Sci.* – 2014. – V. 18. – № 2. – P. 31-41.
- Илюшко М.В., Ромашова М. В., Zhang J.-M., Deng L.-W., Liu D.-J., Zhang R., Гученко С.С. *Внутрикаллусная изменчивость удвоенных гаплоидов риса, полученных в андрогенезе in vitro // Сельскохозяйственная биология.* – 2020. – Т. 55. – № 3. – С. 533-543.
- Yi G., Lee H.-S., Kim K.-M. *Improved marker-assisted*

- selection efficiency of multi-resistance in doubled haploid rice plants // *Euphytica*. – 2015. – V. 203. – P. 421-428.
13. Сартбаева И.А., Усенбеков Б.Н., Рысбекова А.Б., Мухина Ж.М., Казкеев Д.Т., Жамбакин К.Ж., Жанбырбаев Е.А., Беркимбай Х.А., Ахметова Д.Ш., Мелдебекова А.А. Получение дигапloidных линий для селекции глютинозного риса // *Биотехнология*. – 2018. – Т. 34. – № 2. – С. 26-36.
 14. Колчанов Н.А., Кочетова А.В., Салина Е.А., Першина Л.А., Хлесткина Е.К., Шумный В.К. Состояние и перспективы использования маркер-ориентированной и геномной селекции растений // *Вестник Российской академии наук*. – 2017. – Т. 87. – № 4. – С. 348-354.
 15. Гончарова Ю.К. Использование метода культуры пыльников в селекции риса. – Краснодар: ВНИИ риса, 2012. – 91 с.
 16. Илюшко М.В., Ромашова М.В. Создание регенерантных линий методом культуры пыльников *in vitro* для селекции риса на российском Дальнем Востоке // *Дальневосточный аграрный вестник*. – 2017. – № 4(44). – С. 37-45.
 17. Bishnoi U.S., Jain R.K., Gupta K.R., Chowdhury V.K., Chowdhury J.B. High frequency androgenesis in indica × Basmati rice hybrids using liquid culture media // *Plant Cell Tiss. Organ. Cult.* – 2000. – Vol. 61. – P. 153-159.
 18. Сибикеева Ю.Е., Сибикеев С.Н. Влияние комбинаций чужеродных транслокаций на андрогенез *in vitro* у почти изогенных линий яровой мягкой пшеницы // *Генетика*. – 2014. – Т. 50. – № 7. – С. 831-839.
 19. Костылев П.И., Кудашкина Е.Б., Краснова Е.В., Возжжова Н.Н. Селекция риса на солеустойчивость // *Зерновое хозяйство России*. – 2019. – № 1. – С. 22-27.
 20. Михайлов М.Э. О новой возможности использования дигапloidных линий: схема обогатительно-восстановительной селекции // *Генетика*. – 2010. – Т. 46. – № 6. – С. 853-860.
 21. Orasen G., Greco R., Puja E., Pozzi C. Blast resistance R genes pyramiding in temperate japonica rice // *Euphytica*. – 2010. – V. 216. – P. 40-49.
 22. Wu Y., Xiao N., Chen Y., Yu L., Pan C., Li Y., Zhang X., Huang N., Ji H., Dai Z., Chen X., Li A. Comprehensive evaluation of resistance effects of pyramiding lines with different broad-spectrum resistance genes against *Magnaporthe oryzae* in rice (*Oryza sativa* L.) // *Rice*. – 2019. – V. 12. – P. 11-24.
 23. Satoh T., Tezuka K., Kawamoto T., Matsumoto S., Satoh-Nagasawa N., Ueda K., Sakurai K., Watanabe A., Takahashi H., Akagi H. Identification of QTLs controlling low-temperature germination of the East European rice (*Oryza sativa* L.) variety Maratteli // *Euphytica*. – 2016. – V. 207. – P. 245-254.
 24. Гученко С.С. Оценка дигапloidных линий риса первого и второго поколений по хозяйственно ценным признакам // *Аграрная Россия*. – 2018. – № 5. – С. 18-21.
 25. Илюшко М.В. Регенерационный максимум в андрогенных каллусных линиях риса *Oryza sativa* L. *in vitro* // *Рисоводство*. – 2019. – № 2. – С. 29-32.
 26. Ilyushko M.V., Romashova M.V. Formation of rice tetraploids in *in vitro* androgenesis // *Russian Agricultural Sciences*. – 2020. – V. 46. – № 4. – P. 332-336.
 27. Крупрейшвили Н.Т., Возжжова Н.Н., Марченко Д.М., Ионова Е.В. Выявление гена короткостебельности *Rht-b1* в образцах озимой мягкой пшеницы // *Зерновое хозяйство России*. – 2019. – № 6 (66). – С. 55-59.
 28. Костылев П.И., Краснова Е.В., Аксенова А.В. Наследование ряда количественных признаков у гибридов риса Карлик1×LK // *Зерновое хозяйство России*. – 2018. – № 3 (57). – С. 43-47.
 29. Nagano H., Onishi K., Ogasawara M., Horiuchi Y., Sano Y. Genealogy of the «Green revolution» gene in rice // *Genes Genet. Syst.* – 2005. – V. 80. – P. 351-356.
 30. Jiao Y., Wang Y., Xue D., Wang J., Yan M., Liu G., Dong G., Zeng D., Lu Z., Zhu X., Qian Q., Li J. Regulation of *OsSPL14* by *OsmiR156* defines ideal plant architecture in rice // *Natural Genetics*. – 2010. – V. 42. – № 6. – P. 541-545.
 31. Ookawa T., Hobo T., Yano M., Murata K., Ando T., Miura H., Asano K., Ochiai Y., Ikeda M., Nishitani R., Ebitani T., Ozaki H., Angeles E., Hirasawa T., Matsuoka M. New approach for rice improvement using a pleiotropic QTL gene for lodging resistance and yield // *Nature communications*. – 2010. – Doi:10.1038/ncomms1132.
 32. Merugumala G.R., Satyanarayana P.V., Narne C., Ravikumar B., Rao R., Pavani L., Deepika V. Molecular breeding of «Swarna», a mega rice variety for lodging resistance // *Mol. Breeding*. – 2019. – V. 39. – P. 55-69.
 33. Короткова А.М., Герасимова С.В., Шумный В.К., Хлесткина Е.К. Гены сельскохозяйственных растений, модифицированные с помощью системы CRISPR/Cas // *Вавиловский журнал генетики и селекции*. – 2017. – Т. 21. – № 2. – С. 250-258.

Поступила в редакцию 22.08.20
Принята к публикации 20.09.20

ОЦЕНКА ОТЗЫВЧИВОСТИ ГИБРИДОВ КУКУРУЗЫ НА АЗОТНОЕ УДОБРЕНИЕ

В.Н. Багринцева, доктор сельскохозяйственных наук,
И.Н. Ивашенко, кандидат сельскохозяйственных наук

*Всероссийский научно-исследовательский институт кукурузы,
357528, Пятигорск, ул. Ермолова, 14б
E-mail: maize-techno@mail.ru*

Изучали отзывчивость гибридов кукурузы на азотное удобрение как генетически обусловленного признака. Для этого создана гибридная комбинация, включающая исходные родительские формы с высокой ответной реакцией на азотное удобрение (по данным исследований, проведенных в 2012-2014 гг.). В качестве критериев оценки ответной реакции были взяты прирост вегетативной части и массы корневой системы растений линий и гибридов кукурузы в фазе 5 листьев, высоты, урожая зеленой массы и зерна. Гибридная комбинация, полученная в ходе скрещивания, в процессе испытания в 2015-2019 гг. показала существенно более высокий прирост вегетативной массы растений и массы корневой системы в фазе 5 листьев. На фоне азотного удобрения прибавка составила соответственно 2,12 и 0,37 г. Показано, что по сравнению со стандартом Машук 355 МВ гибрид Экспериментальный характеризуется большим приростом высоты растений (4 см), существенно более высокой прибавкой урожая зеленой массы (2,8 т/га) и урожая зерна (0,24 т/га). Новый гибрид эффективнее использовал азот для образования дополнительного количества протеина, содержание которого в зерне увеличилось на 0,93%, что на 0,42% выше, чем у гибрида Машук 355 МВ. Доказана специфическая реакция гибридной комбинации кукурузы на азотное удобрение, что непосредственно связано с особенностями генотипа, полученного по наследству от родительских форм. Отбор исходного материала с высокой отзывчивостью на азотное удобрение и его использование в гибридизации позволили получить гибридную комбинацию Экспериментальный, которая по отзывчивости на азотное удобрение превзошла гибрид Машук 355 МВ. Эти данные послужили основой для оценки исходного материала и его отбора при создании эффективных гибридов кукурузы, отзывчивых на азотное удобрение.

EXPERIMENTAL RESEARCHES ON THE EVALUATION OF HYBRID CORN OF RESPONSE TO NITROGEN FERTILIZER

Bagrintseva V.N., Ivashenko I.N.

*All-Russian Research Scientific Institute of Corn,
357528, Pyatigorsk, ul. Ermolova, 14b
E-mail: maize-techno@mail.ru*

The scientific work is devoted to the question of the responsiveness of corn to nitrogen fertilizer, as a genetically determined trait. To form an idea of responsiveness to nitrogen, a hybrid combination was created that included the basic parental forms, which were distinguished by a high response to nitrogen fertilizer as a result of studies for 2012-2014. As criteria for assessing the response to nitrogen fertilizer, we took the growth of the vegetative part and the mass of the root system of corn plants lines and hybrids in the phase of 5 leaves, height, increase in yield of green mass and grain. During the lines crossing, the hybrid combination Experimental received in 2015-2019 is characterized by a significantly higher increase in the vegetative mass of plants and an intensive increase in the mass of the root system in the phase of 5 leaves against the background of nitrogen fertilizer, the increase was 2.12 and 0.37 g. It was distinguished by a large increase in plant height compared to the standard Mashuk 355 MV (by 4 cm). It was characterized by a significantly high increase in the yield of green mass (by 2.8 t/ha) and in the grain yield (by 0.24 t/ha). The new hybrid was used nitrogen most efficiently for the formation of additional protein; its content increased in grain by 0.93%, which is 0.42% higher than hybrid Mashuk 355 MV had. Based on the results obtained, a specific reaction of the hybrid corn combination to nitrogen fertilizer is proved, which is directly related to the features of the genotype obtained by inheritance from parental forms. The selection of the source material with high responsiveness to nitrogen fertilizer and its use in hybridization allowed us to obtain a hybrid combination Experimental that surpassed hybrid Mashuk 355 MV, which is characterized by high responsiveness to nitrogen fertilizer. The data obtained will allow us to further develop an effective method for evaluating the source material and its selection to create agrochemically efficient corn hybrids.

Ключевые слова: кукуруза, родительские формы, гибрид, азотное удобрение, прирост, прибавка, отзывчивость

Key words: corn, parent forms, hybrid, nitrogen fertilizer, growth, increase, responsiveness

Главную роль в питании кукурузы играют азотные удобрения [1-4]. Исследования показывают, что удобрения оказывают неодинаковое действие на урожай зеленой массы и зерна разных гибридов кукурузы. Э.Л. Климашевским [5, 6] выявлена генотипическая специфика сортов и гибридов кукурузы в отношении степени отзывчивости на азотные удобрения. По его мнению, гетерозис – мощный фактор повышения не только продуктивности растений, но и использования элементов питания из почвы и удобрений.

В настоящее время время научных данных по вопросу наследования признаков отзывчивости на удобрения гено-

типов кукурузы и отбору ценного исходного селекционного материала недостаточно. Цель настоящей работы – создание отзывчивой на азотное удобрение гибридной комбинации кукурузы с использованием изученных ранее и отобранных для скрещиваний родительских форм.

Методика. Исследования проводили на опытном поле Всероссийского научно-исследовательского института кукурузы в 2012-2019 гг. в Ставропольском крае. Объекты исследований – среднеспелый гибрид Машук 355 МВ и созданная нами гибридная комбинация Экспериментальный и их родительские формы: Мая М и Настурция SD – простые гибриды, материнские формы,

Табл. 1. Биомасса одного растения трехлинейных гибридов кукурузы в фазе 5 листьев

Гибрид	Год	Масса вегетативной части 1-го растения, г			Масса корневой системы 1-го растения, г		
		N ₀	N ₆₀	прибавка	N ₀	N ₆₀	прибавка
Машук 355 МВ (стандарт)	2016	5,24	5,62	0,38	1,45	1,58	0,13
	2017	5,09	5,95	0,86	1,23	1,32	0,09
	2018	4,72	6,95	2,23	1,22	1,67	0,45
В среднем		5,02	6,17	1,15	1,30	1,52	0,22
Экспериментальный	2016	4,70	6,67	1,97	1,56	1,88	0,32
	2017	7,58	9,78	2,20	1,67	1,88	0,21
	2018	4,41	6,60	2,19	1,21	1,80	0,59
В среднем		5,56	7,68	2,12	1,48	1,85	0,37
НСР _{0,05} , г			0,81			0,19	
Ошибка опыта, %			3,82			3,64	

линия РП 310 МВ – отцовская форма изучаемых трехлинейных гибридов. Гибриды кукурузы Машук 355 МВ и Мая М использовали в качестве стандартов для сравнения по признаку отзывчивости на азотное удобрение.

В полевом опыте гибриды и самоопыленная линия кукурузы выращивали на двух фонах: I – контроль без удобрения и II – N₆₀. Азотное удобрение в форме аммиачной селитры вносили весной под первую культивацию.

Содержание элементов питания в почве определяли, когда кукуруза была в фазе 5 листьев. В среднем за 8 лет в слое почвы 0-20 см содержание нитратного азота по Грандваль-Ляжу в варианте без удобрения (контроль) составило 19,3, подвижного фосфора по Мачигину – 14, обменного калия по Мачигину – 259 мг/кг почвы, в варианте с удобрением (N₆₀) – соответственно 32,2; 14 и 274 мг/кг.

Предшественником кукурузы была озимая пшеница, высеваемая после сои. Кукурузу сеяли в 2012-2019 гг. 25-29 апреля. На всех делянках опыта в фазе 2-3 листьев формировали густоту стояния растений 60 тыс. шт./га. Для защиты от сорных растений применяли гербициды Мерлин 0,150 кг/га или Аденго 0,5 л/га. Учеты и наблюдения выполняли в соответствии с методикой ВНИИ кукурузы [7]. Статистическая обработка данных осуществлена по методике Б.А. Доспехова [8].

В зоне проведения опыта среднее многолетнее количество осадков за период вегетации кукурузы (май-сентябрь) составляло 343 мм, в том числе в мае – 79, июне – 87, июле – 70, августе – 59, сентябре – 48 мм. Метеорологические условия в годы исследований были различными. Условия увлажнения и температурный режим оказались самыми благоприятными для растений в 2013 и 2016 гг., благоприятными – в 2012 и 2019 гг., относительно благоприятными – в 2014 и 2017 гг., неблагоприятными – в 2015 и 2018 гг.

Результаты и обсуждение. В 2012-2014 гг. изучили 42 образца кукурузы (гибриды и их родительские формы) по признаку отзывчивости на азотное удобрение. Выявлены различия между гибридами и линиями по приросту от удобрения массы корневой системы и вегетативной части растений в фазе 5 листьев, а также прибавке урожая зеленой массы в фазе молочно-восковой спелости и урожая зерна в фазе полной спелости [9, 10]. Определены образцы, восприимчивые и невос-

приимчивые к внесению азотного удобрения. На основании полученных данных сделаны выводы о том, что гибриды, относящиеся к одной группе спелости, по-разному отзываются на азотное удобрение, что связано с их родословной и подтверждает гипотезу о наследовании признака высокой отзывчивости на азот гибридом от исходных родительских форм [11]. Была поставлена задача проверить гипотезу о передаче признака высокой отзывчивости на азотное удобрение от исходных родительских форм. Из исследованных образцов кукурузы подобрали подходящую для скрещивания родительскую пару: материнская форма Настурция SD и отцовская форма РП 310 МВ. При выборе родительских форм для создания гибридной комбинации учитывали признак высокой отзывчивости на азотное удобрение.

Материнскую форму новой гибридной комбинации Настурция SD сравнивали с материнской формой Мая М отзывчивого на азот трехлинейного гибрида Машук 355 МВ, который также взяли за стандарт. Простой гибрид Настурция SD относится к среднеранней группе спелости, а простой гибрид Мая М и трехлинейный гибрид Машук 355 МВ – к среднеспелой группе.

В 2014-2018 гг. провели искусственное опыление простого гибрида Настурция SD самоопыленной линией РП 310 МВ. В результате получили семена трехлинейного гибрида кукурузы (F₁) Экспериментальный. В течение 2015-2019 гг. эта гибридная комбинация проходила испытания по признаку отзывчивости на азотное удобрение в сравнении с гибридом кукурузы Машук 355 МВ, который по результатам наших исследований является высокоотзывчивым на азот [11].

В 2016-2018 гг. провели оценку полученной гибридной комбинации по приросту вегетативной массы и массы корневой системы растений от азотного удобрения в фазе 5 листьев в сравнении с гибридом Машук 355 МВ (табл. 1). В среднем за годы исследований на фоне удобрения N₆₀ вегетативная масса одного растения гибрида Экспериментальный оказалась больше, чем стандарта Машук 355 МВ, на 1,51 г. При этом за счет азотного удобрения прирост вегетативной части одного растения гибрида Экспериментальный был больше, чем гибрида Машук 355 МВ, на 0,97 г.

По данным Э.Л. Климашевского, размер и масса корневой системы, может быть одним из критериев оценки отзывчивости растений на удобрение [5, 12]. В наших исследованиях за счет удобрения интенсивнее проходил процесс нарастания массы корневой системы гибрида Экспериментальный, у которого и масса корневой системы была больше. В среднем за 3 года в фазе 5 листьев масса корневой системы одного растения гибрида Экспериментальный, как и прирост корневой системы на фоне удобрения, были больше, чем у гибрида Машук 355 МВ, соответственно на 0,33 и 0,15 г.

По приросту высоты растений от удобрения гибриды кукурузы значительно различались в годы исследований. Так, высота растений гибрида Машук 355 МВ увеличилась на 3-18 см, гибрида Экспериментальный – на 5-35 см, причем прирост был достоверно значимым в 2015-2017 гг. и существенно ниже в 2018 и 2019 гг., чем в 2015-2017 гг., что связано с погодными условиями. В среднем за 5 лет исследований, несмотря на то, что гибрид Машук 355 МВ более высокорослый, прирост растений от азотного удобрения был меньше, чем у гибрида Экспериментальный, на 4 см (табл. 2).

Урожай зеленой массы в фазе молочно-восковой спелости зерна изучаемых гибридов на фоне N₆₀ существенно не различался и в среднем за все годы составил у гибрида Машук 355 МВ 38,2 т/га, гибрида Экспери-

Табл. 2. Хозяйственно ценные признаки гибридов кукурузы

Гибрид	Год	Высота растений*, см			Урожай зеленой массы**, т/га			Урожай зерна, т/га		
		N ₀	N ₆₀	прирост	N ₀	N ₆₀	прибавка	N ₀	N ₆₀	прибавка
Машук 355 МВ (стандарт)	2015	268	280	12	36,9	41,1	4,2	6,45	6,98	0,53
	2016	243	260	17	33,2	41,6	8,4	7,63	8,69	1,06
	2017	234	252	18	27,1	30,4	3,3	6,40	6,78	0,38
	2018	211	216	5	32,0	39,3	7,3	5,86	6,45	0,59
	2019	232	235	3	34,0	38,7	4,7	8,00	8,25	0,25
В среднем		238	249	11	32,6	38,2	5,6	6,87	7,43	0,56
Экспериментальный	2015	265	276	11	33,3	39,9	6,6	7,04	7,68	0,64
	2016	217	252	35	28,3	39,0	10,7	7,40	8,66	1,26
	2017	236	254	18	24,7	32,5	7,8	6,11	6,78	0,67
	2018	201	206	5	29,9	40,5	10,6	5,77	6,43	0,66
	2019	217	223	6	36,5	42,7	6,2	8,45	9,21	0,76
В среднем		227	242	15	30,5	38,9	8,4	6,95	7,75	0,80
НСР _{0,05} , см, т/га		7			1,8			0,21		
Ошибка опыта, %		0,9			1,6			0,92		

Примечание: * Фаза цветения кукурузы; ** Фаза молочно-восковой спелости зерна кукурузы.

Табл. 3. Содержание (%) протеина в зерне гибридов кукурузы

Доза азота	2015 г.	2016 г.	2017 г.	Среднее	Прибавка (НСР _{0,05} = 0,49%)
Машук 355 МВ					
N ₀	8,15	7,03	7,39	7,52	-
N ₆₀	9,02	7,61	7,46	8,03	0,51
Экспериментальный					
N ₀	8,21	6,93	6,90	7,35	-
N ₆₀	9,15	8,41	7,29	8,28	0,93

ментальный – 38,9 т/га. Анализ изменения урожая зеленой массы этих гибридов при применении азотного удобрения показал его достоверное увеличение. В среднем за 2015-2019 гг. прибавка урожая зеленой массы гибрида Экспериментальный была выше, чем у стандарта, на 2,8 т/га, что существенно.

По урожаю зерна на неудобренном фоне между гибридами не отмечено существенной разницы. В среднем за 5 лет урожайность гибрида Экспериментальный была выше, чем гибрида Машук 355 МВ, на 0,08 т/га. При применении азотного удобрения средний урожай гибрида Экспериментальный оказался существенно выше – на 0,32 т/га. В 2017 и 2019 гг., а также в среднем за 2015-2019 гг. достоверный рост урожая зерна этого гибрида за счет удобрения был выше стандарта на 0,29; 0,51 и 0,24 т/га соответственно.

Известно, что азотные удобрения увеличивают не только урожай зерна кукурузы, но также содержание протеина в зерне [13-15]. По этому показателю можно судить и об отзывчивости на удобрение, так как его накопление во многом зависит от способности растений эффективно использовать азот удобрения. За счет азотного удобрения возрастало содержание протеина в зерне обоих гибридов кукурузы. Однако в зерне гибрида

Экспериментальный в среднем за 3 года оно увеличилось значительно: прибавка протеина была на 0,42% больше, чем у стандарта Машук 355 МВ (табл. 3).

Таким образом, специфическая реакция гибрида кукурузы Экспериментальный на азотное удобрение непосредственно связана с особенностями генотипа, полученного по наследству от родительских форм. По отзывчивости на азот он превзошел гибрид Машук 355 МВ. У гибрида Экспериментальный была значительно выше вегетативная и корневая масса одного растения в фазе 5 листьев (на 0,97 и 0,15 г), урожай зеленой массы (на 2,8 т/га) и зерна (на 0,24 т/га), а также особенно существенно – содержание протеина в зерне (на 0,42%).

Литература.

1. Агафонов Е.В., Батаков А.А. Система удобрения гибридов кукурузы разного срока созревания на темно-каштановой почве Ростовской области // *Агрехимия*. – 2000. – N 11. – С. 41-50.
2. Агеев В.В., Подколзин А.И. Система удобрения в севооборотах Юга России. – Ставрополь, 2001. – С. 191-201.
3. Belay A., Claassens A., Wehner F. Effect of direct nitrogen and potassium and residual phosphorus fertilizers on soil chemical properties, microbial components and maize yield under long-term crop rotation // *Biology and Fertility of Soils*. – 2002. – N 6. – P. 420-427.
4. Tremblay N., Bouroubi Y. M., Bélec C., Mullen R.W., Kitchen N.R., Thomason W.E., Ebelhar S., Mengel D.B., Raun W.R., Francis D.D., Vories E.D., and Ortiz-Monasterio I. Corn Response to Nitrogen is Influenced by Soil Texture and Weather // *Soil Fertility and Crop Nutrition*. – 2012. – V. 104. – P. 1658-1671.
5. Климашевский Э.Л. Теория агрохимической эффективности растений. – *Агрехимия*. – 1990. – N 1. – С. 131-148.
6. Климашевский Э.Л. Генетический аспект минерального питания растений. – М.: Агропромиздат, 1991. – 415 с.

7. Методические рекомендации по проведению полевых опытов с кукурузой: ВНИИ кукурузы ВАСХ-НИЛ. – Днепропетровск, 1980 – 54 с.
8. Доспехов Б.А. Методика полевого опыта. – М.: Колос, 1979. – 416 с.
9. Багринцева В.Н., Ивашенко И.Н. Особенности развития самоопыленных линий кукурузы при внесении азотного удобрения // Кукуруза и сорго. – 2015. – N 2. – С. 22-30.
10. Багринцева В.Н., Ивашенко И.Н. Отзывчивость на азотное удобрение современных гибридов кукурузы в условиях Ставропольского края // Агрохимия. – 2015. – N 11. – С. 45-50.
11. Багринцева В.Н., Ивашенко И.Н. Отзывчивость гибридов кукурузы и их родительских форм на азотное удобрение // Российская сельскохозяйственная наука. – 2017. – N 4. – С. 17-21.
12. Климашевский Э.Л. Физиологические особенности питания разных сортов кукурузы. – М.: Наука, 1966. – 152 с.
13. Дьячков В.Ф. Действие удобрений на химический состав гибридов кукурузы различной скороспелости: Сб. научн. тр. Воронеж. СХИ. – Воронеж, 1975. – Т. 72. – С. 89-92.
14. Ивашенко И.Н., Багринцева В.Н. Роль азотного удобрения в повышении урожая и кормовой ценности зерна гибридов кукурузы // Животноводство и кормопроизводство. – 2018. – N 2(101). – С. 168-175.
15. Oikeh S.O., Kling J.G., Okoruwa A.E. Nitrogen Fertilizer Management Effects on Maize Grain Quality in the West African Moist Savanna // Crop Science. – 1998. – №4(38). – P. 1056-1161.

Поступила в редакцию 15.05.20

После доработки 10.06.20

Принята к публикации 15.06.20

Защита растений

УДК 632.4:633.1

DOI:10.31857/S2500262720060058

СОВМЕСТНАЯ ВСТРЕЧАЕМОСТЬ МЕТАБОЛИТОВ ГРИБОВ *Alternaria* И *Fusarium*, АССОЦИИРОВАННЫХ С ЗЕРНОВЫМИ КУЛЬТУРАМИ*О.П. Гаврилова¹, А.С. Орина¹, кандидаты биологических наук,
Н.Н. Гогина², кандидат сельскохозяйственных наук, Т.Ю. Гагкаева¹, кандидат биологических наук¹Всероссийский научно-исследовательский институт защиты растений,
196608, Санкт-Петербург – Пушкин, ш. Подбельского, 3²Всероссийский научно-исследовательский и технологический институт птицеводства,
141311, Московская область, Сергиев Посад, ул. Птицеградская, 10
E-mail: t.gagkaeva@mail.ru

Проведен анализ встречаемости грибов *Alternaria* и *Fusarium* в зерне пшеницы и ячменя из Уральского региона России. Методом количественной полимеразной цепной реакции выявлено содержание ДНК грибов, доминирующих в микобиоте зерна и относящихся к двум секциям рода *Alternaria* и четырем видам рода *Fusarium*. Отмечены различия по встречаемости и обилию биомассы грибов в зерне двух культур: содержание ДНК грибов *Alternaria* секции *Infectoriae*, а также *F. graminearum* и *F. sporotrichioides* в зерне пшеницы достоверно выше, чем в зерне ячменя. ДНК грибов *F. avenaceum* и *F. poae* чаще выявляли в зерне ячменя. Приведены данные, полученные методом ВЭЖХ-МС/МС, о контаминации зерна вторичными метаболитами анализируемых грибов. Преобладание микотоксинов грибов в зерне пшеницы было выше – 13, чем в ячмене – 8. Из 23 проанализированных вторичных метаболитов чаще выявляли тентоксин, теназуоновую кислоту, НТ-2 токсин и боверицин. Установлены положительные связи между грибами *Alternaria* и *Fusarium* и их метаболитами, что указывает на приспособленность этих организмов друг к другу в зерновом биоценозе.

CO-OCCURRENCE OF THE METABOLITES OF *Alternaria* AND *Fusarium* FUNGI ASSOCIATED WITH SMALL-GRAIN CEREALSGavrilova O.P.¹, Orina A.S.¹, Gogina N.N.², Gagkaeva T.Yu.¹¹All-Russian Institute of Plant Protection,
196608, Sankt-Peterburg – Pushkin, sh. Podbelskogo, 3²All-Russian Research and Technological Institute of Poultry,
141311, Moskovskaya oblast, Sergiev Posad, Ptitsegradskaya ul., 10
E-mail: t.gagkaeva@mail.ru

The analysis of occurrence of *Alternaria* and *Fusarium* fungi in wheat and barley grain obtained from the Ural Region was carried out. The DNA content of fungi belonging to two sections of the genus *Alternaria*, and four species of the genus *Fusarium*, which are prevailing in the grain mycobiota, was analyzed by quantitative PCR. Differences in the occurrence and abundance of fungal biomass in the grain of different cereals were revealed. The DNA content of *Alternaria* fungi of the *Infectoriae* section, as well as *F. graminearum* and *F. sporotrichioides* in wheat grain was significantly higher than in barley grain. On the contrary, the DNA of *F. avenaceum* and DNA of *F. poae* were more often detected in barley grain. The current information obtained by the HPLC-MS/MS method on grain contamination with mycotoxins that revealed data on both regulated and emerging toxic metabolites was presented. The diversity of fungal secondary metabolites in wheat grain was 13 and higher, than in barley – 8. Of the 23 analyzed mycotoxins, tentoxin, tenuazonic acid, HT-2 toxin, and beauvericin were detected more often than others. Statistically significant positive correlations between *Alternaria* and *Fusarium* fungi and their mycotoxins, which indicate the mutual adaptation of these organisms to each other in the grain biocenosis were established.

Ключевые слова: зерно, микромицеты, взаимодействие, количественная ПЦР, вторичные метаболиты, ВЭЖХ-МС/МС

Key words: grain, micromycetes, interaction, quantitative PCR, secondary metabolites, HPLC-MS/MS

Разнообразие микромицетов, ассоциированных с зерновыми культурами, является темой многочисленных исследований и дискуссий. Особое внимание привлекают грибы, образующие токсичные для теплокровных организмов вторичные метаболиты – микотоксины. К наиболее распространенным видам на зерновых культурах в России относятся *Alternaria tenuissima* (Kunze) Wiltshire [1], а также *Fusarium avenaceum* (Fr.) Sacc., *F. sporotrichioides* Sherb. и *F. poae* (Peck) Wollenw. [2, 3]. Известно, что грибы имеют четко выраженный видоспецифичный характер токсинообразования [4, 5], однако реализация их токсигенного потенциала связана с адаптацией организмов к конкретным условиям обитания. У грибов часто не совпадают факторы, благоприятные для их оптимального роста и продуцирования микотоксинов [6].

Грибы рода *Alternaria* являются продуцентами раз-

личных вторичных метаболитов, среди которых к наиболее распространенным в зерне относятся микотоксины альтернариол (АОЛ), его монометилловый эфир (АМЭ), тентоксин (ТЕН) и теназуоновая кислота (ТК) [7, 8]. Грибы рода *Fusarium* образуют трихотеценовые микотоксины группы А (Т-2 и НТ-2 токсины, Т-2 триол, неосоланиол (НЕО), диацетоксисцирпенол (ДАС)) и группы Б (дезоксиниваленон (ДОН) и его ацетилированные производные (3-ацетатДОН, 15-ацетатДОН), ДОН-3-глюкозид), ниваленон (НИВ) и его ацетилированное производное фузаренон-Х (4-ацетил-НИВ), а также зеараленон (ЗЕН) и его производные (α- и β-зеараленолы), фумонизины (ФУМ), монилиформин (МОН), боверицин (БОВ) [9].

В России согласно техническим регламентам таможенного союза 015/2011 “О безопасности зерна” и 021/2011 “О безопасности пищевой продукции” уста-

* Работа выполнена при поддержке Российского научного фонда (проект № 19-76-30005).

новлены предельно допустимые количества (ПДК) для микотоксинов, образуемых грибами рода *Fusarium*: 100 мкг/кг для Т-2 токсина, 700-1000 мкг/кг для ДОН, 200-1000 мкг/кг для ЗЕН и 200-5000 мкг/кг для фумонизинов, в зависимости от вида зерновой продукции и ее целевого назначения. В то же время количество микотоксинов грибов рода *Alternaria* в зерне не регламентировано. Недавно опубликованы сведения о присутствии значительных количеств микотоксинов, образуемых грибами *Fusarium* и *Alternaria* в российском зерне [10].

Ранее исследования состава микобиоты зерна проводили только по морфологическим признакам грибов. С развитием молекулярных исследований появилась возможность количественного выявления в зерне биомассы разных видов грибов по содержанию продуктов их первичного метаболизма – ДНК [11]. В последние годы метод количественной полимеразной цепной реакции – кПЦР начали применять в мониторинговых исследованиях распространения токсинопродуцирующих грибов, проводимых на территории нашей страны [3, 12]. В то же время применение высокоэффективной жидкостной хроматографии в сочетании с масс-спектрометрией (ВЭЖХ-МС/МС) позволяет получить точные количественные данные о широком разнообразии вторичных метаболитов, продуцируемых разными видами грибов [13].

Целью нашей работы было выявление содержания ДНК грибов *Alternaria* и *Fusarium*, а также спектра их вторичных метаболитов в зерне пшеницы и ячменя, выращенных в Уральском регионе, и установление связей между этими грибами в сходных условиях обитания.

Методика. Материалом для исследований служили 36 образцов зерна пшеницы и 15 – зерна ячменя, выращенных в 2017-2018 гг. в четырех областях Зауралья: Курганской, Свердловской, Тюменской и Челябинской. Зерно каждого образца (20 г) размалывали на мельнице Tube Mill Control (ИКА, Германия). Выделение ДНК из муки проводили с помощью набора Genomic DNA Purification Kit (Thermo Fisher Scientific, Литва).

Содержание ДНК грибов секций *Alternaria* и *Infectoriae* рода *Alternaria* и вида *F. sporotrichioides* выявляли методом кПЦР с красителем SYBR Green [4, 14]. Количество ДНК трех других видов *Fusarium* оценивали с помощью кПЦР с пробями TaqMan [4, 15, 16]. Количество ДНК грибов выражали в виде доли от общей ДНК, выделенной из зерновой муки (пг/нг общей ДНК, сокращенно – пг/нг) с нижним пределом обнаружения 5×10^{-4} пг/нг общей ДНК.

Получение экстракта вторичных метаболитов грибов из зерновой муки и его хроматографическое разделение проводили по описанной методике [3, 13]. Методом ВЭЖХ-МС/МС анализировали содержание четырех микотоксинов, образуемых грибами *Alternaria*, и 19 микотоксинов, образуемых грибами *Fusarium*.

Результаты и обсуждение. Пшеницу и ячмень в Уральском регионе возделывают на больших площадях, поэтому выявление ассоциированных с ними грибов и микотоксинов имеет большое научное и практическое значение. Установлена 100%-ная встречаемость в зерне пшеницы и ячменя грибов рода *Alternaria*, относящихся к видам секций *Alternaria* – содержание их ДНК составило $(497-5568) \times 10^{-4}$ пг/нг и *Infectoriae* – $(26-3616) \times 10^{-4}$ пг/нг (рис.1). Различий по содержанию биомассы грибов *Alternaria* секции *Alternaria* в зерне пшеницы и ячменя не выявлено, в то же время содержание ДНК представителей секции *Infectoriae* в зерне ячменя было достоверно выше, чем в зерне пшеницы.

Грибы рода *Alternaria* в зерновых биоценозах доминируют, выполняя, вероятно, функцию средообра-

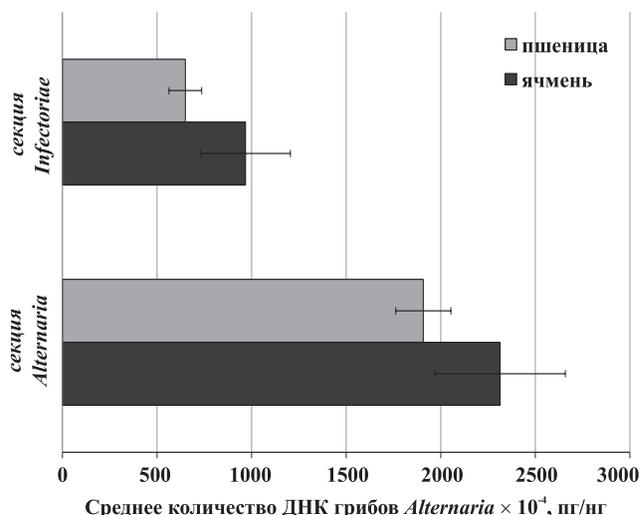


Рис. 1. Содержание биомассы грибов *Alternaria* в зерне пшеницы и ячменя из Уральского региона. Отрезками указан доверительный интервал.

зователей для остальных представителей микобиоты. Численность и биомасса альтерналиевых грибов, как правило, значительно выше, чем всех других членов грибного сообщества.

Анализ зараженности зерна фузариевыми грибами с помощью кПЦР подтвердил недавно полученные нами результаты [3] о доминировании в зерне из Уральского региона видов *F. sporotrichioides*, *F. poae* и *F. avenaceum* (рис. 2). В 19% образцов пшеницы и 13% образцов ячменя ДНК фузариевых грибов не была выявлена, а в зерне 44% образцов пшеницы и 33% – ячменя определена ДНК только одного вида *Fusarium*. ДНК всех четырех анализируемых видов *Fusarium* выявлена в зерне лишь двух образцов пшеницы и одного ячменя. Содержание ДНК грибов *F. sporotrichioides* варьировало в диапазоне $(6-379) \times 10^{-4}$ пг/нг, *F. graminearum* – $(6-2160) \times 10^{-4}$ пг/нг, которые чаще обнаруживались в зерне пшеницы (в 39 и 28% образцов соответственно), чем ячменя (20% в обоих случаях).

Содержание ДНК *F. avenaceum* в зерне варьировало в диапазоне $(5-377) \times 10^{-4}$ пг/нг, *F. poae* – $(5-681) \times 10^{-4}$ пг/нг. Эти виды *Fusarium* чаще выявляли в зерне ячменя: ДНК *F. avenaceum* обнаружена в 47% образцов, а ДНК *F. poae* – в 73%, тогда как в зерне пшеницы эти грибы были в 33% образцов. Среднее количество ДНК *F. avenaceum* и особенно *F. poae* в зерне ячменя также оказалось выше, чем в пшенице. Между количеством ДНК *F. avenaceum* и *F. poae* отмечена достоверная положительная связь ($r=0,45$). Вероятно, эти виды грибов характеризуются сходными экологическими требованиями.

Содержание вторичных токсичных метаболитов, продуцируемых грибами *Alternaria* и *Fusarium*, значительно варьировало (табл.). Микотоксины грибов *Alternaria* не выявлены только в двух образцах зерна ячменя. Вторичные метаболиты грибов *Fusarium* не обнаружены в 28% образцов зерна пшеницы и 20% образцов ячменя.

Одновременно все четыре вторичных метаболита грибов рода *Alternaria* (АОЛ, АМЭ, ТЕН и ТК) обнаружены в 9,8% образцов. Содержание ТЕН в зерне варьировало от 3 до 80 мкг/кг, диапазон количества ТК составил 15-593 мкг/кг. АОЛ и АМЭ выявляли реже и в более низких количествах – до 26 и 5 мкг/кг, соответственно.

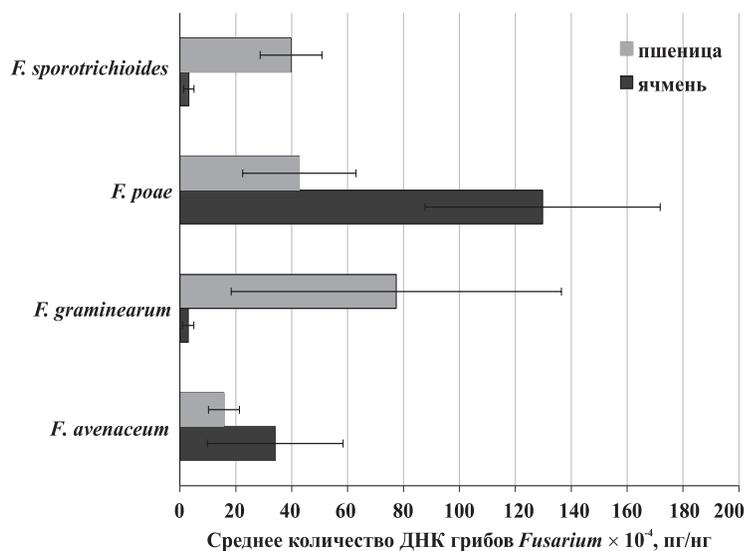


Рис. 2. Содержание биомассы грибов *Fusarium* в зерне пшеницы и ячменя из Уральского региона. Отрезками указан доверительный интервал среднего.

Установлено, что АОЛ и АМЭ встречались в зерне пшеницы и ячменя в равной степени, в то время как ТЕН и ТК чаще в зерне пшеницы, чем ячменя. Выявлена достоверная связь между количеством ТЕН и ТК в зерне ($r=0,60$), а также между количеством АОЛ и АМЭ ($r=0,75$), что отмечалось ранее [17] и может указывать на их неспецифичное совместное продуцирование.

От одного до семи совместно встречающихся вторичных метаболитов, продуцируемых грибами рода *Fusarium*, выявлено в образцах. К редко встречающимся в зерне микотоксинам (в нашем исследовании обнаруженным не более чем в 7% всех образцов) были отнесены трихотеценовые микотоксины: ДАС (5 мкг/кг), НЕО (3 и 15 мкг/кг), 3-АцДОН (29 мкг/кг), 15-АцДОН и ДОН-3-глюкозид (21-34 мкг/кг), а также ЗЕН (2 мкг/кг). Из 19 проанализированных фузариотоксинов в образцах зерна не выявлено фумонизинов, фузаренона-Х, α - и β -зеараленолов. В зерне пшеницы спектр микотоксинов, продуцируемых грибами *Fusarium*, достигал 13 метаболитов, тогда как в зерне ячменя их разнообразие было ниже – 8 микотоксинов. Наиболее часто встречающимся микотоксином в зерне обеих культур был НТ-2 токсин.

Установлены достоверные положительные связи между содержанием ДНК видов грибов *Fusarium* в зерне и количеством их микотоксинов: между количеством ДНК *F. avenaceum* и МОН ($r=0,66$), а также между количеством ДНК *F. poae* и НИВ ($r=0,75$). Предположительно, НИВ играет важную роль в патогенезе *F. poae* [18]. Количество редко анализируемого метаболита БОВ также было достоверно связано с содержанием ДНК *F. poae* ($r=0,80$). В нашей работе БОВ обнаружен в 31% образцов с максимальным содержанием 49 мкг/

кг в зерне пшеницы, что согласуется с информацией о контаминации этим микотоксином зерна в странах Скандинавии [10].

Между количеством ДНК *F. sporotrichioides* и продуцируемыми им микотоксинами (Т-2 и НТ-2 токсины, Т-2 триол, НЕО) в зерне также выявлена положительная достоверная связь (r – от 0,74 до 0,93). Высокая положительная связь между содержанием Т-2 и НТ-2 токсинов ($r=0,93$) подтверждает частую одновременную контаминацию ими зерна. При попадании в организм животного или человека Т-2 токсин в результате щелочного гидролиза быстро метаболизируется в не менее токсичный НТ-2 токсин, поэтому опасность этих микотоксинов считается одинаковой [19]. В нашей работе единственное превышение ПДК Т-2 токсина, но более чем в 26 раз, выявлено в зерне ячменя из Челябинской области. В то же время количество НТ-2 токсина выше 100 мкг/кг обнаруживали чаще – в зерне трех образцов пшеницы и двух образцов ячменя.

Результаты нашего исследования подтверждают массовое появление одного из наиболее агрессивных патогенов зерновых культур *F. graminearum* на территории Уральского региона, а также высокие риски, связанные с контаминацией зерна продуцируемыми этим грибом ДОН и ЗЕН, что согласуется с ранее полученной информацией [14]. Корреляционный анализ выявил достоверную положительную связь между количеством ДНК *F. graminearum* и ДОН ($r = 0,61$), а также ЗЕН ($r = 0,99$).

Совместная встречаемость различных грибов на зерне может приводить к его загрязнению широким спектром метаболитов. В нашем исследовании 96% проанализированных образцов содержали более одного микотоксина. Совместная встречаемость четырех микотоксинов: ТЕН и ТК, образуемых грибами *Alternaria*, с НТ-2 токсином и БОВ, продуцируемых грибами *Fusarium*, выявлена чаще других комбинаций (в 24% образцов).

Негативный эффект присутствия в зерне метаболитов грибов *Alternaria* на его зараженность грибами *Fusarium* не определен, что указывает на приспособленность этих организмов друг к другу в биоценозе. Более того, обнаружена слабая положительная связь между содержанием ДНК грибов *Alternaria* секции *Alternaria* и ДНК *F. avenaceum* ($r=0,27$), подтверждающая наблюдение о том, что обилие данных видов увеличивается прямо пропорционально [6, 20]. Вероятно, это пример симбиотических взаимоотношений между представителями двух групп грибов в зерне, что ранее уже отмечено при исследовании микобиоты овса [16]. Также выявлена положительная связь содержания ДНК *F. graminearum* с микотоксинами грибов *Alternaria* – АОЛ и АМЭ ($r = 0,46$ и $r = 0,29$), но не с ДНК представителей *Alternaria*. Содержание АОЛ в зерне положительно коррелировало с содержанием микотоксинов

Содержание вторичных метаболитов грибов *Alternaria* и *Fusarium* в образцах зерна пшеницы и ячменя из Уральского региона

Культура (число образцов)	Доля загрязненных микотоксинами образцов, % / количественный диапазон микотоксинов, мкг/кг										
	АОЛ	АМЭ	ТЕН	ТК	НТ-2 токсин	Т-2 токсин	Т-2 триол	НИВ	ДОН	МОН	БОВ
Пшеница (36)	22/ 2-19	8/ 3-5	100/ 3-80	94/ 15-593	53/ 8-152	14/ 9-66	6/ 6; 12	11/ 8-120	31/ 7-414	11/ 23-112	25/ 3-49
Ячмень (15)	20/ 3-26	13/ 5; 5	80/ 5-28	53/ 43-177	60/ 6-481	40/ 6-2652	20/ 22-60	27/ 10-194	20/ 18-44	13/ 7; 50	47/ 5-31

F. graminearum – ДОН ($r=0,28$) и ЗЕН ($r=0,47$). Ранее установлено, что при совместном выращивании различных штаммов *F. graminearum* и *A. alternata* в жидкой среде *in vitro* между ними наблюдается конкурентное взаимодействие: замедляется рост *A. alternata*, но при этом снижается количество ДОН и повышается количество ЗЕН, образуемых *F. graminearum* [21]. В другом исследовании показано, что предварительная обработка зерна пшеницы АОЛ приводит к усилению роста *F. graminearum*. В то же время скорость колонизации зерна грибом *A. tenuissima* и количество образуемых им АОЛ и АМЭ существенно увеличивались, если зерно предварительно обрабатывали микотоксинами ДОН или ЗЕН [22].

Таким образом, продуцирование вторичных метаболитов позволяет основным представителям микобиоты зерновых культур не только адаптироваться к условиям среды, но и взаимодействовать с другими участниками биоценоза, определяя качество получаемого зерна.

Авторы благодарят сотрудников компаний ООО «Сингента» и АО «Байер» за предоставленные образцы зерна.

Литература

1. Торопова Е.Ю., Кириченко А.А., Казакова О.А. и др. Альтернариоз зерна яровой пшеницы и ячменя в Западной Сибири и Восточном Зауралье // *Защита и карантин растений*. – 2015. – N 1. – С. 20–22.
2. Пирязева Е.А., Кононенко Г.П., Буркин А.А. Пораженность грубых кормов токсинообразующими грибами рода *Fusarium* // *Сельскохозяйственная биология*. – 2016. – Т. 51. – N 6. – С. 937–945. doi:10.15389/agrobiology.2016.6.937rus
3. Gagkaeva T., Gavrilova O., Orina A., Lebedin Y., Shanin I., Petukhov P., Eremin S. Analysis of toxigenic *Fusarium* species associated with wheat grain from three regions of Russia: Volga, Ural, and West Siberia // *Toxins*. – 2019. – V. 11. – N 5. – P. 252. doi:10.3390/toxins11050252
4. Frisvad J.C., Andersen B., Thrane U. The use of secondary metabolite profiling in chemotaxonomy of filamentous fungi // *Mycol. Res.* – 2008. – V. 112. – P. 231–240. doi:10.1016/j.mycres.2007.08.018
5. Zwickel T., Kahl S.M., Rychlik M., Müller M.E.H. Chemotaxonomy of mycotoxigenic small-spored *Alternaria* fungi – do multitoxin mixtures act as an indicator for species differentiation? // *Front. Microbiol.* 2018. – V. 9. – P. 1368. doi:10.3389/fmicb.2018.01368
6. Magan N., Medina A., Aldred D. Possible climate-change effects on mycotoxin contamination of food crops pre- and postharvest // *Plant Pathol.* – 2011. – V. 60. – N 1. – P. 150–163. doi:10.1111/j.1365-3059.2010.02412.x
7. Fraeyman S., Croubels S., Devreese M., Antonissen G. Emerging *Fusarium* and *Alternaria* mycotoxins: occurrence, toxicity and toxicokinetics // *Toxins*. – 2017. – V. 9. – N 7. – E228. doi:10.3390/toxins9070228
8. Tralamazza S.M., Piacentini K.C., Iwase C.H.T., de Oliveira Rocha L. Toxigenic *Alternaria* species: impact in cereals worldwide // *Curr. Opin. Food Sci.* – 2018. – V. 23. – P. 57. doi:10.1016/j.cofs.2018.05.002
9. D’Mello J.P.F., Placinta C.M., Macdonald A.M.C. *Fusarium* mycotoxins: a review of global implications for animal health, welfare and productivity // *Anim. Feed Sci. Technol.* – 1999. – V. 80. – P. 183–205. doi:10.1016/S0377-8401(99)00059-0
10. Кононенко Г.П., Буркин А.А., Зотова Е.В. Микотоксикологический мониторинг. Сообщение 2. Зерно пшеницы, ячменя, овса, кукурузы // *Ветеринария сегодня*. – 2020. – Т. 2. – N 33. – С. 139–145. doi:10.29326/2304-196X-2020-2-33-139-145.
11. Yli-Mattila T., Paavanen-Huhtala S., Jestoi M., Parikka P., Hietaniemi V., Gagkaeva T., Sarlin T., Haikara A., Laaksonen S., Rizzo A. Real-time PCR detection and quantification of *Fusarium poae*, *F. graminearum*, *F. sporotrichioides* and *F. langsethiae* in cereal grains in Finland and Russia // *Arch. Phytopathol. Pflanzenschutz*. – 2008. – V. 41. – N 4. – P. 243–260. doi:10.1080/03235400600680659
12. Каракотов С.Д., Аришава Н.В., Баикатова М.Б. Мониторинг и контроль заболеваний пшеницы в Южном Зауралье // *Защита и карантин растений*. – 2019. – N 7. – С. 18–25.
13. Malachová A., Sulyok M., Beltrán E., Berthiller F., Krska R. Optimization and validation of a quantitative liquid chromatography–tandem mass spectrometric method covering 295 bacterial and fungal metabolites including all regulated mycotoxins in four model food matrices // *J. Chromatogr. A*. – 2014. – V. 1362. – P. 145–156. doi:10.1016/j.chroma.2014.08.037
14. Орина А.С., Гаврилова О.П., Гагкаяева Т.Ю., Ганнибал Ф.Б. Микромикеты *Alternaria* spp. и *Bipolaris sorokiniana* и микотоксины в зерне, выращенном в Уральском федеральном округе // *Микология и фитопатология*. 2020 – Т. 54. – N 5. – С. 365–377. doi:10.31857/S0026364820050086
15. Yli-Mattila T., Paavanen-Huhtala S., Parikka P., Jestoi M., Klemsdal S.S., Rizzo A. Genetic variation, real-time PCR, metabolites and mycotoxins of *Fusarium avenaceum* and related species // *Mycotox. Res.* – 2006. – V. 22. – P. 79–86. doi:10.1007/BF02956768
16. Орина А.С., Гаврилова О.П., Гагкаяева Т.Ю., Лоскутов И.Г. Симбиотические взаимоотношения грибов рода *Fusarium* и *Alternaria*, колонизирующих зерно овса // *Сельскохозяйственная биология*. – 2017. – Т. 52. – N 5. – С. 986–994. doi: 10.15389/agrobiology.2017.5.986rus
17. Xu W., Xiaomin H., Li F., Zhang L. Natural occurrence of *Alternaria* toxins in the 2015 wheat from Anhui province, China // *Toxins*. – 2016. – V. 8. – P. 308. doi:10.3390/toxins8110308
18. Vogelgsang S., Sulyok M., Hecker A., Jenny E., Krska R., Schuhmacher R., Forrer H.R. Toxigenicity and pathogenicity of *Fusarium poae* and *Fusarium avenaceum* on wheat // *Eur. J. Plant Pathol.* – 2008. – V. 122. – P. 265–276. doi:10.1007/s10658-008-9279-0
19. Schuhmacher-Wolz U., Heine K., Schneider K. Report on toxicity data on trichothecene mycotoxins HT-2 and T-2 toxins // *EFSA Suppl. Publ.* – 2010. – V. 7. – EN-65. doi:10.2903/sp.efsa.2010.EN-65
20. Kosiak B., Torp M., Skjerve E., Andersen B. *Alternaria* and *Fusarium* in Norwegian grains of reduced quality – a matched pair sample study // *Int. J. Food Microbiol.* – 2004. – V. 93. – N 1. – P. 51–62. doi:10.1016/j.ijfoodmicro.2003.10.006
21. Süss V., Milles J., Kraemer J., Prange A. Competitive interactions of *Fusarium graminearum* and *Alternaria alternata* in vitro in relation to deoxynivalenol and zearalenone production // *J. Food Agric. Environ.* 2007. – N 1. – P. 257–261. doi:10.1234/4.2007.771.
22. Müller M.E., Urban K., Köppen R., Siegel D., Korn U., Koch M. Mycotoxins as antagonistic or supporting agents in the interaction between phytopathogenic *Fusarium* and *Alternaria* fungi // *World Mycotoxin J.* – 2015. – V. 8. – P. 311–321. doi:10.3920/WMJ2014.1747

Поступила в редакцию 20.10.20
Принята к публикации 09.11.20

Экология

УДК 579

DOI: 10.31857/S250026272006006X

**ВЛИЯНИЕ ИНОКУЛЯЦИИ КОРНЕВОЙ СИСТЕМЫ ЭНДОФИТОМ
Cylindrocarpon magnusianum НА ПОКАЗАТЕЛИ РАСТЕНИЙ ПРИ ВОЗДЕЙСТВИИ
СОЛЕЙ ТЯЖЕЛЫХ МЕТАЛЛОВ ***

**И.Л. Бухарина, доктор биологических наук,
Н.А. Исламова, аспирант, М.А. Лебедева**

*Удмуртский государственный университет,
426034, Ижевск, ул. Университетская, 1
E-mail: buharin@udmlink.ru*

*Изучено влияние инокуляции эндотрофным микромицетом *Cylindrocarpon magnusianum* на физиолого-биохимические показатели тестовых растений томата при действии солей тяжелых металлов. Схема экспериментов включала инокуляцию культурой гриба (контрольная популяция) и популяциями этого гриба, предварительно адаптированными к действию стрессового фактора. Затем инокулированные растения выращивали в контрольных условиях и на субстратах с внесением разных концентраций солей цинка, меди, свинца и хрома. Стимулирующего эффекта, повышающего устойчивость растений к действию солей тяжелых металлов, при инокуляции растений контрольной популяцией гриба *C. magnusianum* не выявлено. При использовании небиогенных химических элементов адаптивные реакции растений, связанные с содержанием фотосинтетических пигментов в листьях и формированием биомассы растений, значительно проявились при инокуляции растений адаптированными популяциями гриба *C. magnusianum* и при дальнейшем культивировании растений на субстратах с внесением солей хрома и свинца. При этих условиях отмечено более интенсивное развитие грибной инфекции в корнях растений в отличие от использования контрольной популяции гриба, что свидетельствует о наиболее эффективном партнерстве гриба *C. magnusianum* и корневой системы растений в условиях экстремальных для жизнедеятельности растений.*

**THE EFFECT OF INOCULATION OF THE ROOT SYSTEM
OF PLANTS WITH ENDOPHYTE *Cylindrocarpon magnusianum*
ON PLANT PERFORMANCE WHEN EXPOSED
TO HEAVY METAL SALTS**

Bukharina I.L., Islamova N.A., Lebedeva M.A.

*Udmurt State University,
426034, Izhevsk, ul. Universitetskaya, 1
E-mail: buharin@udmlink.ru*

*The effect of inoculation with endotrophic micromycete *Cylindrocarpon magnusianum* on the physiological and biochemical parameters of test tomato plants under the action of heavy metal salts (TM) was studied. The experimental scheme included inoculation of a mushroom culture (control population) and populations of this mushroom, previously adapted to the action of a stress factor. Then inoculated plants were grown under control conditions and on substrates with different concentrations of heavy metal salts (zinc, copper, lead and chromium). A stimulating effect that increases the resistance of plants to the action of TM salts was not detected during inoculation of plants by the control population of the fungus *C. magnusianum*. When using non-biogenic chemical elements, adaptive plant reactions associated with the content of photosynthetic pigments in leaves and the formation of plant biomass were significantly manifested during inoculation of plants by adapted populations of the fungus *C. magnusianum* and during further cultivation of plants on substrates with the addition of chromium and lead salts. Under these conditions, a more intensive development of fungal infection in plant roots was observed, in contrast to the use of a control population of the fungus. These facts indicate the most effective partnership of the fungus *C. magnusianum* and the root system of plants in conditions that are extreme for plant life.*

Ключевые слова: *Cylindrocarpon magnusianum*, микромицеты, тяжелые металлы, инокуляция, биохимические показатели

Key words: *Cylindrocarpon magnusianum*, fungi, heavy metals, inoculation, biochemical indices

В настоящее время в научном сообществе повысился интерес к изучению роли консортивных связей растений с корневыми микромицетами. Определенные успехи достигнуты в изучении роли эндомикоризы и ее самой распространенной формы – арбускулярной микоризы (АМ), которая характерна для большинства современных филогенетических групп растений и представлена во всех биоммах земного шара [1]. Она формируется грибами, принадлежащими подотделу *Glomeromycotina* отдела *Mycoromycota* [2]. Но использование АМГ в растениеводстве ограничено, что является следствием их облигатной симбиотрофии [3]. В

связи с этим важно изучить роль других групп корневых микромицетов – эндофитов и их отдельных представителей в формировании механизмов устойчивости у высших растений.

Исторически были выделены две группы эндофитов (*Clavicipitaceus* (C) и *Nonclavicipitaceus* (NC)) на основе филогении и признаков жизненного цикла [4, 5]. В целом эта разнородная группа грибов может оказывать сильное воздействие на растительные сообщества посредством обеспечения устойчивости растений к абиотическому и биотическому стрессу. Особый интерес представляют исследования роли эндофитов

*Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ «Аспирант» №19-316-90003.

в формировании металлрезистентности растений, включая сельскохозяйственные культуры [4-8], причем в отношении особо опасных для растений химических элементов [9-13]. Ряд работ направлен на изучение возможности применения микромицетов в качестве гербицидов [14-17].

Один из перспективных микромицетов – эндофит *Cylindrocarpon magnusianum* Wollenw. [18-22]. Его метаболиты могут быть использованы в борьбе с нематодами [19], он способен расти в условиях высокого содержания нефтепродуктов в почве [18, 19]. В серии авторских экспериментов, проведенных с *C. magnusianum*, установлено, что культура этого гриба способна выдерживать действие высокого осмотического давления, сохраняя рост культурального мицелия. Опыты с инокулированными данным грибом растениями показали возможность его использования в качестве агента повышения солеустойчивости и термостойкости растений [20-22].

Целью нашей работы было изучение влияния инокуляции культурой гриба *C. magnusianum* на формирование адаптивных реакций растений к действию солей тяжелых металлов в субстрате (на примере тестовой культуры томата *Solanum lycopersicum*).

Методика. Культура *C. magnusianum* выделена из корневой системы древесных растений (*Acer negundo* L. хорошего жизненного состояния), длительно произрастающих в условиях городских почв с высоким содержанием солей тяжелых металлов (примагистральные посадки, санитарно-защитная зона предприятия «Ижсталь» г. Ижевска, Удмуртия). Гриб культивировали на питательной среде вне корневой системы растений. Его видовая принадлежность установлена методами микроскопирования и молекулярного анализа ДНК в лаборатории Лейбницкого института овощных и декоративных культур (г. Берлин) [23].

Согласно схеме эксперимента готовили популяции гриба, адаптированные к субстратам с разными концентрациями солей тяжелых металлов (мг/л):

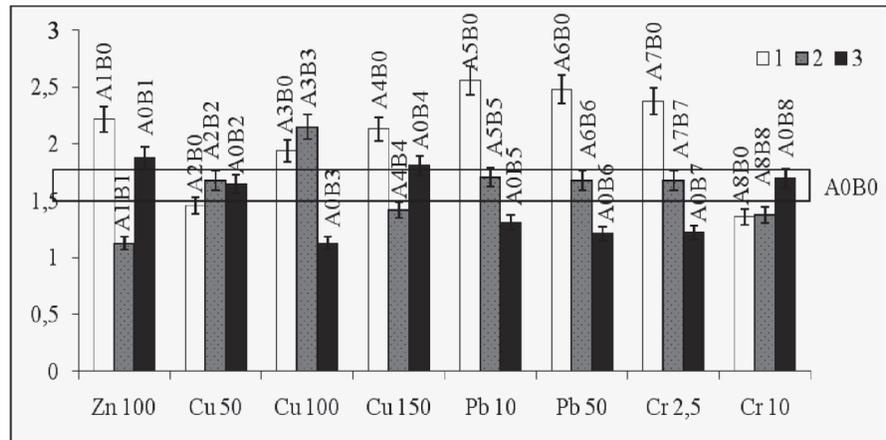


Рис. 1. Содержание хлорофилла а в листьях инокулированных растений томата при разных концентрациях тяжелых металлов в субстрате: 1, 2 – популяция гриба (A1 – Zn₁₀₀, A2 – Cu₅₀, A3 – Cu₁₀₀, A4 – Cu₁₅₀, A5 – Pb₁₀, A6 – Pb₅₀, A7 – Cr_{2,5}, A8 – Cr₁₀) + субстрат соответственно без тяжелых металлов (B) и с солями тяжелых металлов, мг/л (B1 – Zn₁₀₀, B2 – Cu₅₀, B3 – Cu₁₀₀, B4 – Cu₁₅₀, B5 – Pb₁₀, B6 – Pb₅₀, B7 – Cr_{2,5}, B8 – Cr₁₀); 3 – контрольная популяция (A0) + субстрат с солями тяжелых металлов B1-B8, мг/л; A0B0 – контрольная популяция гриба на субстрате без тяжелых металлов (прямоугольником обозначен доверительный интервал средних значений показателя для этого варианта).

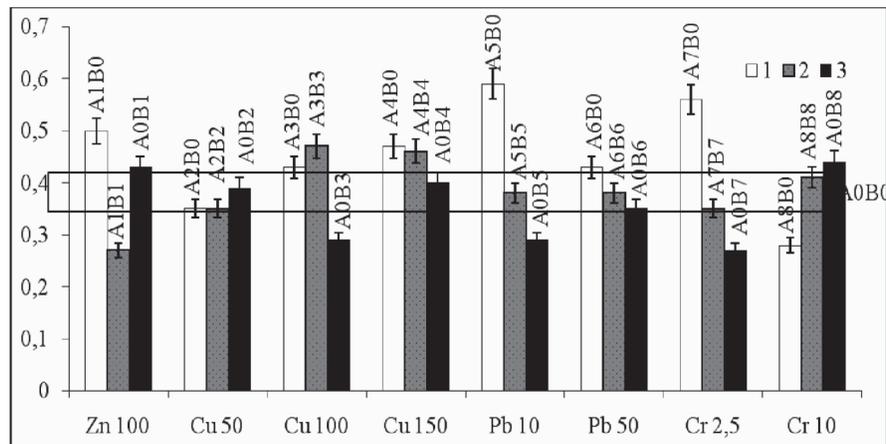


Рис. 2. Содержание хлорофилла b в листьях инокулированных растений томата в условиях разных концентраций тяжелых металлов в субстрате. Условные обозначения см. подпись к рис. 1.

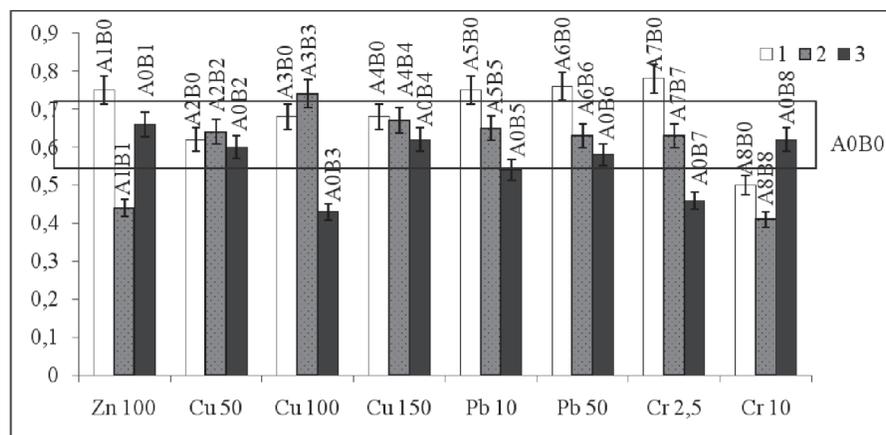


Рис. 3. Содержание каротиноидов в листьях инокулированных растений томата в условиях разных концентраций тяжелых металлов в субстрате. Условные обозначения см. подпись к рис. 1.

Биологические показатели инокулированных растений томата в условиях эксперимента

Вариант: популяция (А)/ субстрат (В)	Показатель					Развитие грибной ин- фекции	
	биомасса, г		содержание сухого вещества, %		содержание нитратов, мг/100г	частота встречае- мости, %	интенсив- ность, %
	надземная часть	корни	надземная часть	корни			
Контроль/Zn ₁₀₀	29,37±2,23*	4,70±0,28	12,83±0,67	7,85±0,33↓	3890,43±159,98	86,7	4,3
Контроль/ Cu ₅₀	25,54±0,80↓**	3,81±0,24	13,01±1,99	5,32±1,96↓	4327,69±144,6 ↑	80	4
Контроль/ Cu ₁₀₀	24,31±1,86	4,40±0,30	12,64±0,02	13,79±3,80↑	5326,66±110,4↑	86,7	4,3
Контроль/ Cu ₁₅₀	27,60±0,70	3,63±0,24	12,14±0,89	13,29±1,13↑	4308,72±298,07	53,6	2,7
Контроль/Pb ₁₀	24,51±1,28	3,88±0,35	8,85±0,50↓	10,58±2,01	4321,20±258,40	93,3	4,7
Контроль/Pb ₅₀	28,81±0,39	3,81±0,07	10,02±0,86↓	8,75±1,38	5014,62±466,07	93,3	4,7
Контроль/ Cr _{2,5}	26,87±0,35	3,30±0,14↓	11,74±1,87	8,89±1,79	4415,13±331,23	40	2
Контроль/ Cr ₁₀	25,58±0,45↓	4,72±0,28	11,59±0,98	7,75±0,18↓	3213,16±96,82↓	40	2
Zn ₁₀₀ / Контроль	25,58±0,73↓	3,84±0,12	14,92±2,32	9,35±1,41	3476,33±325,75	60	3
Zn ₁₀₀ / Zn ₁₀₀	27,80±0,64	4,72±0,45	14,95±1,23	11,19±2,20	3585,72±606,07	33,3	1,7
Cu ₅₀ / Контроль	23,96±1,63	2,16±0,18 ↓	10,99±1,14	14,78±2,82	3365,41±72,51	100	5
Cu ₅₀ / Cu ₅₀	29,68±1,05	2,13±0,23	14,10±1,64	15,22±2,97	4638,21±346,8↑	66,7	3,3
Cu ₁₀₀ /Контроль	19,82±0,40↓	2,30±0,15↓	10,91±1,64	13,17±2,43	4837,86±206,82	93,3	4,7
Cu ₁₀₀ /Cu ₁₀₀	35,29±0,25↑	2,39±0,69	12,67±0,82	12,68±2,45	3534,60±99,78	100	5
Cu ₁₅₀ / Контроль	27,99±0,81	1,93±0,04↓	9,44±1,79	16,10±3,80	3058,14±25,50↓	86,7	4,3
Cu ₁₅₀ / Cu ₁₅₀	24,16±1,12	2,23±0,18	12,26±1,21	13,25±2,73	4487,60±103,3↑	86,7	4,3
Pb ₁₀ / Контроль	32,66±2,01	2,98±0,15 ↓	13,67±1,92	10,24±0,65	3356,96±241,51	73,3	3,4
Pb ₁₀ /Pb ₁₀	26,30±0,87	2,36±0,22	11,41±1,09	11,71±1,01	4488,58±102,6↑	66,7	3,3
Pb ₅₀ / Контроль	21,88±1,31↓	1,55±0,10↓	12,39±1,36	10,98±1,16	3986,02±82,59	86,7	4,3
Pb ₅₀ /Pb ₅₀	28,16±1,30	2,49±0,36	12,92±1,16	10,01±1,17	4229,96±177,36	86,7	4,3
Cr _{2,5} /Контроль	21,59±2,04↓	1,92±0,08↓	12,24±0,26	11,38±1,85	4384,27±195,22	73,3	3,4
Cr _{2,5} /Cr _{2,5}	29,54±0,09↑	2,50±0,01↑	13,16±0,61	9,52±1,49	4161,79±494,02	73,3	3,4
Cr ₁₀ /Контроль	16,36±0,94↓	1,56±0,15↓	13,12±1,98	14,17±2,00	5188,76±622,04	80	4
Cr ₁₀ /Cr ₁₀	27,30±0,26↑	2,06±0,22	14,23±2,73	11,90±1,12	3583,89±471,03	80	4
Контроль/Контроль	29,30±0,70	5,44±0,63	15,33±2,02	9,46±0,15	3693,55±87,76	60	3

* Среднее значение показателя ± стандартное отклонение.
 ** Достоверное отличие от контроля: увеличение ↑ или уменьшение ↓ показателя (p < 0,05).
Примечание. Контроль – исходная, неадаптированная к тяжелым металлам популяция (соответствует А0 на рис. 1-3) и субстрат без металлов (соответствует В0 на рис. 1-3). А – адаптированные популяции гриба, выращенные на агаровых субстратах с разными концентрациями солей тяжелых металлов (мг/л) (соответствует А1-А8 на рис. 1-3); В – субстраты с разным содержанием солей тяжелых металлов (мг/л) (соответствует В1- В8 на рис. 1-3).

А0 – контрольный, А1 – на субстрате с Zn₁₀₀; А2 – Cu₅₀; А3 – Cu₁₀₀; А4 – Cu₁₅₀; А5 – Pb₁₀; А6 – Pb₅₀; А7 – Cr_{2,5}; А8 – Cr₁₀. Мицелиальные диски культуры гриба (∅ ≈ 5 мм) переносили на пентозо-декстрозную агаризированную среду (PDA medium) с внесенными, согласно расчетным концентрациям, солями тяжелых металлов и инокулировали в течение 2 недель в климатической камере «BinderKBWF720» при температуре 25 °С. Затем готовили суспензионные культуры этих популяций (содержание спор – 3 млн шт./мл; фрагментов мицелия – 200 шт./мл) и проводили инокуляцию растений методом полива семян в период пикировки. Для приготовления суспензионных культур гриба в стерильный картофельный бульон с декстрозой (Potato Dextrose Broth) вносили мицелиальные диски адаптированных популяций гриба и инокулировали в течение 10 дней в термо-шейкере-инкубаторе (температура – 5-27 °С, вращение – 60 мин⁻¹) [24].

Опыт включал следующие варианты: 1 – инокулированные томаты (инокуляция контрольным изолятом

А0) выращивали на субстратах с разным содержанием солей тяжелых металлов (мг/л): В0 – контрольный, без тяжелых металлов; В1 – Zn₁₀₀; В2 – Cu₅₀; В3 – Cu₁₀₀; В4 – Cu₁₅₀; В5 – Pb₁₀; В6 – Pb₅₀; В7 – Cr_{2,5}; В8 – Cr₁₀; 2 – томаты, инокулированные популяциями грибов, адаптированными к тяжелым металлам (А1-А8), выращивали на субстратах без солей (В0) и с внесением солей тяжелых металлов (В1-В8). Повторность вариантов опыта – 4-кратная. Субстрат представлял собой смесь торфа низкой зольности и песка 1:2. Растения выращивали в климатической камере «BinderKBWF720» при соблюдении оптимальных условий культуры томата (влажность субстрата – 75%, освещенность – 20000 лк (16 ч/сут), температура воздуха днем – 23 °С, ночью – 19 °С). Использовали карликовый сорт томата Балконное чудо. Растения выращивали в течение 4 месяцев до начала плодоношения. Экспериментальные исследования проведены в течение 2017-2019 гг. в научной лаборатории «Экологические биотехнологии» Удмуртского государственного университета. По завершении экспе-

римента развитие грибов эндофитов в корнях оценивали методом световой микроскопии [25].

Оценку устойчивости растений проводили на основе содержания нитратов в листьях – ионометрическим методом (ГОСТ 29270-95); биомассы и процентного содержания сухого вещества в надземной части и корневой системе растений – весовым методом (ГОСТ 28561-90); фотосинтетических пигментов в листьях среднего яруса (хлорофиллы *a* и *b*, каротиноиды) – спектрофотометрическим методом в ацетоновых экстрактах (поглощение 662, 644 и 440,5 нм соответственно), расчет концентрации пигментов – по уравнениям Холма-Веттштейна. Математическая обработка материала осуществлена с применением статистического пакета «Statistica 6.0» методами описательной статистики. Достоверные различия установлены при $p < 0,05$.

Результаты и обсуждение. Во всех вариантах с внесением цинка содержание пигментов в листьях растений имело общие закономерности: инокуляция растений контрольной популяцией (A0) при выращивании на субстрате с цинком не влияла на содержание фотосинтетических пигментов (рис. 1-3). Инокуляция растений адаптированными популяциями при выращивании на контрольном субстрате (B0) вызвала достоверное увеличение содержания хлорофиллов *a* и *b*, каротиноидов, в то время как при выращивании на субстрате с цинком содержание пигментов снижалось почти в два раза. Кроме того инокуляция контрольной популяцией при выращивании растений на субстрате с цинком привела к достоверному снижению содержания сухого вещества в корневой системе растений (табл.). Инокуляция адаптированными популяциями гриба вызвала достоверное снижение надземной биомассы растений (при выращивании на контрольном субстрате) и не повлияла на изучаемые параметры растений при культивировании на субстрате с внесением цинка.

Отмечены высокие показатели развития грибной инфекции *S. magnusianum* в корневой системе растений в варианте контрольная популяция/Zn₁₀₀ (табл.); при использовании адаптированных популяций грибная инфекция была менее развита, особенно в варианте Zn₁₀₀/Zn₁₀₀.

В вариантах с Cu₁₀₀ содержание хлорофиллов *a* и *b* возросло при использовании адаптированных популяций, в то время как инокуляция контрольной популяцией привела к достоверному резкому снижению содержания пигментов. В условиях максимального содержания меди (Cu₁₅₀) не выявлено изменений в содержании каротиноидов, но использование адаптированных популяций увеличило содержание хлорофиллов.

Инокуляция растений контрольной популяцией гриба привела к росту содержания нитратов в листьях в вариантах субстратов Cu₅₀ и Cu₁₀₀, а также к увеличению процентного содержания сухого вещества в корневой системе растений в вариантах Cu₁₀₀ и Cu₁₅₀. Это согласуется с данными о влиянии инокуляции на растения при воздействии тяжелых металлов, что связано с изменением архитектуры корневой системы и накоплением общего азота [9]. Использование адаптированных популяций гриба при культивировании инокулированных растений на контрольном субстрате способствовало снижению биомассы корневой системы, а в варианте Cu₁₅₀ – и содержания нитратов в листьях. При инокуляции адаптированными популяциями гриба на субстратах с Cu₅₀ и Cu₁₅₀ отмечен достоверный рост со-

держания нитратов в листьях, а при Cu₁₀₀ – увеличение надземной биомассы растений. Наиболее интенсивно грибная инфекция формировалась при использовании адаптированных популяций Cu₁₀₀ и Cu₁₅₀. Максимальное развитие грибной инфекции отмечено в варианте Cu₁₀₀/Cu₁₀₀.

Следует отметить использование небактериальных химических элементов (хрома и свинца). При инокуляции растений контрольной популяцией гриба и при культивировании на субстрате Pb₁₀ наблюдали достоверное снижение хлорофиллов *a* и *b*, на субстрате Pb₅₀ – хлорофилла *a*, при этом достоверного уменьшения содержания каротиноидов не было. Использование адаптированных популяций гриба при выращивании растений на B0 вызвало увеличение содержания всех изучаемых пигментов, а при выращивании на субстратах с внесением солей свинца достоверных изменений по сравнению с контролем не выявлено.

Инокуляция растений контрольной популяцией гриба достоверно снизила процентное содержание сухого вещества в надземной части растений. При использовании адаптированных популяций и на контрольном субстрате отмечено снижение биомассы корневой системы растений, а на субстратах с Pb₁₀ и Pb₅₀ биомасса и содержание сухого вещества достоверно не изменились, но при этом отмечен рост содержания нитратов в листьях. Во всех вариантах со свинцом грибная инфекция в корневой системе растений имела высокие показатели развития, наибольшие – в вариантах контроль/Pb₁₀, Pb₅₀ и Pb₁₀, Pb₅₀/контроль.

В вариантах с хромом инокуляция растений контрольной популяцией при культивировании в субстрате с Cr_{2,5} привела к достоверному снижению содержания пигментов в листьях, в субстрате с Cr₁₀ подобное не отмечено. Инокуляция растений адаптированными популяциями гриба при их культивировании на контрольных субстратах различалась: при Cr_{2,5} вызвала достоверный рост содержания фотосинтетических пигментов, при Cr₁₀ – достоверное снижение их содержания. При культивировании растений на субстратах с Cr_{2,5} достоверных изменений не выявлено, лишь при внесении Cr₁₀ содержание хлорофилла *a* и каротиноидов снизилось при отсутствии достоверных различий с контролем в содержании хлорофилла *b*.

При инокуляции растений контрольной популяцией гриба и культивировании на субстрате с Cr₁₀ показатели надземной биомассы, процентного содержания сухого вещества в корневой системе растений и нитратов в листьях уменьшились. Следует отметить инокуляцию растений адаптированными популяциями гриба: при культивировании на контрольных субстратах показатели биомассы надземной части и корневой системы растений снизились, но при культивировании на субстратах с хромом отмечен рост биомассы растений. В вариантах с хромом использование адаптированных популяций гриба привело к наиболее высоким показателям развития грибной инфекции в корне растений, максимальным – при наиболее высоком содержании хрома в субстрате (вариант Cr₁₀/Cr₁₀).

Результаты этих исследований с использованием небактериальных, опасных для жизнедеятельности растений химических элементов, согласуются с данными наших работ, проведенных ранее [20-22], и научных публикаций других ученых о своеобразной форме партнерства эндотрофных грибов с корневой системой растений [9-11, 23]: защитное действие грибов наиболее эффективно проявляется в условиях, неблагоприятных для жиз-

недеятельности растений. Наиболее чувствительным показателем растений на эффект инокуляции оказалось содержание хлорофиллов *a* и *b*. Инокуляция контрольной популяцией гриба не способствовала формированию адаптивных реакций у растений, что выразилось в снижении содержания фотосинтетических пигментов и ряда других исследуемых показателей растений при их культивировании на субстратах с солями тяжелых металлов.

Инокуляция растений адаптированными популяциями имела положительный эффект для вариантов Cu₁₀₀ и Cu₁₅₀, причем при выращивании как на контрольном, так и на субстратах с медью; для Zn₁₀₀ – лишь при культивировании растений на контрольном субстрате.

В вариантах с небактериальными элементами адаптивные реакции растений наиболее значимо проявились при инокуляции растений адаптированными популяциями гриба и при дальнейшем культивировании растений на субстратах с солями хрома и свинца. Этот факт может свидетельствовать о наиболее эффективном партнерстве гриба *C. magnusianum* и растений в условиях стресса.

Грибная инфекция в корнях растений во всех вариантах была довольно хорошо развита. Использование для инокуляции растений адаптированных к действию солей хрома изолятов *C. magnusianum* при дальнейшем их культивировании на субстратах с солями хрома стимулировало развитие грибной инфекции в корне растений.

Литература

1. Wilkinson D.M. *At cross purposes* // *Nature*. – 2001. – N 412 (6846). – P. 485. doi:10.1038/35087676.
2. Юрков А.П., Крюков А.А., Горбунова А.О., Кожемяков А.П., Степанова Г.В., Мачс Э.М., Радионов А.В., Шишова М.Ф. Молекулярно-генетическая идентификация грибов арбускулярной микоризы. // *Экологическая генетика*. – 2018. – N 16 (2). – С. 11-23. doi: 10.17816/ecogen16211-23.
3. Ijdo M., Cranenbrouck S., Declerck S. *Methods for large-scale production of AM fungi: past, present and future* // *Mycorrhiza*. – 2011. – N 21. – P. 1-16. doi: 10.12691/ijebb-4-1-1.
4. Rodriguez R.J., White J.F., Arnold A.E., Redman R.S. *Fungal endophytes: diversity and functional roles* // *New Phytologist*. – 2009. – N 182. – P. 314-330. doi:10.1111/j.1469-8137.2009.02773.x.
5. El-Samad H.M., El-Hakeem K. N.S. *Strategy Role of Mycorrhiza Inoculation on Osmotic Pressure, Chemical Constituents and Growth Yield of Maize Plant Grown under Drought Stress* // *American Journal of Plant Sciences*. – 2019. – V. 10 – N 6. – P. 1102-1120. DOI: 10.4236/ajps.2019.106080.
6. Bilal S., Shahzad R., Imran M., Jan R., Min K., Lee I.-J. *Synergistic association of endophytic fungi enhances Glycine max L. resilience to combined abiotic stresses: Heavy metals, high temperature and drought stress* // *Industrial Crops & Products*. 143 (2020). 111931. – P. 1-10. https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2019.111931.
7. Surbhi Dabral S., Yashaswee, Varma A., Choudhary D.K., Bahuguna R.N., Nath M. *Biopriming with Piriformospora indica ameliorates cadmium stress in rice by lowering oxidative stress and cell death in root cells* // *Ecotoxicology and Environmental Safety*. 186 (2019). 109741 – P. 1-12. https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2019.109741.
8. Ikram M., Ali I.N., Jan G., Jan F.G., Rahman I.U., Iqbal A., Hamayun M. *IAA producing fungal endophyte Penicillium roqueforti Thom., enhances stress tolerance and nutrients uptake in wheat plants grown on heavy metal contaminated soils* // *Plos one*. November 29, 2018. P. 2-22. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0208150.
9. Hou L., Yu J., Zhao L., He X. *Dark Septate Endophytes Improve the Growth and the Tolerance of Medicago sativa and Ammopiathanthus mongolicus Under Cadmium Stress* // *Frontiers in Microbiology*. – 2020. – V. 10. – P. 1-17. doi: 10.3389/fmicb.2019.03061.
10. Bilal S., Shahzad R., Khan A.L., Al-Harrasi A., Kim C.K., Lee I.-J. *Phytohormones enabled endophytic Penicillium funiculosum LHL06 protects Glycine max L. from synergistic toxicity of heavy metals by hormonal and stress-responsive proteins modulation* // *Journal of Hazardous Materials*. – 2019. – V. 379. 120824. https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2019.120824.
11. Li X., Zhang X., Wang X., Yang X., Cui Z. *Bioaugmentation-assisted phytoremediation of lead and salinity co-contaminated soil by Suaeda salsa and Trichoderma asperellum* // *Chemosphere*. – 224 (2019). 716e725. – V. 379. – P. 716-725. https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2019.02.184.
12. Sharma V.K., Li X., Wu G., Bai W., Parmar S., White Jr J.F., Li H. *Endophytic community of Pb-Zn hyperaccumulator Arabis alpina and its role in host plants metal tolerance* // *Plant Soil*. – 2019. – 437:397–411. https://doi.org/10.1007/s11104-019-03988-0.
13. Ali A., Bilal S., Khan A.L., Mabood F., Al-Harrasi A., Lee I.-J. *Endophytic Aureobasidium pullulans BSS6 assisted developments in phytoremediation potentials of Cucumis sativus under Cd and Pb stress* // *Journal of plant interactions*. – 2019. – V. 14, – N 1. – P. 303-313. https://doi.org/10.1080/17429145.2019.1633428.
14. Boyette C.D., Hoagland R.E., Stetina K.C. *Efficacy Improvement of a Bioherbicidal Fungus Using a Formulation-Based Approach* // *American Journal of Plant Sciences*. – 2016. – V. 7– N 16. – P. 2349-2358. DOI: 10.4236/ajps.2016.716206.
15. Boyette C. D., Hoagland R. E., Stetina K. C. *Hot Water Treatment Enhances the Bioherbicidal Efficacy of a Fungus* // *American Journal of Plant Sciences*. – 2018. – V. 9. – N 10. – P. 2063-2076. DOI: 10.4236/ajps.2018.910150.
16. Meepagala K.M., Clausen B.M., Johnson R.D., Wedge D.E., Duke S.O. *A Phytotoxic and Antifungal Metabolite (Pyrichalasin H) from a Fungus Infecting Brachiaria eruciformis (Signal Grass)* // *Journal of Agricultural Chemistry and Environment*. – 2019. – V. 8. – N 3. – P. 115-128. DOI: 10.4236/jacen.2019.83010.
17. Sobowale A.A. *Probable Effects of Dual Inoculation of Maize (Zea mays) Stem with Fusarium verticillioides and Certain Trichoderma Species on Fumonisin Content of Maize Seeds* // *American Journal of Plant Sciences*. – 2019. – V.10. – N 5. – P. 752-759. DOI: 10.4236/ajps.2019.105055.
18. Sogonov M.V., Velikanov L.L. *Soilmicrofungi from alpine and subnival ecosystems of the Northwestern Caucasus* // *Mikologiya i Fitopatologiya*. – 2004. – N 38 (3). – P. 50-58.
19. Amaral D.R., Oliveira D.F., Campos V.P., de Carvalho D.A., Nunes A.S. *Effect of plant and fungous metabolites on Meloidogyne exigua* // *Ciencia e Agrotecnologia*. – 2009. – N 33. – P. 1861-1865. doi: 10.1590/S1413-70542010000500021.
20. Бухарина И.Л., Исламова Н.А. *Исследование пределов устойчивости микроскопических грибов и формирование коллекции перспективных изолятов. Мат. годичное собрание общества физиологов рас-*

- тений России «Сигнальные системы растений: от рецептора до ответной реакции организма». – СбП., 2016. – С. 362-363.
21. Бухарина И.Л., Исламова Н.А., Жавад А.Ф., Лебедева М.А., Шашов Л.О. Влияние инокулята *Cylindrocarpum Magnusianum* на формирование адаптивных реакций растений к стрессовым факторам // *Аграрная Россия*. – 2019. – N 12. – С. 26-32.
22. Бухарина И.Л., Исламова Н.А., Жавад А.Ф., Абдуллах М.Р., Лебедева М.А., Шашов Л.О. Особенности формирования металлрезистентности при инокуляции томата микромицетом *Cylindrocarpum Magnusianum* // *Естественные и технические науки*. – 2019. – N 10 (136). – С. 105-112.
23. Bukharina I., Franken Ph., Kamasheva A., Vedernikov K., Islamova N. About the species composition of microscopic fungi in soils and woody plant roots in urban environment // *International Journal of Advanced Biotechnology and Research*. – 2016. – N 7(4). – P. 1386–1394. <http://www.bipublication.com>
24. Бухарина И.Л., Исламова Н.А. Патент на изобретение № 2722206 Способ приготовления и внесения грибного биопрепарата для повышения устойчивости растений, дата гос. регистрации в ГРИ РФ 28.05.2020.
25. Штарк О.Ю., Лабутова Н.М. Традиционные методы работы с арбускулярно-микоризными грибами. – СПб: ВНИИСХМ, 2014. – 44 с.

Поступила в редакцию 16.03.20

После доработки 10.04.20

Принята к публикации 10.05.20

Агрoхимия. Почвоведение

УДК 631.51

DOI: 10.31857/S2500262720060071

ИЗМЕНЕНИЕ АГРОХИМИЧЕСКИХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ ЧЕРНОЗЕМА ТИПИЧНОГО ПРИ РАЗЛИЧНЫХ ПРИЕМАХ ОБРАБОТКИ И ИСПОЛЬЗОВАНИИ СРЕДСТВ ХИМИЗАЦИИ И БИОЛОГИЗАЦИИ**Х.А. Хусайнов¹, кандидат биологических наук, М.Ш. Абасов¹,
А.В. Тунтаев¹, М.С. Муртазалиев¹, А.А. Завалин², академик РАН**¹Чеченский научно-исследовательский институт сельского хозяйства,
366021, Чеченская Республика, Грозный, пос. Гикало, ул. Ленина, 1²Всероссийский научно-исследовательский институт агрохимии имени Д.Н. Прянишникова,
127434, Москва, ул. Прянишникова, 31 а
E-mail: haron-h14@mail.ru

Изучено влияние различных приемов основной обработки почвы при комплексном использовании минеральных удобрений и биопрепаратов по последдействию навоза и сидератов на агрохимические показатели пахотного (0-25 см) и подпахотного (25-50 см) слоев чернозема типичного. Установлено, что при дисковании в обоих слоях почвы улучшаются все агрохимические показатели, которые значительно (в 2-4 раза) выше, чем в контроле. На эффективность действия дискования положительно влияло последствие навоза. При этом лучшие показатели по содержанию гумуса – 5,4% в пахотном слое почвы и 5,1% – в подпахотном получены в конце вегетационного периода 2020 г. при использовании биопрепарата V417. В начале вегетационного периода 2019 г. комплексное применение минеральных удобрений и биопрепарата обеспечило в обоих слоях почвы самое высокое содержание подвижного фосфора и калия – в пахотном слое 36 и 290 мг/кг, в подпахотном – 32 и 220 мг/кг соответственно. Лучший показатель по нитратному азоту достигнут в конце вегетационного периода 2020 г. при использовании биопрепарата по последствию рапса ярового в качестве сидерата: в пахотном слое – 28 мг/кг, в подпахотном – 21 мг/кг. Содержание гумуса и подвижного калия повышалось с низкого до среднего, а нитратного азота и подвижного фосфора – до повышенного. Из культур, использованных в качестве сидерата, эффективным последствием обладал рапс яровой по сравнению с овсом яровым в смеси с сорго кормовым. Учитывая незначительную (до 10% ниже, чем по последствию навоза) разницу в величине показателей по последствию рапса ярового в 2020 г., а также труднодоступность навоза, сидерат можно считать достойной заменой навозу. Дискование почвы в комплексе с минеральными удобрениями и биопрепаратом V417 по последствию сидерата (рапса ярового) позволяет решать задачи по сохранению и воспроизводству плодородия черноземных почв Чеченской Республики, снижению механического воздействия на них. Поверхностная обработка почвы дисковыми боронами с использованием сидератов предпочтительна в условиях засушливого вегетационного периода.

CHANGE OF AGROCHEMICAL INDICATORS OF TYPICAL CHERNOZEM AT DIFFERENT TREATMENT AND USE OF CHEMISTRY AND BIOLOGIZATION MEDIA**Khusainov Kh.A.¹, Abasov M.Sh.¹, Tuntaev A.V.¹, Murtazaliev M.S.¹,
Zavalin A.A.²**¹Chечen Scientific Research Institute of Agriculture,
366021, Chechenskaya Respublika, Grozny, Gikalo, ul. Lenina, 1²All-Russian Research Institute of Agrochemistry named after D.N. Pryanishnikov,
127434, Moskva, ul. Pryanishnikova, 31 а
E-mail: haron-h14@mail.ru

The influence of various methods of basic soil cultivation with the integrated use of mineral fertilizers and biological products on the aftereffect of manure and green manure on the agrochemical indicators of arable (0-25 cm) and subsurface (25-50 cm) layers of typical chernozem was studied. The goal is to develop a scientifically based resource-saving system of basic soil cultivation using organic, mineral fertilizers, renewable biological resources and biological products for sustainable production of crop products, preservation and reproduction of soil fertility of chernozems in the Chechen Republic. Objects of research: the soil of the experimental site is a typical medium-thick low-humus chernozem underlain by pebbles. It was found that among the methods of soil cultivation during disking, the best results were obtained for all agrochemical indicators in both soil layers, while they significantly (2-4 times) exceeded the corresponding indicators in the control. The efficiency of disking was positively influenced by the aftereffect of manure. At the same time, the best indicators for the humus content – 5.4% in the topsoil and 5.1% in the subsoil were obtained at the end of the growing season of 2020 year when using the biological product V417. At the beginning of the growing season of 2019 year, the complex application of mineral fertilizers and a biological product provided the highest content of mobile phosphorus and potassium in both soil layers – 36 and 290 mg / kg in the arable layer, and 32 and 220 mg / kg in the subsoil, respectively. The best indicator for nitrate nitrogen was achieved at the end of the growing season of 2020 year when using a biological product for the aftereffect of spring rape used as a green manure, where the nitrogen content in the arable layer is 28 mg / kg, in the subsoil layer – 21 mg / kg. It should be noted that the content of humus and mobile potassium increased from low to medium, and that of nitrate nitrogen and mobile phosphorus – to increased. Of the crops used as green manure, spring rape had a more effective aftereffect than spring oats mixed with fodder sorghum. Considering the insignificant (up to 10% lower than in terms of the manure aftereffect) difference in the indicators for the aftereffect of spring rape used as green manure in 2020 year, as well as the inaccessibility of manure, green manure can be considered a worthy alternative to manure. According to the research results, it was found that soil disking in a complex with the use of mineral fertilizers and biological product V417 on the aftereffect of green manure (spring rape) allows solving urgent problems of preserving and reproducing the fertility of chernozem soils in the Chechen Republic, reducing mechanical impact on them. Surface tillage with disc harrows using green manure is more preferable in the conditions of a dry growing season.

Ключевые слова: гумус, азот нитратный, фосфор подвижный, калий подвижный

Key words: humus, nitrate nitrogen, mobile phosphorus, mobile potassium

Применение в севооборотах систем обработки почвы и удобрений – необходимое условие дальнейшего повышения плодородия почвы и роста урожайности сельскохозяйственных культур [1, 2]. Основная обработка почвы должна обеспечивать максимальное накопление зимних осадков, а после поглощения талых вод – тормозить процессы физического испарения влаги. Глубоко обработанная почва хорошо аккумулирует влагу, но плохо ее сохраняет, тогда как более плотная почва после мелкой или поверхностной обработки хуже накапливает влагу, но лучше ее сохраняет [3]. С плодородием связана способность почвы обеспечивать культурные растения факторами жизнедеятельности. К важнейшим показателям плодородия почвы относятся содержание гумуса и доступных питательных веществ [4]. Навоз и сидерат оказывают положительное последствие при резком недостатке атмосферных осадков [5, 6]. Одним из основных и доступных способов поддержания плодородия почв в настоящее время остается сидерация [7]. Использование сидератов увеличивает запасы органического вещества почвы, активизирует почвенные микроорганизмы, положительно влияет на агрохимические и агрофизические свойства почвы, что повышает ее плодородие. Сидераты стабилизируют и улучшают фитосанитарное состояние посевов и увеличивают урожайность полевых культур [8, 9]. За вегетационный период сидеральные культуры оставляют

различное количество органического вещества, различающееся по содержанию азота и других макро- и микроэлементов, соотношению C:N [10]. Достижением современной биотехнологии для сельского хозяйства является создание биопрепаратов на основе микроорганизмов, фиксирующих азот из атмосферы; биопрепараты повышают на 0,2-0,4 т/га урожайность зерна озимой пшеницы в условиях засухи [5, 11].

Методика. Исследования проводили на опытном поле Чеченского НИИ сельского хозяйства, расположенном в лесостепной природно-климатической зоне на черноземе типичном в условиях богары. Закладку и проведение полевого опыта осуществляли по общепринятым методикам [12-15]. Посевная площадь делянок в зависимости от культур составляла 45-90 м², учетная – 30-75 м². Повторность в опыте – 4-кратная.

Образцы пахотного (0-25 см) и подпахотного (25-50 см) слоев почвы отбирали с каждого варианта опыта в начале и конце вегетационного периода. Агрохимические анализы почвы проводили стандартными методами: гумуса – по Тюрину, нитратного азота (N-NO₃) – ионометрическим методом, подвижных соединений фосфора (P₂O₅) и калия (K₂O) по методу Мачигина в модификации ЦИНАО.

Изучали способы обработки почвы, используя для проведения работ сельскохозяйственную технику и агрегаты: вспашка на глубину 25-30 см навесным плу-

Табл. 1. Агрохимические показатели пахотного и подпахотного слоев почвы по последствию сидератов в начале (1) и конце (2) вегетационного периода 2019-2020 гг.

Вариант	Слой почвы, см	Гумус, %				Азот нитратный, мг/кг				Фосфор подвижный, мг/кг				Калий подвижный, мг/кг			
		2019		2020		2019		2020		2019		2020		2019		2020	
		1	2	1	2	1	2	1	2	1	2	1	2	1	2	1	2
Вспашка	0-25	2,7	2,5	3,4	3,4	8	3	3	5	16	12	11	13	120	110	120	110
	25-50	2,6	3,1	3,2	3,4	7	4	3	3	14	12	9	11	100	100	110	70
Дискование	0-25	3,4	3,1	3,4	3,6	7	2	4	7	15	9	12	17	120	120	140	150
	25-50	3,1	3,6	3,4	3,4	6	4	3	5	12	7	9	10	110	100	120	80
Чизелевание	0-25	3,2	2,9	3,2	3,2	8	3	5	7	15	10	9	13	140	120	110	100
	25-50	2,8	3,8	3,0	3,1	7	5	5	7	11	9	6	10	110	110	100	70
Вспашка	0-25	4,0	3,4	3,7	4,4	8	4	14	7	17	16	21	15	150	120	160	100
	25-50	3,7	4,1	3,2	4,1	8	5	12	4	15	14	12	8	100	110	110	70
Дискование	0-25	4,2	3,6	3,9	4,4	8	3	16	12	18	12	17	19	140	130	190	100
	25-50	3,7	4,1	3,4	4,1	7	6	14	10	15	11	13	17	100	110	170	90
Чизелевание	0-25	3,8	3,4	3,2	4,0	8	4	6	12	21	12	10	23	170	160	120	150
	25-50	3,4	3,8	3,0	3,8	7	5	5	10	16	11	7	17	130	130	100	150
Вспашка	0-25	3,8	3,1	3,7	4,2	8	3	8	11	17	28	13	16	130	120	150	120
	25-50	3,4	3,8	3,2	4,1	14	8	7	8	12	17	10	9	100	100	130	70
Дискование	0-25	3,6	3,4	4,4	4,8	13	7	20	28	16	15	23	24	150	140	220	220
	25-50	3,1	3,8	4,0	4,5	10	9	15	21	14	10	15	18	100	100	160	130
Чизелевание	0-25	3,6	3,1	3,9	4,4	12	6	8	9	16	21	12	14	160	120	140	130
	25-50	3,1	3,6	3,6	4,1	10	9	6	7	13	14	11	8	110	110	140	80
Вспашка	0-25	3,8	3,1	3,4	4,0	25	9	6	10	17	17	14	20	160	130	150	160
	25-50	3,1	3,6	3,2	3,8	17	16	5	8	8	10	10	14	120	110	120	100
Дискование	0-25	3,8	3,4	4,0	4,4	26	8	11	5	15	10	18	19	150	150	160	170
	25-50	3,4	3,8	3,7	4,3	20	13	9	3	14	10	16	18	110	110	160	110
Чизелевание	0-25	3,4	3,1	3,4	4,4	17	8	9	23	12	18	12	16	220	200	140	150
	25-50	3,1	3,8	3,2	4,1	11	12	6	15	9	15	9	12	140	130	120	100
НСР ₀₅	0-25	0,14	0,13	0,15	0,17	0,7	0,6	0,6	0,7	0,9	0,9	0,8	0,9	8,3	8,4	8,8	8,1
	25-50	0,12	0,16	0,14	0,16	0,6	0,4	0,5	0,5	0,7	0,7	0,6	0,7	6,5	6,4	7,5	5,4

Примечание. В 2019 г. использовали овес яровой + сорго кормовое, в 2020 г. – рапс яровой.

Табл. 2. Агрохимические показатели пахотного и подпахотного слоев почвы по последствию навоза в начале (1) и конце (2) вегетационного периода 2019-2020 гг.

Вариант	Слой почвы, см	Гумус, %				Азот нитратный, мг/кг				Фосфор подвижный, мг/кг				Калий подвижный, мг/кг				
		2019		2020		2019		2020		2019		2020		2019		2020		
		1	2	1	2	1	2	1	2	1	2	1	2	1	2	1	2	
Вспашка	Контроль	0-25	2,7	2,5	3,4	3,5	8	3	3	5	16	12	11	13	120	110	120	110
		25-50	2,6	3,1	3,2	3,4	7	4	3	3	14	12	9	11	100	100	110	70
	Дискование	0-25	3,4	3,1	3,4	3,7	7	2	4	7	15	9	12	17	120	120	140	150
		25-50	3,1	3,6	3,2	3,4	6	4	3	5	12	7	9	10	110	100	120	80
Чизелевание	0-25	3,2	2,9	3,2	3,3	8	3	5	7	15	10	9	13	140	120	110	100	
	25-50	2,6	3,8	3,0	3,1	7	5	5	7	11	9	6	10	110	110	100	70	
Вспашка	Навоз + NPK	0-25	5,2	3,1	3,7	4,5	10	3	12	16	15	12	20	19	160	110	220	140
		25-50	3,8	4,2	3,4	4,1	8	5	9	11	11	10	10	12	150	100	110	100
	Дискование	0-25	4,6	3,3	3,7	4,8	10	4	14	18	27	13	23	26	160	160	280	220
		25-50	3,8	3,8	3,6	4,5	8	7	11	12	24	11	13	17	150	100	140	130
Чизелевание	0-25	4,6	3,5	3,5	4,2	10	3	6	17	20	17	10	19	200	160	120	140	
	25-50	3,1	4,0	3,4	4,1	9	6	4	10	11	14	12	14	160	110	120	80	
Вспашка	Навоз + V417	0-25	5,2	3,3	3,7	5,1	9	4	11	17	15	14	30	24	190	130	220	200
		25-50	3,4	4,0	3,6	4,8	10	4	9	10	15	12	15	14	140	120	110	100
	Дискование	0-25	4,1	3,3	3,9	5,4	12	6	12	13	23	17	19	21	220	160	180	150
		25-50	3,6	3,8	3,2	5,1	15	5	8	10	21	17	15	16	180	130	130	110
Чизелевание	0-25	3,7	3,1	3,7	4,5	13	3	10	7	17	21	12	15	120	160	130	110	
	25-50	3,1	3,8	3,6	4,5	11	3	6	3	9	17	7	9	100	130	100	110	
Вспашка	Навоз + NPK + V417	0-25	3,7	3,3	3,7	4,5	20	4	8	9	27	12	20	20	160	130	160	110
		25-50	3,1	4,2	3,6	4,5	17	3	6	5	13	10	8	12	140	120	100	90
	Дискование	0-25	3,7	3,3	4,1	4,5	19	5	10	12	36	27	20	21	290	240	120	140
		25-50	3,1	4,0	3,9	4,1	14	4	6	6	32	24	12	20	220	200	110	130
Чизелевание	0-25	3,2	3,5	3,9	4,5	23	4	8	15	26	19	18	19	280	240	160	140	
	25-50	2,8	4,2	3,6	4,5	20	4	7	9	15	18	10	10	160	190	110	70	
НСР ₀₅	0-25	0,18	0,16	0,18	0,19	0,6	0,2	0,5	0,7	0,9	0,8	0,9	0,9	9,0	7,7	8,2	7,1	
	25-50	0,16	0,19	0,17	0,17	0,6	0,3	0,4	0,4	0,8	0,7	0,7	0,8	7,2	6,3	5,7	4,8	

гом ПН-4-35 + ВТ-100, дискование на глубину 10-15 см дисковой бороной БДМ-3×4 + ХТЗ-17221, чизелевание на глубину 30-40 см чизелем-глубококорыхлителем D 380 NS + ХТЗ-17221.

В качестве органических удобрений использовали полуперепревший навоз в дозе 30 т/га (содержание д.в. N – 0,45%, P – 0,23%, K – 0,50%), в качестве сидератов – овес яровой + сорго кормовое нормой высева соответственно 150 и 10 кг/га и рапс яровой нормой высева 15 кг/га.

Минеральные удобрения применяли под культуры севооборота в дозах (кг/га д.в.) на планируемую урожайность: озимая пшеница (4 т/га) – N₁₀₀P₆₀K₆₀, овес (2 т/га) – N₈₀P₆₀K₆₀, кукуруза на зерно (5 т/га) – N₁₂₀P₆₀K₆₀, горох (2 т/га) – N₃₀P₆₀K₆₀. На всех культурах в качестве основных удобрений вносили аммофос (содержание д.в. N – 12%, P – 52%) и калийную селитру (содержание д.в. N – 14%, K – 46%) в дозе N₃₀P₆₀K₆₀ под предпосевную обработку почвы с использованием РУМ-8 + МТЗ-80. Подкормку азотом (вручную) проводили по фазам вегетации растений с применением аммиачной селитры (содержание д.в. N – 34%): под озимую пшеницу – в фазе кущения (N₄₀) и трубкования (N₃₀), под овес – в фазе кущения и трубкования (N₃₀), под кукурузу – в фазе 3-5 листьев и выбрасывания метелки (N₄₅).

Использовали биопрепарат V417 (жидкая форма), созданный во ВНИИ сельскохозяйственной микробиологии на основе штамма *Bacillus subtilis*, относящегося к эндофитным бактериям. Выделен из внутренних тканей черенков винограда сорта Мускат. Инокуляцию

семян биопрепаратом проводили за 10 дней до посева с целью подавления семенных инфекций (гельминтоспориоз, фузариоз и др.) и заселения семян полезной микрофлорой. Доза препарата – 1 л/т семян (10%-ный рабочий раствор). В течение вегетационного периода этим препаратом в дозе 2 л/га обрабатывали посевы озимой пшеницы и овса в фазе кущения и трубкования, кукурузы – в фазе 3-5 листьев и образования метелки, гороха – в фазе 3-5 тройчатых листьев и бутонизации для стимулирования роста растений, увеличения их урожайности и защиты от спектра фитопатогенных грибов и бактерий. Контролем служил вариант опыта с приемами обработки почвы без применения удобрений, навоза, сидератов и биопрепарата.

Результаты и обсуждение. Определение агрохимических показателей пахотного и подпахотного слоев почвы в начале и конце вегетационного периода позволило установить их изменение (табл. 1, 2) от действия приемов обработки почвы, применения минеральных удобрений и биопрепарата по последствию навоза и сидератов: их величина в разной степени повышалась по сравнению с соответствующим контролем (приемы обработки почвы). Увеличение содержания гумуса до среднего (4,1-6,0% согласно группировке почв) отмечено в конце вегетационного периода 2020 г. при дисковании с использованием биопрепарата по последствию навоза. При этом по сравнению с соответствующим контролем величина показателя в обоих слоях повысилась на 50% (далее в относительных долях), а в вариантах с вспашкой и чизелеванием в па-

хотном слое – на 4 и 17%, в подпахотном – на 6 и 13% соответственно.

В конце вегетационного периода 2020 г. дискование, а также использование биопрепарата по последствию сидерата (рапса ярового) обеспечили повышение содержания нитратного азота (16-30 мг/кг) в обоих слоях почвы. Превышение показателя относительно контроля было в 4 раза, а показателей при вспашке и чизелевании в пахотном слое – на 12 и 21%, в подпахотном – на 23 и 5% соответственно.

В начале вегетационного периода 2019 г. повышению содержания подвижного фосфора (31-45 мг/кг) в обоих слоях почвы способствовало дискование в комплексе с применением минеральных удобрений и биопрепарата по последствию навоза. Превышение составило более чем в 2 раза относительно контроля, вспашки и чизелевания в пахотном слое – 20 и 38, в подпахотном – 88 и 77% соответственно. В этот период среднее содержание подвижного калия (210-300 мг/кг) в обоих слоях почвы отмечено по дискованию в комплексе с использованием минеральных удобрений и биопрепаратов по последствию навоза. Это более чем в 2 раза выше, чем в контроле, а относительно вариантов вспашки и чизелевания в пахотном слое – на 32 и 4%, в подпахотном – на 32 и 16% соответственно.

Таким образом, среди приемов обработки почвы при дисковании получены лучшие результаты по всем агрохимическим показателям в обоих слоях почвы, при этом они значительно превышали соответствующие показатели в контроле. Вероятно, дискование как поверхностная обработка почвы обеспечивает лучшее сохранение влаги (необходимой для физико-химических процессов в почвенно-поглощающем комплексе), в условиях, где почвенный покров подстиляется галечником, глубина залегания которого местами доходит до подпахотного слоя. При более глубоких, чем дискование, обработках почвы (вспашка и чизелевание) почвенная влага уходит в нижние слои или быстрее испаряется, что необходимо учитывать при проведении опыта в условиях вегетационных периодов с жарким, засушливым летом, частыми суховеями. Кроме того, дискование почвы требует меньших затрат горючего, что экономически выгодно.

На эффективность дискования положительно влияло последствие навоза. При этом получены лучшие показатели по содержанию гумуса в обоих слоях почвы в конце вегетационного периода 2020 г. при использовании биопрепарата, а также по обеспеченности обоих слоев почвы подвижными фосфором и калием в начале вегетационного периода 2019 г. при комплексном применении минеральных удобрений и биопрепарата. По нитратному азоту самый высокий показатель достигнут в конце вегетационного периода 2020 г. при использовании биопрепарата по последствию рапса ярового в качестве сидерата. Вместе с тем содержание гумуса и подвижного калия повысилось с низкого до среднего, а нитратного азота и подвижного фосфора – до повышенного.

По последствию лучшим был рапс яровой в 2020 г., чем овес яровой с сорго кормовым в 2019 г. По последствию рапса ярового и навоза разница между показателями составила всего 10%, и учитывая резкое сокращение поголовья животных, заделка сидерата – приемлемая замена внесению навоза.

Результаты исследований свидетельствуют о сравнительно высокой эффективности комплекса агротехнологических мер, включающих дискование почвы с использованием минеральных удобрений и биопрепарата V417 по последствию сидерата (рапса ярового) для сохранения и воспроизводства плодородия черноземных почв Чеченской Республики.

Литература

1. Хусайнов Х.А., Тунтаев А.В., Муртазалиев М.С., Муртазалиев С.М. Плодородие почвы в зависимости от приемов ее обработки и внесения органических удобрений на черноземе типичном в Чеченской Республике // *Плодородие*. – 2019. – № 5 (110). – С. 24-27.
2. Аюпов З.З., Рыцева Н.Г. Продуктивность полевых севооборотов в зависимости от системы основной обработки почвы и удобрений // *Достижения науки и техники АПК*. – 2010. – № 2. – С. 10-11.
3. Буйнкин Н.И., Красноперов А.Г. Основная обработка почвы в условиях засушливого земледелия // *Достижения науки и техники АПК*. – 2006. – № 6. – С. 39-42.
4. Никончик П.И. Севооборот и воспроизводство плодородия почвы. Результаты 30-летнего стационарного опыта // *Известия ТСХА*. – 2012. – Выпуск 3. – С. 88-98.
5. Никитин С.Н., Завалин А.А. Влияние удобрений и биопрепаратов на продуктивность зернопарового севооборота, потоки элементов питания и свойства чернозема выщелоченного в лесостепи Среднего Поволжья // *Агрохимия*. – 2017. – № 6. – С. 12-29.
6. Никитин С.Н. Влияние последствия органических удобрений и инокуляции семян ризоагрином на накопление пожнивно-корневых остатков и продуктивность яровой пшеницы // *Достижения науки и техники АПК*. – 2012. – № 1. – С. 12-14.
7. Туктаров Б.И., Тарасенко П.В., Уваров А.В. Повышение плодородия чернозема выщелоченного в лесостепной зоне при биологизации земледелия // *Плодородие*. – 2012. – № 1. – С. 37-38.
8. Лошаков В.Г. Севооборот и плодородие почвы. – М.: Изд-во ВНИИА, 2012. – 512 с.
9. Лошаков В.Г., Синих Ю.Н., Солдатова С.С. Роль пожнивной сидерации в биологизации / Доклады ТСХА. – М.: Издательство РГАУ-МСХА, 2010. – С. 313-317.
10. Effect of Fertilizers on the Productivity of Crop Rotation and on Organic Matter in the Soil / N.M. Mudrykh [et al.] // *8th International Soil Science Congress on «Land Degradation and Challenges in Sustainable Soil Management»*, Izmir, 2012. – Vol. I. – P. 335-338.
11. Завалин А.А. Биопрепараты, удобрения и урожай. – М.: ВНИИА, 2005. – 302 с.
12. Адиньяев Э.Д., Абаев А.А., Адаев Н.Л. Учебно-методическое руководство по проведению исследований в агрономии. – Грозный: Изд-во ЧГУ, 2012. – 344 с.
13. Володин В.М. Экологические основы оценки и использования плодородия почв. – М.: ЦИНАО, 2000. – 335 с.
14. Нагорный В.Д. Практикум по земледелию / Учебное пособие. – М.: РУДН, 2014. – 182 с.
15. Пискунов А.С. Методы агрохимических исследований. – М.: КолосС, 2004. – 312 с.

Поступила в редакцию 14.09.20
Принята к публикации 20.09.20

ВЛИЯНИЕ ОСНОВНОЙ ОБРАБОТКИ НА ДИНАМИКУ НАКОПЛЕНИЯ НИТРАТНОГО АЗОТА В ПОЧВЕ

Н.М. Соколов, доктор технических наук, **Н.М. Жолинский**, кандидат сельскохозяйственных наук,
С.Б. Стрельцов, кандидат технических наук, **И.Н. Кorableва**

*Научно-исследовательский институт сельского хозяйства Юго-Востока,
410010, Саратов, ул. Тулайкова, 7
E-mail: ariser@yandex.ru*

Изучено влияние способов основной обработки, обеспечивающих различное размещение пожнивных остатков на поверхности паши, на содержание нитратного азота в почве. В 2018-2019 гг. в условиях Саратовской области проведены исследования в стационарном опыте НИИ сельского хозяйства Юго-Востока на склоново-ложбинном агроландшафте, представленном ландшафтной полосой на склоне южной экспозиции крутизной 1-3°. Наблюдения за динамикой нитратного азота в почве проводили при возделывании яровой мягкой пшеницы Саратовская 70. Целью исследований было выявление особенностей накопления нитратного азота в почве при плоскорезной обработке с поверхностным размещением пожнивных остатков и при обработке с локальным размещением пожнивных остатков в виде кулисы с образованием минерализованных полос между ними. Установлено, что поверхностное размещение пожнивных остатков при плоскорезном рыхлении и локальном их размещении в кулисах приводит к снижению содержания нитратного азота в пахотном слое почвы. Образованные минерализованные полосы между сформированными кулисами обеспечивали оптимальные условия для процессов нитрификации.

INFLUENCE OF BASIC TREATMENT ON THE DYNAMICS OF NITRATE NITROGEN ACCUMULATION IN THE SOIL

Sokolov N.M., Zholinsky N.M., Streltsov S.B., Korableva I.N.

*Agricultural Research Institute for South-East Regions,
410010, Saratov, ul. Tulaykova, 7
E-mail: ariser@yandex.ru*

The results of studying the influence of the main processing methods, providing a different placement of crop residues on the surface of the arable land, on the content of nitrate nitrogen in the soil are presented. Studies were carried out in 2018-19. in the conditions of the Saratov region in the stationary experiment of the Institute of Agricultural Research of the South-East on a sloping-hollow agrolandscape represented by a landscape strip on a slope of the southern exposure with a steepness of 1-3°. Observations of the dynamics of nitrate nitrogen in the soil were carried out during the cultivation of spring soft wheat Saratovskaya 70. The purpose of the research is to identify the features of the accumulation of nitrate nitrogen in the soil by plane-cutting processing, with surface placement of crop residues and processing with local placement of crop residues in the form of wings, with the formation of mineralized bands between them. Studies have established that the surface distribution of crop residues during planar loosening and their local placement in the wings, leads to a decrease in the content of nitrate nitrogen in the arable layer of the soil. Formed mineralized bands between the formed backstage provided optimal conditions for nitrification processes.

Ключевые слова: *плоскорезная обработка почвы, минерализованная полоса, нитратный азот, пожнивные остатки*

Key words: *planar tillage, mineralized strip, nitrate nitrogen, crop residues*

Приемы основной обработки почвы – основной фактор антропогенного воздействия на строение пахотного слоя. Они изменяют водно-физические свойства почвы, определяют направленность биологических процессов и мобилизацию питательных веществ, что отражается на продуктивности возделываемых культур.

При возделывании зерновых культур в Поволжье лимитирующим фактором служит содержание нитратного азота в почве. Результаты исследований влияния различных приемов обработки на количественное содержание и динамику изменения нитратного азота в пахотном слое очень противоречивы. По одним данным, на стерневых фонах формируются значительно меньшие запасы нитратов, чем по вспашке [1-3]. Другие ученые не отмечают различий между способами обработки или отдают предпочтение безотвальному рыхлению [4-6]. По результатам исследований, проведенных в Самарской государственной сельскохозяйственной академии, Ульяновском НИИ сельского хозяйства, НИИ сельского хозяйства Центральной Черноземной полосы, плоскорезная мелкая и нулевая обработки по сравнению со вспашкой увеличивают

дифференциацию пахотного слоя по содержанию подвижных форм азота [7-9].

На интенсивность процессов нитрификации преимущественно влияет различное в зависимости от используемого приема основной обработки распределение растительных остатков предшествующей культуры в верхнем слое почвы, которое изменяет отражающую способность поверхности поля, водный и температурный режимы. При отвальной вспашке пожнивными остатками с плодородным и биогенным верхним слоем перемещаются на дно борозды, создается гомогенный пахотный слой с благоприятным режимом тепла, влаги и аэрации. В результате на вспаханных участках интенсивнее развивается аэробная микробиологическая деятельность, больше накапливается питательных веществ для растений. Прошлогодние органические остатки, аккумулярованные в нижнем горизонте, при перемещении и попадании вверх в условиях лучшего аэробноза быстро подвергаются минерализации и повышают плодородие почвы [1].

При глубокой и мелкой плоскорезной обработке основная причина ухудшения накопления нитратного азота на черноземах весной – это наличие на поверх-

ности почвы стерни и пожнивных остатков. Светлая поверхность поля, покрытая при плоскорезной обработке на 70-80% растительными остатками, отражает в атмосферу солнечного тепла больше и медленнее прогревается, чем темная поверхность вспаханной зяби; интенсивность микробиологических процессов замедляется, а более плотное сложение и повышенная влажность уменьшают аэрацию. По данным НИИ сельского хозяйства Юго-Востока, почва на участках с поверхностно размещенными пожнивными остатками прогревалась и созревала медленнее. В ранневесенний период разница в альбедо между безотвальной обработкой и вспашкой достигала 2-5%, температуры – 4-6 °С. В период наибольшей требовательности растений яровой пшеницы в азотном питании на участках, обработанных плоскорезами, испытывается недостаток легкоусвояемого азота. Интенсивность накопления нитратов особенно снижается при холодной, дождливой и затяжной весне. Вследствие ухудшения азотного питания в ранневесенний период урожайность яровых культур по плоскорезной обработке уменьшается [10, 11].

На черноземах Поволжья ранней весной по вспашке обеспечиваются лучшие условия питания растений яровых зерновых культур, чем по плоскорезной обработке. Плоскорезная обработка накапливает влагу и лучше защищает почву от эрозии, но урожай получается меньше, чем при вспашке в связи с ухудшением азотного питания растений. Следовательно, для повышения эффективности почвозащитных обработок на черноземных почвах важно обеспечить пищевой режим почв, характерный для вспашки.

В НИИСХ Юго-Востока разработан способ гребнекулисной безотвальной обработки почвы [12], который осуществляется почвообрабатывающим орудием, оснащенным рыхлящими рабочими органами и противэрозионным приспособлением [13]. В результате выполнения такого технологического процесса стерня и растительные остатки срезаются и формируются локально в виде кулис, в результате до 80% поверхности поля освобождается от пожнивных остатков, что приближает температурный режим почвы при безотвальных обработках к отвальной вспашке [14]. Различия в температурном режиме почвы между кулис и в сформированной кулисе отражаются на микробиологической активности, которая в свою очередь будет определять интенсивность процессов нитрификации.

Поэтому целью наших исследований было выявление особенностей накопления нитратного азота в почве по плоскорезной обработке с поверхностным размещением пожнивных остатков и по гребнекулисной обработке с локальным размещением пожнивных остатков в виде кулисы и формированием минерализованных полос между ними при возделывании яровой мягкой пшеницы.

Методика. Исследования выполнены в стационарном опыте НИИ сельского хозяйства Юго-Востока в условиях склоново-ложбинного агроландшафта, представленного ландшафтной полосой на склоне южной экспозиции крутизной 1-3°. Тип почвы – чернозем южный тяжелосуглинистый слабо-и среднесмытый с содержанием гумуса 2,98%. Севооборот зернопаровой 4-польный: 1 – пар черный, 2 – озимая пшеница, 3 – яровая пшеница, 4 – просо. Наблюдения за динамикой нитратного азота в почве проводили при возделывании яровой мягкой пшеницы Саратовская 70. Опыт включал следующие варианты основной обработки почвы: 1 – плоскорезная обработка на 20-22 см с поверхностным размещением пожнивных остатков; 2 – гребнеку-

лисная безотвальная обработка на 20-22 см с локальным размещением пожнивных остатков в кулисах. Во втором варианте наблюдения за динамикой накопления нитратного азота проводили в минерализованных полосах между кулисами и в кулисах. Делянки в опыте размещали методом рендомизированных блоков. Площадь опытных делянок составляла 20×60=1200 м².

В осенний период динамику количественных изменений содержания нитратного азота в почве исследуемых вариантов наблюдали в 3 срока (1 сентября, 7 октября, 19 ноября) после основной обработки на участке, где размещали озимую пшеницу Калач 60, возделываемую по чистому пару, и весной – в посев, период полных всходов и кущения яровой пшеницы. Образцы почвы для определения нитратного азота отбирали послойно, через 10 см до глубины 30 см буром Малькова в 20 точках с двух повторностей опыта. Нитратный азот определяли согласно ГОСТ 26951-86. Масса пожнивных остатков после озимой пшеницы составляла в среднем 293 г/м².

Результаты и обсуждение. Для создания урожая растения яровой мягкой пшеницы из элементов питания больше всего извлекают из почвы азота, меньше калия и еще меньше фосфора. Во время кущения и выхода в трубку, когда формируются дополнительные стебли, узловые корни, колосья и цветки, у яровой пшеницы резко увеличивается потребность в азотном питании.

При выполнении гребнекулисной безотвальной обработки локальное размещение пожнивных остатков в смеси с почвой в виде кулисы создает условия для компостирования почвенно-растительной массы в верхнем слое пахотного горизонта. Активизация этого процесса тем выше, чем оптимальнее условия тепла и влаги. На интенсивность разложения пожнивных остатков также влияет количество растительной массы.

Погодные условия в осенний период наблюдений за содержанием нитратного азота характеризовались повышенным температурным режимом во второй и третьей декаде августа, на 2-3 °С выше в сентябре и на 2,4-3,8 °С в октябре от среднегодовых значений. Отмечен дефицит осадков в августе и сентябре, несмотря на осадки ливневого характера (21 августа – 22,9 мм – 283% от нормы) и обилием их в третьей декаде октября. В ноябре 1 и 2 декада характеризовались отсутствием осадков и низкой температурой. Следовательно, для активного развития микробного ценоза и процессов нитрификации погодные условия осени были благоприятными во второй половине августа, сентябре и октябре.

В результате в осенний период в межкулисных полосах и гребневых кулисах, где почва лучше прогрелась и сохранялась влага, а растительный материал размещался локально и частично был компостирован с почвой, процессы нитрификации протекали активнее. На этом фоне иммобилизация азота при разложении растительной массы была менее выраженной. Поэтому через месяц после основной обработки почвы в слое 0-30 см на межкулисных участках по гребнекулисной обработке нитратного азота накопилось 4,2 мг, в кулисе – 4,3 мг (рис. 1).

Большое количество растительной массы на поверхности поля (после озимой пшеницы по пару) в варианте с плоскорезным рыхлением обусловило разницу в содержании нитратного азота по сравнению с вариантом их локального размещения. Кроме того пожнивные остатки при поверхностном их размещении за счет более высокой отражающей способности при-

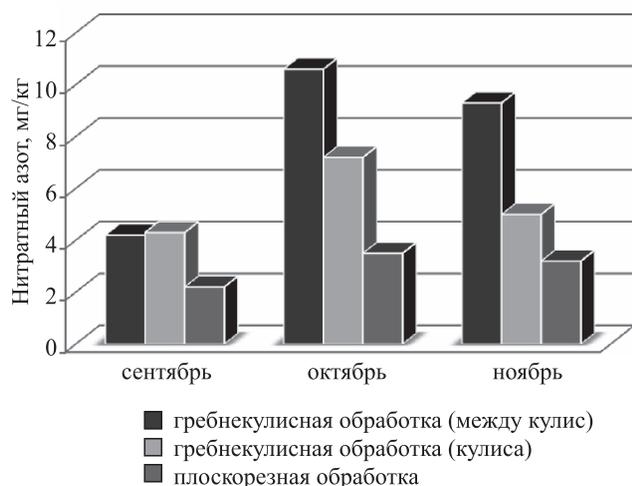


Рис. 1. Динамика содержания (мг/кг) нитратного азота в осенний период в зависимости от способа основной обработки почвы (слой 0-30 см).

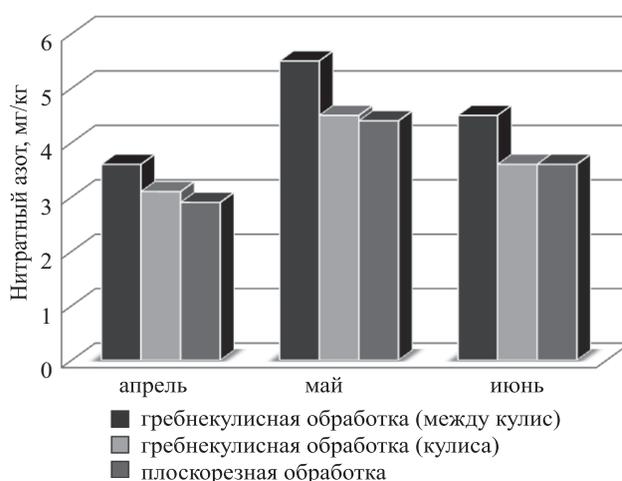


Рис. 2. Динамика содержания (мг/кг) нитратного азота в весенний период в зависимости от способа основной обработки почвы (слой 0-30 см).

водили к снижению температуры почвы, что замедляло активизацию аэробных почвенных микроорганизмов – нитрификаторов. В результате уровень содержания нитратного азота по безотвальному рыхлению в слое 0-30 см оказался низким и составил 2,2 мг/кг абсолютно сухой почвы, то есть темпы нитрификации были снижены, кроме того отмечена частичная иммобилизация азота при поверхностном размещении свежих растительных остатков.

Анализ данных последующего отбора почвенных образцов и определение в них содержания нитратного азота по вариантам основной обработки показали, что при гребнекулисной обработке между кулисами накопилось наибольшее количество нитратного азота – 10,6 мг/кг. Наличие свежего органического вещества по плоскорезному рыхлению и гребнекулисной обработке в кулисах замедляло процесс нитрификации, в результате содержание нитратного азота снизилось соответственно до 3,5 и 7,2 мг/кг.

В поздне-осенний период при определении содержания нитратного азота получена аналогичная зависимость. Ввиду снижения температурного режима количество нитратного азота уменьшилось во всех изучаемых вариантах и составило по плоскорезному рыхлению – 3,2 мг/кг, безотвальной гребнекулисной обработке между кулисами – 9,3 мг/кг и в кулисах – 5,0 мг/кг.

Весной содержание нитратного азота также зависело от размещения пожнивных остатков на поверхности пашни. По гребнекулисной обработке между кулисами при отсутствии на поверхности пожнивных остатков улучшались прогревание и аэрация почвы, что способствовало более ранней активизации нитрифицирующих микроорганизмов. Пожнивные остатки, размещенные на поверхности пашни при плоскорезной обработке и в кулисах при гребнекулисной обработке, ввиду их высокой отражающей способности снижали температуру почвы. В результате перед покровным боронованием содержание нитратного азота в пахотном слое по гребнекулисной обработке между кулисами было наибольшим – 3,6 мг/кг, по плоскорезному рыхлению и в кулисах по гребнекулисной обработке снижалось соответственно до 2,9 и 3,1 мг/кг (рис. 2).

В кущение яровой пшеницы содержание нитратного азота повышалось до максимальных значений с со-

хранением такой же зависимости по изучаемым вариантам. По гребнекулисной обработке между кулисами количество нитратного азота составило 5,5 мг/кг. При плоскорезном рыхлении и гребнекулисной обработке в кулисах в результате иммобилизации подвижного азота на разложение свежего органического вещества целлюлозоразрушающими микроорганизмами его содержание снижалось соответственно до 4,4 и 4,5 мг/кг. К началу колошения культуры в июне количество нитратного азота уменьшалось до 3,6-4,5 мг/кг с сохранением наблюдаемой зависимости по способам основной обработки почвы.

Результаты исследований по изучению влияния плоскорезной обработки почвы на динамику нитратного азота, выполненные в отделе земледелия НИИСХ Юго-Востока [15], согласуются с данными, полученными в нашем опыте. Для устранения отрицательного действия пожнивных остатков на процессы нитрификации мы предлагаем применять дисковое лущение перед безотвальной обработкой почвы и дополнительно вносить азотные удобрения.

Различное размещение пожнивных остатков при основной обработке почвы определяет направленность биологических процессов и условия минерализации нитратного азота. Исследования показали, что осенью максимальное содержание нитратного азота в пахотном слое накапливается при безотвальной гребнекулисной обработке и отсутствии пожнивных остатков между кулисами – 10,6 мг/кг. В зоне кулис, состоящих из смеси пожнивных остатков и почвы, при безотвальной обработке количество нитратов составило 7,2 и 3,5 мг/кг. Весной в период кущения яровой пшеницы эти показатели были соответственно равны – 5,5; 4,5 и 4,4 мг/кг. Поэтому если после уборки предшествующей культуры рано провести основную обработку, то появляется возможность использовать погодные условия осеннего периода (теплая, умеренно влажная осень) в разложении негумифицированного растительных остатков (по типу полупара) и переводе органического азота в минеральный. Для увеличения количества нитратного азота в пахотном слое к посеву полевых культур необходимо после уборки предшественника при выполнении безотвальной гребнекулисной обработки вносить в кулисы азотные удобрения и биопрепараты, ускоряющие процесс разложения пожнивных остатков.

Литература

1. Шабаетв А.И. Адаптивно-экологические системы земледелия в агроландшафтах Поволжья: Монография. – Саратов: ФГОУ ВПО «Саратовский ГАУ», 2003. – 320 с.
2. Денисов Е.П., Солодовников А.П., Биктеев Р.К. Эффективность энергосберегающих обработок почвы при возделывании яровой пшеницы // *Нива Поволжья*. – 2011. – N 3 (20). – С. 21-25.
3. Турусов В.И., Гармашов В.М. Минимизация основной обработки почвы в почвенно-климатических условиях Центрально-Черноземного региона // *Сельскохозяйственный журнал*. – 2019. – N 3 (12). – С. 37-46.
4. Каличкин В.К., Ким С.А. Безотвальная и комбинированная обработка в Западной Сибири // *Земледелие*. – 1996. – N 6. – С. 14-15.
5. Горянин О.И., Корчагин В.А. Влияние систем обработки почвы и технологий посева на эффективность возделывания зерновых культур в Среднем Заволжье // *Новости науки в АПК*. – 2018. – N 1 (10). – С. 38-41.
6. Кузина Е.В., Немцев С.Н. Итоги изучения различных систем обработки почвы в зернопаровом севообороте на черноземах Среднего Поволжья // *Сельскохозяйственный журнал*. – 2019. – N 5 (12). – С. 65-71.
7. Гребенников А.М., Исаев В.А., Гармашов В.М., Червердин Ю.И., Беспалов В.А. Влияние способов основной обработки почвы на агрохимические свойства миграционно-мицелярного агрочернозема Средне-Русской степной провинции // *Агрохимия*. – 2018. – N 7. – С. 22-27.
8. Казаков Г.И. Обработка почвы в Среднем Поволжье / *Проблемы повышения продуктивности полевых культур: сб. научных трудов*. – Кинель: Самарская государственная сельскохозяйственная академия, 1998. – С. 64-65.
9. Кузина Е.В. Особенности накопления элементов питания в почве при различных способах обработки // *Научная жизнь*. – 2017. – N 9. – С. 29-36.
10. Медведев И.Ф., Жолинский Н.М., Губарев Д.И., Корблева И.Н., Бузуева А.С. Методологические основы создания почвозащитных агротехнологий с использованием гребнекульсисной обработки почвы // *Аграрный научный журнал*. – 2017. – N 11. – С. 19-24.
11. Азизов З.М. Влияние приемов основной обработки почвы и последствий азотных удобрений на урожайность яровой пшеницы в севообороте по мере удаления от лесополосы // *Аграрный научный журнал*. – 2018. – N 10. – С. 3-7.
12. Патент РФ № 2564849, МПК А01В 79/02. Способ обработки почвы в паровом поле / Соколов Н.М., Шабаетв А.И., Стрельцов С.Б., Худяков В.В.; заявл. 18.03.14; опубл. 10.10.15, Бюл. № 28.
13. Патент РФ № 2612211, МПК А01В 13/16. Орудие для противозероизионной обработки почвы / Соколов Н.М., Стрельцов С.Б., Худяков В.В., Шабаетв А.И., Соколов В.Н. Заявлено 01.12.2015; Опубликовано 03.03.2017 Бюл. № 7.
14. Соколов Н.М., Стрельцов С.Б., Худяков В.В. Обработка почвы в паровом поле // «Успехи современного естествознания». – 2017. – N 11. – С. 49-54.
15. Азизов З.М., Фирсов А.И. Изменение содержания нитратного азота чернозема южного при обработке почвы на фоне внесения удобрений // *Вестник Саратовского госагроуниверситета*. – 2010. – N 10. – С. 3-7.

**Поступила в редакцию 06.07.20
Принята к публикации 20.07.20**

ОТЛИЧИТЕЛЬНЫЕ ПРИЗНАКИ РИЗОБИЙ ВИДОВ *Sinorhizobium fredii* И *Bradyrhizobium japonicum*, ОБИТАЮЩИХ В ДАЛЬНЕВОСТОЧНЫХ ПОЧВАХ

М.В. Якименко, С.А. Бегун, кандидаты биологических наук

Всероссийский научно-исследовательский институт сои,
675027, Амурская область, Благовещенск, Игнатьевское шоссе
E-mail: mariy-y@yandex.ru

С целью всестороннего изучения дальневосточных природных популяций клубеньковых бактерий сои во Всероссийском научно-исследовательском институте сои (г. Благовещенск) проведены лабораторные эксперименты по выявлению отличительных признаков ризобий видов *Sinorhizobium fredii* (Scholla, Elkan, 1984) и *Bradyrhizobium japonicum* (Jordan, 1982), выделенных в чистую культуру из почв соевообитающих регионов Дальнего Востока. Установлено, что штаммы вида *B. japonicum* в чашках Петри начинают рост на 7-10-е и даже 20-е сутки после посева, усваивают ограниченный набор источников углеродного питания с выделением продуктов метаболизма в основном щелочного характера, обладают пониженной осмоустойчивостью. Экстремальные условия среды обитания ризобии этого вида переносят плохо, резко замедляют рост на кислых и щелочных питательных средах, при высоких температурах (37-42 °С) не растут. В то же время в оптимальных условиях данный вид ризобий доминирует при нодуляции растений сои, обладая высокой и устойчивой вирулентностью. Рестриктивный анализ исследуемых штаммов *B. japonicum* подтвердил их идентичность. Штаммы вида *S. fredii* в чашках Петри дают рост на 2-4-е сутки после посева, хорошо усваивают широкий спектр источников углеродного питания с выделением продуктов метаболизма кислотного характера. Большинство штаммов этого вида обладает высокой осмоустойчивостью. В группе штаммов *S. fredii* выделены культуры с универсальными способностями роста при экстремальных условиях среды обитания (высокая температура, низкие и высокие показатели рН). Этот вид ризобий может доминировать при формировании симбиотического аппарата в годы с экстремальными погодными условиями. Анализ результатов ферментативного расщепления гена 16S рРНК исследуемых штаммов *S. fredii* рестриктазой HaeIII подтвердил их идентичность. С помощью RAPD-PCR анализа показана внутривидовая специфичность изучаемых штаммов *B. japonicum* и *S. fredii*, следовательно, виды обладают широким полиморфизмом, что свидетельствует о их популяционной гетерогенности.

DISTINCTIVE FEATURES OF RHIZOBIA SPECIES *Sinorhizobium fredii* AND *Bradyrhizobium japonicum* LIVING IN THE FAR EASTERN SOILS

Yakimenko M.V., Begun S.A.

All-Russian Scientific Research Institute of Soybean,
675027, Amurskaya oblast, Blagoveshchensk, Ignat'evskoe shosse, 19
E-mail: mariy-y@yandex.ru

In order to comprehensive study of the Far Eastern natural populations of soybean nodule bacteria, the All-Russian Scientific Research Institute of Soybean (FSBSI ARSRI of Soybean, Blagoveshchensk) carried out laboratory experiments to identify the distinctive features of rhizobia species *Sinorhizobium fredii* (Scholla, Elkan, 1984) and *Bradyrhizobium japonicum* (Jordan, 1982) Jordan, isolated in pure culture from soils of the Far Eastern regions engaged in soybean cultivation. As a result, it was found that in Petri dishes the strains of *B. japonicum* species make a growth on the 7-10th and even the 20th day after sowing, assimilate a limited set of carbon nutrition sources with the release of metabolic products of mainly alkaline nature, and have reduced osmotic resistance. The rhizobia of *B. japonicum* species poorly tolerate to the extreme environmental conditions, they sharply slow down growth (37-42 °C). At the same in acidic and alkaline nutrient medium. They do not grow at high temperatures time, under optimal conditions, this type of rhizobia dominates in the nodulation of soybean plants, having high and stable virulence. Restriction analysis of the being studied *B. japonicum* strains confirmed their identity. In Petri dishes the strains of *S. fredii* species make a growth on the 2nd – 4th day after sowing, they well assimilate a wide range of carbon nutrition sources with the release of acid metabolic products. Most strains of this species have high osmotic resistance. In the group of *S. Fredii* strains, cultures that have universal growth abilities under extreme environmental conditions (high temperature, low and high pH values) were identified. This type of soybean rhizobia can dominate at the formation of symbiotic apparatus in years with extreme weather conditions. Analysis of results of the enzymatic cleavage of the 16S rRNA gene of the studied *S. Fredii* strains by Hae III restriction enzyme confirmed their identity. The conducted RAPD-PCR analysis showed the intraspecific specificity of the studied *B. Japonicum* and *S. fredii* strains, therefore the species have a wide polymorphism that indicates the population heterogeneity of the species.

Ключевые слова: ризобии сои, *Bradyrhizobium japonicum*, *Sinorhizobium fredii*, штаммы, вирулентность, экстремальные условия, продукты метаболизма, рестриктивный анализ, RAPD-PCR анализ

Key words: soybean rhizobia, *Bradyrhizobium japonicum*, *Sinorhizobium fredii*, strains, virulence, extreme conditions, metabolic products, restriction analysis, RAPD-PCR analysis

Особенность дальневосточного региона – наличие в почвах природных популяций ризобий сои. Их высокая активность позволяет заниматься селекцией микроорганизмов-азотфиксаторов для дальнейшего использования в хозяйственных целях. Работа по подбору питательных сред, отработке и освоению методов аналитической селекции клубеньковых бактерий сои, в основу которых были положены идеи крупнейшей исследовательницы микробной азотфиксации – Е.М. Ми-

шустина, В.К. Шильниковой, Л.М. Доросинского, начата во ВНИИ сои в 70-е годы прошлого века [1, 2]. В чистую культуру ежегодно выделяли 11-95 штаммов ризобий сои, всего за годы исследований – свыше 2000 форм клубеньковых бактерий этой культуры [3]. До середины 80-х годов XX в. существовало мнение, что на сое могут формировать клубеньки только медленнорастущие ризобии – *Rhizobium japonicum* [4, 5]. Поэтому исследования ризобий на Дальнем Востоке до недав-

него времени ограничивались изучением лишь этого вида, хотя первые единичные формы быстрорастущих клубеньковых бактерий были отмечены во ВНИИ сои еще в 70-е годы прошлого века [6]. Многочисленные данные, полученные в результате использования современных методов определения генетического родства при изучении клубеньковых бактерий, позволили выделить из рода *Rhizobium* (Frank, 1889) два самостоятельных рода – *Bradyrhizobium* (Jordan, 1982) и *Sinorhizobium* (Chen et al., 1988) [7, 8]. Это послужило основанием при выделении чистых культур ризобий из дальневосточных природных популяций быстрорастущие формы относить к виду *Sinorhizobium fredii*, а медленно растущие – к виду *Bradyrhizobium japonicum* [9, 10]. В настоящее время коллекция чистых культур клубеньковых бактерий, нодулирующих сою Всероссийского научно-исследовательского института сои, насчитывает 289 штаммов [11].

Цель настоящей работы – выявить отличительные признаки штаммов ризобий сои видов *Bradyrhizobium japonicum* и *Sinorhizobium fredii*, выделенных из почв Дальнего Востока, и оценить популяционную изменчивость аборигенных ризобий с помощью рестриктазного и RAPD-PCR анализов для изучения видового разнообразия дальневосточных природных популяций клубеньковых бактерий сои.

Методика. Объектами исследований были чистые культуры ризобий сои двух видов – *Bradyrhizobium japonicum* и *Sinorhizobium fredii*, выделенных из природных популяций Российского Дальнего Востока. Типовой штамм для вида *B. japonicum* В-1967 получен в 2014 г. из Всероссийской коллекции микроорганизмов Института биохимии и физиологии имени Г.К. Скрыбина (г. Пушино), для вида *S. fredii* – в 1990 г. из китайской коллекции (штамм КНР6).

Лабораторные микробиологические эксперименты выполняли в соответствии с общепринятыми методами [12–14]. Использовали минерально-растительную питательную среду (МРС). При определении сроков появления и размеров колоний у соевых ризобий проводили глубокий микробиологический посев. Чувствительность ризобий к концентрации соли в среде оценивали по их способности расти на минимальной агаризованной питательной среде с различной концентрацией хлористого натрия. Для определения усвоения различных источников углеродного питания чистые культуры ризобий выращивали на МРС, где наряду с маннитом использовали другие углеродсодержащие соединения. Чтобы обнаружить изменение pH, к МРС добавляли индикатор бромтимоловый синий из расчета 5 мл 0,4%-ного спиртового раствора/л среды. Вирулентность коллекционных штаммов определяли методом выращивания бактеризованных семян в пробирках с питательной средой для растений [15].

Выделение и очистку хромосомной ДНК осуществляли фенольным методом [16, 17]. Полимеразную цепную реакцию (ПЦР) проводили на амплификаторе «GeneAmp PCR System 2700» (Applied Biosystems, США). Для амплификации генов 16S рРНК использовали универсальные зубактериальные праймеры: 5'-AGAGTTTGATCCTGGCTCAG-3' (27f, прямой праймер) и 5'-TACGGYTACCTTGTACGACTT-3' (1492g, обратный праймер) [18, 19]. Продукты ПЦР разделяли в 1%-ном агарозном геле с добавлением этидиума бромид в камере для электрофореза в 0,5-кратном буфере ТВЕ по стандартной методике [20]. Выделенные штаммы группировали на основе рестриктазного анализа генов 16S рРНК [21]. Продукты реакции разделяли методом электрофореза в электрофорезной камере («Helicon») в 1,3%-ном агарозном геле в буфере ТВЕ при напряжении 90 В. Обработку результатов

электрофореза осуществляли специализированной системой обработки изображений «ViTran» (Компания «Биоком», Москва).

RAPD-PCR анализ проводили с праймером M13 (5'-GAGGGTGGCGGTCT-3') [22]. ПЦР осуществляли в 25 мкл смеси, содержащей: 2,5 мкл 10-кратного ПЦР-буфера («Fermentas», Литва); 1,5 мкл 25 мМ MgCl₂; 2,5 мкл смеси из 4 дезоксирибонуклеозидтрифосфатов (2,5 мМ каждого); 10 пМ праймера; 0,1–0,5 мкг ДНК; 1U *Taq*-полимеразы («Fermentas», Литва). После предварительной денатурации (94 °С, 2 мин) проводили 30 циклов амплификации в следующих условиях: денатурация – 94 °С, 60 с; отжиг – 40 °С, 30 с; синтез – 72 °С, 120 с. Продукты ПЦР разделяли в 1,4%-ном агарозном геле с добавлением этидиума бромид в камере для электрофореза в 0,5-кратном буфере ТВЕ при напряжении 90 В. Визуализацию полос осуществляли в УФ-трансиллюминаторе.

Результаты и обсуждение. Штаммы амурской селекции вида *B. japonicum* начинали рост в чашках Петри на 7–10-е и даже 20-е сутки после посева, усваивали ограниченный набор источников углеродного питания с выделением продуктов метаболизма в основном щелочного характера, обладали пониженной осмоустойчивостью (табл.). Экстремальные условия среды обитания переносили плохо, резко замедляли рост на кислых и щелочных питательных средах и прекращали его при высоких температурах (37–42 °С). В то же время, в оптимальных условиях этот вид ризобий доминировал при нодуляции растений сои, обладая высокой и устойчивой вирулентностью.

Штаммы вида *S. fredii* в чашках Петри давали рост на 2–4-е сутки после посева, хорошо усваивали широкий спектр источников углеродного питания с выделением продуктов метаболизма кислотного характера. Большинство штаммов этого вида обладало высокой осмоустойчивостью. В группе штаммов *S. fredii* выделены культуры с универсальными способностями роста при экстремальных условиях среды обитания (высокая температура, низкие и высокие показате-

Отличительные признаки коллекционных штаммов ризобий сои видов *B. japonicum* и *S. fredii*, выделенных из почв Российского Дальнего Востока

№ п/п	Признак	Вид ризобий сои	
		<i>B. japonicum</i>	<i>S. fredii</i>
1	Срок появления колоний в чашках Петри, сутки	7–20	2–4
2	Изменение pH среды при выращивании	Подщелачивание (до 90% штаммов)	Подкисление (100%)
3	Усвоение углеродсодержащих соединений	Маннит, глюкоза	Монозы, олигосахара, многоатомные спирты и др.
4	Осмоустойчивость	Низкая	Высокая
5	Рост на кислых и щелочных средах	Прекращается или замедляется	Не изменяется или замедляется
6	Рост при повышенных температурах (37–42 °С)	Прекращается	Дают рост
7	Вирулентность и интенсивность клубенькообразования у сои	Высокая (до 100%)	Пониженная (10–100%)
8	Потеря способности образования клубеньков (вирулентности) у сои	Не теряют	Могут терять

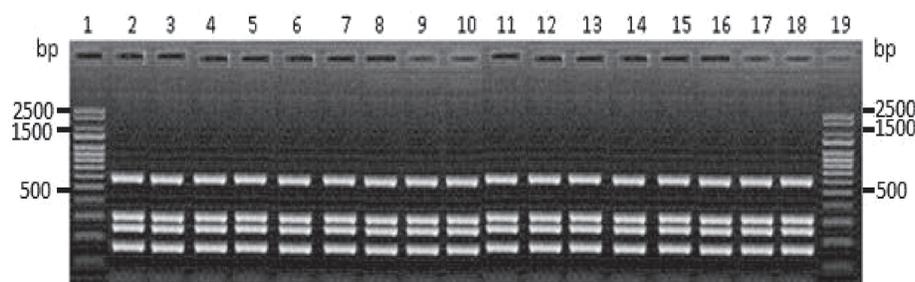


Рис. 1. Рестриктивный анализ амплифицированных генов 16S рРНК изучаемых штаммов *B. japonicum* с помощью эндонуклеазы *HaeIII*; дорожки 2-18 – рестриктивные профили штаммов: 2 – В-1967, 3 – СМ-42к, 4 – СМ-46, 5 – ММ-121, 6 – БМ-91, 7 – Буд-63, 8 – ТС-196, 9 – 648а, 10 – ТМ-437, 11 – МС-63, 12 – АС-17, 13 – ММ-117, 14 – ТА-125, 15 – ТА-40, 16 – ММ-125, 17 – ММ-124, 18 – БМ-58; дорожки 1, 19 – маркер молекулярных масс в парах нуклеотидов (bp) («Fermenas», Литва).

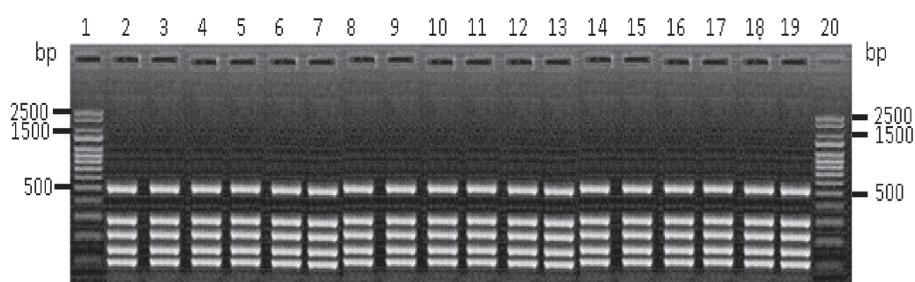


Рис. 2. Рестриктивный анализ амплифицированных генов 16S рРНК изучаемых штаммов *S. fredii* с помощью эндонуклеазы *HaeIII*; дорожки 2-19 – рестриктивные профили штаммов: 2 – КНР6, 3 – МБ-85к, 4 – ББ-87к, 5 – СБ-51к, 6 – КБ11, 7 – ТБ-491, 8 – СБ-43к, 9 – ТБ-524к, 10 – ББ-55к, 11 – ОБ-42, 12 – ТБ-522, 13 – ТБ-365, 14 – ТБ-398, 15 – СБ-38, 16 – ТБ-508, 17 – ТБ-587, 18 – ТБ-467к, 19 – ББ-90к; дорожки 1, 20 – маркер молекулярных масс в парах нуклеотидов (bp) («Fermenas», Литва).

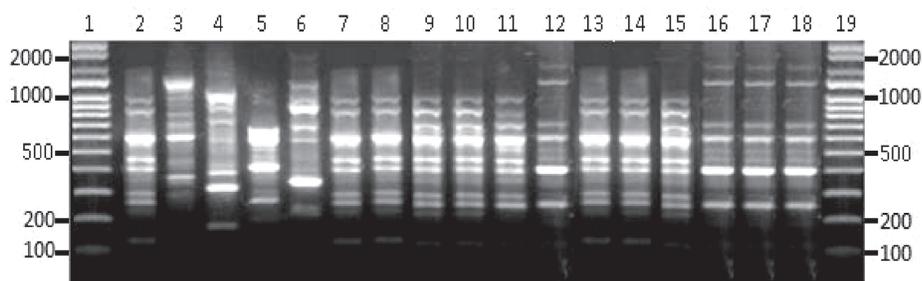


Рис. 3. RAPD-PCR анализ ДНК изучаемых штаммов *B. japonicum* с праймером М13; дорожки 2-18 – профили штаммов (см. подпись к рис. 1); дорожки 1, 19 – маркер молекулярных масс в парах нуклеотидов (bp) («Fermenas», Литва).

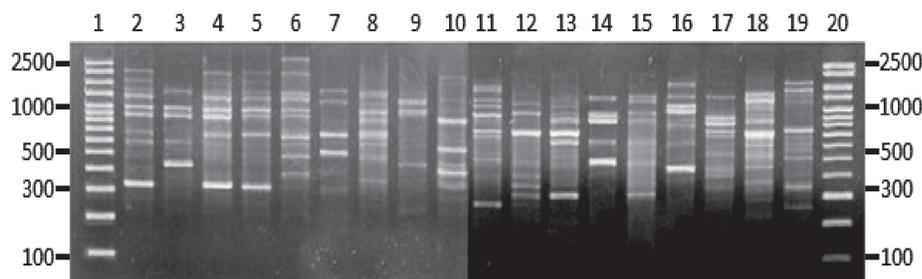


Рис. 4. RAPD-PCR анализ ДНК изучаемых штаммов *S. fredii* с праймером М13; дорожки 2-19 – профили изучаемых штаммов (см. подпись к рис. 2); дорожки 1, 20 – маркер молекулярных масс в парах нуклеотидов (bp) («Fermenas», Литва).

ли рН). Штаммы этого вида обладают пониженной вирулентностью в сравнении с видом *B. japonicum* и способностью терять вирулентность в процессе пересевов. При формировании симбиотического аппарата в годы с экстремальными погодными условиями данный вид ризобий сои может доминировать.

Для оценки популяционной изменчивости аборигенных ризобий были исследованы 35 коллекционных штаммов видов *B. japonicum* и *S. fredii* селекции ВНИИ сои с помощью рестриктивного и RAPD-PCR анализов. В качестве контролей привлекали типовые культуры: штамм В-1967 для вида *B. japonicum*, штамм КНР6 – для вида *S. fredii*.

С целью дифференциации изолятов провели сравнительный анализ фрагментов рестрикции генов 16S рРНК. Известно, что размер амплифицированного с применением универсальных зубактериальных праймеров гена 16S рРНК у всех бактерий составляет около 1450 пар нуклеотидов (п.н.). Однако нуклеотидные последовательности этого участка гена у разных видов бактерий различаются. С помощью эндонуклеаз рестрикции можно различить бактерии, относящиеся к разным видам.

Гель-электрофорез продуктов рестрикции штаммов *B. japonicum* представлен на рис. 1. Результаты сравнительного анализа полученных фрагментов позволили выявить рестриктивные профили амплифицированных генов 16S рРНК длиной 150, 250, 300 и 600 п.н. Следовательно, анализ результатов ферментативного расщепления гена 16S рРНК исследуемых штаммов *B. japonicum* рестриктазой *HaeIII*, подтвердил их идентичность.

Гель-электрофорез продуктов рестрикции штаммов *S. fredii* представлен на рис. 2. Результаты сравнительного анализа полученных фрагментов позволили выявить рестриктивные профили амплифицированных генов 16S рРНК длиной 100, 150, 200, 300 и 600 п.н. Таким образом, анализ результатов ферментативного расщепления гена 16S рРНК исследуемых штам-

мов *S. fredii* рестриктазой *HaeIII* подтвердил их идентичность.

Применение одного рестриктазного анализа может не выявить полиморфизм при дифференциации близкородственных организмов. Поскольку рестриктазные профили генов 16S рРНК у всех изучаемых штаммов *V. japonicum* и *S. fredii* были идентичными, для оценки популяционной изменчивости использовали более чувствительный метод – RAPD-ПЦР. Все продукты амплификации имели длину 100-2000 п.н. и давали 6-10 продуктов/штамм.

По результатам фингерпринтов исследуемые штаммы *V. japonicum* разделили на 5 групп (рис. 3). Идентичные RAPD-профили были получены для девяти штаммов: В-1967, Буд-63, ТС-196, 648а, ТМ-437, МС-63, ММ-117, ТА-125 и ТА-40, их отнесли к группе I. Ко второй группе отнесли четыре штамма: ММ-125, ММ-124, БМ-58 и АС-17. По одному представителю групп III, IV и V составили штаммы СМ-42к, СМ-46 и ММ-121 соответственно.

Проведенный RAPD-анализ свидетельствует о том, что имеются существенные различия и между исследуемыми штаммами *S. fredii* (рис. 4). Все продукты амплификации имели длину 100-2000 п.н. и давали 5-11 продуктов/штамм. Идентичные RAPD-профили были получены для штаммов КНР6, СБ-43к, ТБ-491, отнесенных к группе I. Ко второй группе отнесены штаммы ТБ-522 и СБ-38. У остальных 13 штаммов *S. fredii* RAPD-профили были полностью не идентичны. RAPD-PCR анализ показал внутривидовую специфичность изучаемых штаммов, следовательно, виды обладают широким полиморфизмом.

Таким образом, выявлено значительное межвидовое различие по культурально-биохимическим свойствам штаммов *V. japonicum* и *S. fredii* дальневосточной селекции. В экстремальных условиях среды обитания штаммы быстрорастущего вида *S. fredii* обладают более высокой устойчивостью к жизнедеятельности, чем штаммы медленно растущего вида *V. japonicum*. Однако в оптимальных условиях штаммы *V. japonicum* сохраняют высокие показатели вирулентности.

Рестриктазный анализ амплифицированных генов 16S рРНК изучаемых штаммов *V. japonicum* и *S. fredii* подтвердил их видовую идентичность. Используя более чувствительный метод – RAPD-PCR анализ ДНК, удалось отнести штаммы *V. japonicum* к 5 группам. При этом штаммы вида *S. fredii* оказались более разнообразными, что говорит о популяционной гетерогенности видов. Оказалось, что дальневосточные природные популяции более разнообразны по видовому составу.

Литература

1. Доросинский Л.М. Клубеньковые бактерии и нитрагин. – Л.: Колос, 1970. – 192 с.
2. Мишустин Е.Н., Шильникова В.К. Клубеньковые бактерии и инокуляционный процесс. – М.: Наука, 1973. – 340 с.
3. Тильба В.А., Бегун С.А., Якименко М.В. Природные популяции ризобий сои и их использование в соевых агроценозах // Инновационная деятельность аграрной науки в Дальневосточном регионе: Сб. науч. тр./ Россельхозакадемия. Дальневост. региональный науч. центр. Примор. НИИСХ. – Владивосток: Дальнаука, 2011. – 362 с.
4. Баймиев Ан.Х., Гуменко Р.С., Матниязов Р.Т., Чубукова О.В., баймиев Ал.Х. Современная систематика клубеньковых бактерий // Биомика. – 2013. – Т. 5. – № 3-4. – С. 136-157.
5. Shamseldin A., Abdelkhalek A., Sadowsky M.J. Recent changes to the classification of symbiotic, nitrogen-fixing, legume-associating bacteria: a review // Symbiosis. – 2017. – V. 71. – P. 91-109.
6. Бегун С.А., Тильба В.А. Быстрорастущие формы клубеньковых бактерий сои в почвах Приамурья // Бюл. ВИР. Санкт-Петербург, 1992. – Вып. 220. – С. 78-85.
7. Акимов Е.С., Гуменко Р.С., Вершинина З.Р., Баймиев Ал.Х., Баймиев Ан.Х. Маркеры для поиска клубеньковых бактерий на основе симбиотических генов // Микробиология. – 2017. – Т. 86. – № 5. – С. 621-628.
8. Frugoli J., Dickstein R., Udvardi M.K., Roy S., Liu W., Sekhar Nandety R., Crook A., Mysore K.S., Pislariu C.I. Celebrating 20 Years of Genetic Discoveries in Legume Nodulation and Symbiotic Nitrogen Fixation // Plant Cell. – 2020. – V. 32. – P. 15-41.
9. Scholla M., Elkan G.H. *Rhizobium fredii* sp. nov., a fastgrowing species that effectively nodulates soybeans // Internat. J. System. Bacteriol. – 1984. – V. 34. – N 4. – P. 484-486.
10. Jordan D.C. Transfer of *Rhizobium japonicum*, Buchanan 1980 to *Bradyrhizobium* gen. nov., a genus of slow growing root nodule bacteria of leguminous plants // Internat. J. System. Bacteriol. – 1982. – V. 32. – N 1. – P. 136-139.
11. Якименко М.В., Бегун С.А. Основные направления исследований дальневосточных природных популяций ризобий // Вестник ДВО РАН. – 2016. – № 2. – С. 45-49.
12. Микробиология: практикум / Л.С. Лавренчук, А.А. Ермошин; М-во науки и высш. образования Рос. Федерации, Урал. федер. ун-т. – Екатеринбург: Изд-во Урал. ун-та, 2019. – 107 с.
13. Практикум по микробиологии / Под ред. В.А. Шильниковой. – М.: Дрофа, 2004. – 256 с.
14. Лабораторный практикум по микробиологии: учебное пособие / Н.А. Клёнова. – Самара: Изд-во «Самарский университет», 2012. – 102 с.
15. Бегун С.А. Способы, приемы изучения и отбора эффективных штаммов клубеньковых бактерий сои. Методы аналитической селекции. – Благовещенск: Зезя, 2005. – 70 с.
16. Ausubel F.H., Brent R., Kingston R.E., Moore D.D., Seidman J.G., Smith J.A., K. Struhl K. Current protocols in Molecular Biology // John Wiley and Son. – 1994.
17. Петров Д.Г., Макарова Е.Д., Гермаш Н.Н., Антифеев И.Е. Методы выделения и очистки ДНК из лизатов клеток (обзор) // Научное приборостроение. – 2019. – Т. 29. – № 4. – С. 28-50.
18. Versalovic J., Schneider M., Bruijn F.J., Lupski J.R. Genomic fingerprinting of bacteria using repetitive sequence-based polymerase chain reaction // Meth. Cell. Mol. Biol. – 1994. – N 5. – P. 25-40.
19. Lane D.E. 16S/23S rRNA sequencing // Nucleic acid techniques in bacterial systematics / Eds. Stacebrandt E., Goodfellow M. New York: Wiley, 1991. – P. 115-147.
20. Sambrook J., Fritsch E.F., Maniatis T. Molecular cloning: a laboratory manual. N.Y.: Cold Spring Harbor, 1989. – 279 p.
21. Savelkoul P.H., Aarts H.J., J. de Haas, Dijkshoorn L., Duim B., Otsen M., Rademaker J.L., Schouls L., Lenstra J.A. Amplified-fragment length polymorphism analysis: the state of an art // J. Clin. Microbiol. – 1999. – N 37. – P. 3083-3091.
22. Torriani S. Use of PCR-Based Methods for Rapid Differentiation of *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* and *L. delbrueckii* subsp. *Lactis*. // J. Appl. and Env. Microb. – 1999. – V. 65. – N 10. – P. 4351-4356.

Поступила в редакцию 26.02.20
После доработки 02.03.20
Принята к публикации 10.04.20

Животноводство

УДК 338.439.4:637.5'62:636.082.265

DOI: 10.31857/S2500262720060101

**ЭФФЕКТИВНОСТЬ ПРОИЗВОДСТВА ГОВЯДИНЫ
ПРИ ИСПОЛЬЗОВАНИИ ПРОМЫШЛЕННОГО СКРЕЩИВАНИЯ****И.П. Прохоров¹**, доктор сельскохозяйственных наук,
О.А. Калмыкова¹, А.Н. Пиккуль², кандидаты сельскохозяйственных наук, **А.В. Александров¹**¹Российский государственный аграрный университет – МСХА имени К.А. Тимирязева,
127550, Москва, ул. Тимирязевская, 49²Тульский научно-исследовательский институт сельского хозяйства –
филиал Федерального исследовательского центра «Немчиновка»,
301493, Тульская область, Плавский район, пос. Молочные Дворы, ул. Садовая, 7
E-mail: iprohorov@rgau-msha.ru

Цель работы состояла в изучении эффективности производства говядины при интенсивном выращивании и откорме симментальских и помесных бычков. Для проведения исследования были сформированы 3 группы животных по 15 голов в каждой. В первую (контрольную) группу были включены чистопородные бычки симментальской породы. Вторую (опытную) группу формировали из молодняка, полученного при скрещивании симментальских коров с быками мясной симментальской породы немецкой селекции. В третью (опытную) группу вошли помеси симментальских коров с быками породы шароле. Животные 2 и 3 групп отличались более низкими затратами корма на 1 кг прироста живой массы – 8,5 и 8,1 ЭКЕ, в то время как бычки 1 группы затрачивали 8,7 ЭКЕ. Это повлияло на уровень рентабельности производства говядины: при выращивании шаролезских помесей он составил 20,7%, что выше, чем у бычков 1 и 2 групп на 6,8 и 3%. Откорм до 18-месячного возраста способствовал существенному увеличению массы жира в тушах, вследствие чего соотношение белок : жир составило в группах в порядке возрастания их номеров 1:0,84; 1:0,75 и 1:0,68. При интенсивном выращивании и откорме симментальские бычки 1 группы к 15-месячному возрасту достигли требуемого качества говядины. При откорме до 18-месячного возраста мясо помесных бычков 2 и 3 групп достигает требуемого соотношения белка и жира, а мясо бычков материнской породы следует считать чрезмерно жирным, поскольку содержание жира значительно превышает норму. Интенсивное выращивание и откорм бычков симментальской породы до 15-месячного возраста, а ее помесей с мясной симментальской немецкой селекции и шаролезской до 18-месячного возраста, обеспечивают получение тяжеловесных туш с требуемым качеством мяса.

BEEF PRODUCTION EFFICIENCY USING COMMERCIAL CROSS BREEDING**Prohorov I.P.¹, Kalmykova O.A.¹, Pikul A.N.², Aleksandrov A.V.¹**¹Russian State Agrarian University – RTSAU named after K.A. Timiryazev,
127550, Moscow, ul. Timiryazevskaya, 49²Tula Scientific Research Institute of Agriculture – Federal research centre branch “Nemchinovka”,
301493, Tulskaia oblast, Plavskij rajon, Molochnie Dvory, ul. Sadovaya, 7
E-mail: iprohorov@rgau-msha.ru

Beef production efficiency when using intensive rearing and fattening both Simmental and mixed bred bull-calves study is the aim of the research article. Three groups of animals with fifteen heads in each were formed in order to carry out an investigation. There were purebred bull-calves of Simmental breed in the first, control group. The second, experiment group was formed from young animals obtained from crossing Simmental cows with bulls of beef Simmental breed of German animal breeding. Crossbreeds of Simmental cows with Charollais bulls were included in the third experiment group. The animals of the second and the third group were characterized by lower feed cost per one kilo of live weight gain – 8.5 and 8.1 EKE, whereas the bull-calves of the first group spent 8.7 EKE. This influenced the beef production profitability level: when rearing Charollais crossbreeds it was equal to 20.7% which is higher than in bull-calves of the first and the second groups by 6.8 and 3%. Fattening till 18 month age favoured considerable fat content in bull-calves carcasses resulting in protein: fat ratio being in groups in the order of increasing their numbers 1: 0.84; 1: 0.75; and 1: 0.68. Being reared and fattened intensively Simmental bull-calves of the first group reached the required beef quality by 15 month old age. When fattening by 18 month old age meat of the second and the third group cross bred bull-calves reaches the required protein: fat ratio, and the meat of maternal breed bull-calves should be considered as too fat since fat content in their meat significantly exceeds the required rate. Intensive fattening and rearing bull-calves of Simmental breed to 15 month old age and its crossbreeds with beef Simmental German and Charollais breeds to 18 month old age provide obtaining heavy carcasses with required meat quality.

Ключевые слова: симментальская порода, шароле, промышленное скрещивание, мясная продуктивность, экономическая эффективность**Key words:** Simmental breed, Charollais, commercial cross breeding, meat productivity, economic efficiency

Производство мяса и мясopодуктов является самым крупным сегментом отечественного продовольственного рынка как по емкости, так и по числу участников. Его ведущая роль определяется не только объемами производства и потребления мяса, но и значимостью как основного источника белка животного

происхождения в рационе человека [1, 2]. В современных условиях низкая экономическая эффективность производства говядины, по сравнению с другими отраслями животноводства, обусловлена значительными затратами кормов и труда на единицу продукции. Так, по данным ряда исследователей, если затраты кормов на 1 кг пищевых веществ при производстве говядины

принять за 100%, то затраты для образования такого же количества питательных веществ при производстве молока, яиц, свинины и мяса птицы составляют соответственно 13, 26, 29 и 36% [3]. Кроме этого, относительно невысокая экономическая эффективность производства мяса крупного рогатого скота связана с несовершенством производственно-экономических отношений между хозяйствами, специализирующимися на производстве говядины, с одной стороны, и предприятиями по ее переработке и реализации, с другой. Так, при убыточности производства говядины в большинстве хозяйств, московские мясокомбинаты имеют до 100% прибыльности по отдельным видам продукции [4].

Экономическую эффективность производства говядины можно повысить за счет увеличения производительности труда на основе использования высокоинтенсивных технологий выращивания и откорма молодняка крупного рогатого скота, уменьшения затрат на единицу продукции, сокращения нерациональных затрат, а также улучшения качества продукции. Последнее является наиболее предпочтительным, поскольку при практически одинаковых затратах кормов и труда высококачественная говядина имеет новые потребительские свойства, определяющие более высокую реализационную стоимость, что позволяет этому продукту успешно конкурировать на рынке, увеличивая свою долю в нем.

Мировой опыт показывает, что удовлетворение спроса на говядину невозможно без развития специализированного мясного скотоводства. Доля животных мясных пород в общем поголовье крупного рогатого скота в странах с развитым животноводством составляет от 40 до 85% [5]. Нарращивание поголовья мясного скота, численность которого в РФ достигла 2,26 млн голов, возможно не только методом чистопородного разведения животных специализированных мясных пород [6]. Перспективным является путь использования промышленного скрещивания коров молочного и молочно-мясного направления продуктивности с быками специализированных мясных пород с целью получения помесного потомства, отличающегося высокой энергией роста, скороспелостью, лучшими качественными характеристиками мяса по сравнению с животными материнской породы [7]. Симментальский скот широко задействован в промышленном скрещивании с герефордской, лимузинской, шаролезской, абердин-ангусской и другими мясными породами [8-11].

Существующая система оценки и классификации животных и туш не способствует стимулированию роста производства говядины, поскольку в оценке качества мяса, как правило, заложены субъективные принципы, предусматривающие использование визуальных и органолептических методов. В частности, показатель отложения жира признан основным, что не может отвечать современным требованиям потребителя [12]. Для стимулирования производства говядины и улучшения ее качества разработаны новые критерии оценки животных и туш, максимально приближенные к международным стандартам [13].

Цель работы состояла в изучении эффективности производства говядины при интенсивном выращивании и откорме симментальских и помесных бычков.

Методика. Работа выполнена в Тульском НИИСХ – филиале Федерального исследовательского центра «Немчиновка». Для проведения исследований были сформированы 3 группы бычков по 15 голов в каждой. Комплектование групп проводили методом пар-аналогов с учетом происхождения, возраста и мас-

сы при рождении. В первую (контрольную) группу были включены чистопородные бычки симментальской породы. Вторую (опытную) группу формировали из молодняка, полученного при скрещивании симментальских коров с быками мясной симментальской породы немецкой селекции. В третью (опытную) группу вошли помеси симментальских коров с быками породы шароле. Выбор пород, задействованных в настоящих исследованиях, базировался на практических потребностях отдела животноводства Тульского НИИСХ, в котором назрела необходимость создания товарного мясного стада на основе имеющегося маточного поголовья симментальской породы молочно-мясного направления продуктивности.

Молодняк всех групп выращивался от рождения до 18-месячного возраста в одинаковых условиях кормления и содержания. Телят от рождения до отъема в 7-месячном возрасте выращивали по технологии мясного скотоводства. Содержание коров с телятами до второй половины мая было стойловым, до октября месяца – пастбищным. После отъема от матерей молодняк был переведен на привязное содержание. Уровень кормления животных был интенсивным и рассчитан по нормам ВИЖ для получения среднесуточных приростов 1000-1100 г и достижения живой массы в возрасте 18 месяцев 550-600 кг. Учет потребленного корма проводили еженедельно путем взвешивания заданных кормов и их остатков. Прирост живой массы бычков контролировали путем ежемесячного взвешивания.

Контрольные убои были проведены на Тульском мясокомбинате. При рождении было убито по 1 бычку из каждой группы, в возрасте 6, 12 и 15 месяцев – по 3 головы, в 18 месяцев – по 5 голов. Определяли предубойную массу, массу парной туши, внутреннего жира, убойную массу и убойный выход. Туши бычков оценивали по развитости мускулатуры и степени отложения жира.

Эффективность выращивания и откорма молодняка крупного рогатого скота определяли на основании данных расхода кормов, производственных затрат, учета заработной платы, а также денежных средств, полученных при реализации животных на мясо. Реализационную стоимость животных устанавливали с учетом живой массы, массы парной туши, развитости мускулатуры и степени отложения жира. Для оценки экономической эффективности выращивания и откорма молодняка произведены расчеты затрат кормов на получение единицы прироста живой массы, чистого дохода по разнице затрат на выращивание одного животного и денежных средств, полученных при реализации его на мясо, уровня рентабельности производства говядины.

Результаты и обсуждение. Выращивание молодняка по технологии мясного скотоводства на подсосе под коровами и высокий уровень кормления обеспечили интенсивный рост бычков всех групп. Шаролезские помеси отличались наибольшей живой массой, которая в возрасте 12, 15 и 18 месяцев достигла соответственно 431,9; 523,4 и 620,6 кг, что на 7,8; 7,5 и 10,2% больше, чем у чистопородных симментальских сверстников. Различия по величине этого показателя между бычками 1 и 2 групп во все возрастные периоды были незначительны. Абсолютный прирост живой массы от рождения до 18-месячного возраста у молодняка 3 группы составил 578,8 кг, что на 32,4 и 56,4 кг больше, чем у бычков 2 и 1 групп.

Скрещивание с шароле позитивно сказалось на послеубойных характеристиках помесей. Установлено, что масса парной туши животных 3 группы в 12, 15 и

18-месячном возрасте составила соответственно 240,0; 303,6 и 355,4 кг, что на 24,9; 39,2 и 50,8 кг больше, чем у сверстников материнской породы ($P < 0,01$ – $P < 0,001$). Бычки 2 группы по величине массы парной туши занимали промежуточное положение.

Затраты питательных веществ на единицу прироста – один из важных показателей оценки экономической эффективности выращивания и откорма животных. Это связано с тем, что значительный удельный вес затрат в стоимостном выражении при выращивании и откорме молодняка крупного рогатого скота приходится на долю кормов. Из приведенных на рисунке 1 данных видно, что с возрастом затраты кормов на 1 кг прироста живой массы у животных всех групп увеличивались. Так, если от рождения до отъема бычков в возрасте 7 месяцев затраты кормов на 1 кг прироста составили 4,4-4,5 ЭКЕ, то в период от 9 до 12 месяцев – 8,0-9,0 ЭКЕ, а в конце опытного периода – 13,1-16,4 ЭКЕ. Это обусловлено возрастными изменениями обмена веществ в организме животных и интенсификацией отложения жира в их теле, а следовательно, повышением калорийности единицы прироста. Значительный расход кормов на единицу прироста (15,07-16,34 ЭКЕ) установлен у животных в возрасте от 7 до 9 месяцев, что совпало с отлучением бычков от матерей, воздействием отъемного стресса.

Влияние отъемного стресса выразилось в значительном снижении среднесуточных приростов и в потерях живой массы бычков. Так, если уровень среднесуточных приростов за месяц до отъема был достаточно высоким (950-1202 г), то за первый месяц после отлучения молодняка от матерей он снизился в группах в порядке возрастания их номеров до 236; 173 и 40 г соответственно. Потери в живой массе за месяц после отъема в 1 группе составили 20,9 кг, а во 2 и 3 группах – соответственно 24,7 и 32,8 кг. Значительное снижение интенсивности роста бычков после отъема, по-видимому, обусловлены влиянием комплекса стресс-факторов. Они привели к проявлению психосоциального стресса, вызванного отлучением телят от коров, который требует значительных энергетических затрат организма. Кроме того, потери в живой массе могут быть обоснованы изменением характера кормления и, как следствие этого, длительной перестройкой не только пищеварительной системы животных в связи с переходом с молочного-травяного кормления в пастбищный период на концентратно-силосно-сенной тип кормления в стойловый период, но и сообщества микроорга-

низмов желудочно-кишечного тракта, что находит подтверждение в работах [14, 15]. Молодняк в этот период также подвергся технологическому стрессу, связанному с переводом животных с круглосуточного пастбищного содержания на привязный способ с ограничением движения, что влечет за собой гиподинамию.

Относительно высокая энергия роста помесных бычков 2 и 3 групп способствовала снижению затрат кормов на единицу прироста живой массы. Расход кормов на единицу прироста за весь период опыта у бычков материнской породы составил 8,7 ЭКЕ, у помесей 2 и 3 групп – соответственно 8,5 и 8,1 ЭКЕ. Относительно низкая оплата корма приростом у бычков материнской породы, по-видимому, связана с более интенсивным депонированием жира в их теле, особенно с большим отложением внутреннего жира. Помеси 2 и 3 групп наследовали биологические особенности отцовских пород длительное время наращивать активные ткани при незначительном отложении жира.

Поскольку с возрастом подопытного молодняка существенно увеличивались затраты кормов на единицу прироста живой массы, это существенно сказалось на себестоимости 1 ц прироста, что, в свою очередь, повлияло на уровень рентабельности производства говядины. Величина, характеризующая окупаемость затрат, была наибольшей в группе шаролезских помесей (20,7%), а у сверстников 1 и 2 групп она составила соответственно 13,9 и 17,7% (рис. 2).

Хотя затраты кормов на единицу прироста живой массы бычков были наименьшими в период от рождения до 7 месяцев, тем не менее уровень рентабельности производства говядины при убое бычков в возрасте 6 месяцев был отрицательным от -7,6 до -10,5%, т.е. выращивание молодняка до полугодовалого возраста убыточно. Это в определенной степени противоречит представлению о повышении рентабельности при снижении затрат на единицу прироста. Однако следует отметить, что реализационная стоимость туш 6-месячных бычков значительно ниже таковой туш животных в возрасте 15-18 месяцев. С возрастом бычков уровень рентабельности производства говядины повышался и был наибольшим при реализации 15-месячного молодняка. К концу опытного периода величина этого показателя у бычков материнской породы снизилась до 13,9, а у помесей 2 и 3 групп – соответственно до 17,7 и 20,5%, что обусловлено значительными затратами кормов вследствие интенсификации отложения жира в их теле.

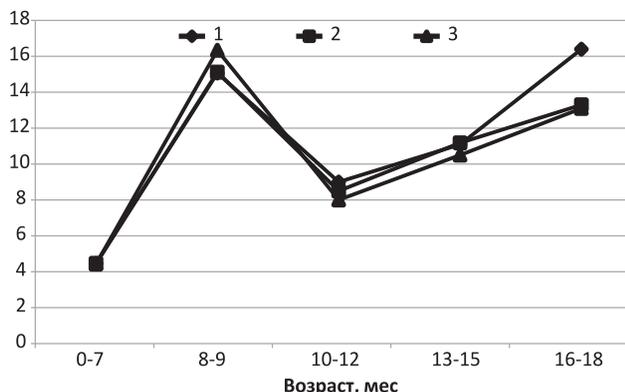


Рис. 1. Затраты корма на 1 кг прироста живой массы, ЭКЕ.

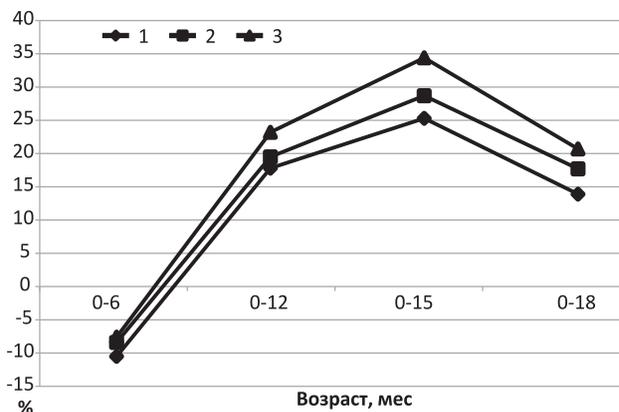


Рис. 2. Возрастная динамика уровня рентабельности производства говядины.

В мясной промышленности придается важное значение законченности откорма, характеризующейся оптимальным соотношением белка и жира в мясе на уровне 1:0,70-0,75. Соотношение абсолютной массы белка и жира в тушах 15-месячных бычков 1 группы составило 1:0,74, а помесей 2 и 3 групп – 1:0,57 и 1:0,54 соответственно. Из приведенных данных видно, что бычки материнской породы к 15-месячному возрасту достигли оптимального соотношения белка и жира в туше. Величина указанного показателя у помесей 2 и 3 групп в этом возрасте была ниже оптимального соотношения на 0,13-0,16 единиц.

Откорм до 18-месячного возраста способствовал существенно увеличению массы жира в тушах бычков, вследствие чего соотношение белок : жир составило в группах в порядке возрастания их номеров 1:0,84; 1:0,75 и 1:0,68. Анализ данных, характеризующих законченность откорма, показал, что при интенсивном выращивании и откорме симментальские бычки к 15-месячному возрасту достигли требуемого качества говядины. При откорме до 18-месячного возраста мясо помесных бычков 2 и 3 групп характеризуется оптимальным соотношением белка и жира, а мясо бычков материнской породы следует считать чрезмерно жирным, поскольку содержание жира значительно превышает требуемые нормы.

Таким образом, интенсивное выращивание и откорм бычков симментальской породы до 15-месячного возраста, а ее помесей с мясной симментальской немецкой селекции и шаролеизской до 18-месячного возраста, обеспечивают получение тяжеловесных туш с требуемым качеством мяса, относительно низкими затратами корма на единицу прироста живой массы при увеличении уровня рентабельности выращивания молодняка. Наиболее выгодным для хозяйства было интенсивное выращивание и откорм симментал х шаролеизских помесей ввиду наибольшей способности их к длительному и интенсивному росту без излишнего отложения жира и лучшей оплате корма приростом.

Литература

1. *Ежегодник по племенной работе в мясном скотоводстве в хозяйствах Российской Федерации (2018 год)*. – М.: Издательство ФГБНУ ВНИИ плем, 2019. – 442 с.
2. Ахметов Р.Г., Стратонович Ю.Р. Современное состояние и возможности устойчивого обеспечения населения России продукцией скотоводства. – М.: Издательство РГАУ-МСХА имени К.А. Тимирязева, 2012. – 204 с.
3. Чинаров Ю.И. Основы оптимизации отраслевой структуры животноводства // *Зоотехния*. – 2005. – №5. – С. 2-6.
4. Орехов С.А. Принципы повышения экономической эффективности животноводства // *Зоотехния*. – 2004. – №3. – С. 20-24.
5. Дунин И.М. Племенные ресурсы специализированного мясного скотоводства – основа интенсивного производства говядины в России // *Зоотехния*. – 2018. – №2. – С. 2-4.
6. Дунин И.М., Тяпугин С.Е., Мещеров Р.К., Ходыков В.П., Аджибеков В.К., Тяпугин Е.Е., Дюльдина А.В. Состояние мясного скотоводства в Российской Федерации: реалии и перспективы // *Молочное и мясное скотоводство*. – 2020. – №2. – С.2-7.
7. Прохоров И.П., Калмыкова О.А. Особенности роста и развития скелета симментальских и помесных бычков, выращиваемых на мясо // *Российская сельскохозяйственная наука* // 2020. – №2. – С. 58-61.
8. Лукьянов В., Прохоров И. Влияние скрещивания симментальских коров с быками мясных пород на качество мяса помесного молодняка // *Главный зоотехник*. – 2017. – № 9. – С. 40-49.
9. Прохоров И.П., Лукьянов В.Н., Пикуль А.Н. Рост, развитие и мясная продуктивность бычков симментальской породы и ее помесей с герфордской и шаролеизской // *Известия Тимирязевской сельскохозяйственной академии*. – 2014. – №4. – С.74-89.
10. Косилов В.И., Заднепрнянский И.П., Салихов А.А., Жуков С.А. Использование лимузинского, симментальского и бестужевского скота в мясном скотоводстве: монография. – Оренбург: ИПК «Газпром-печать», 2013. – 313 с.
11. Горлов И.Ф., Сложеникина М.И., Молосова Н.И., Кайдулина А.А., Гришин В.С., Бармина Т.Н. Хозяйственно-биологические особенности коров симментальской, герфордской пород и их помесей // *Молочное и мясное скотоводство*. – 2019. – №4. – С. 16-18.
12. Легошин Г.П., Могиленец О.Н., Афанасьева Е.С., Миттельштейн Т.М. Стандартизация высококачественной говядины в России // *Молочное и мясное скотоводство*. – 2014. – №3. – С. 2-3.
13. ГОСТ 34120-2017 Крупный рогатый скот для убоя. Говядина и телятина в тушах, полутушах и четвертинах. Технические условия [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <http://docs.cntd.ru/document/556309575>.
14. Ажмулдинов Е.А., Кизаев М.А., Титов М.Г., Бабичева И.А. Влияние различных стресс-факторов на организм сельскохозяйственных животных // *Животноводство и кормопроизводство*. – 2018. – Т.101. – №2. – С. 79-89.
15. Ляпина В.О., Ляпин О.А., Ибрагимов М.З. Сокращение потерь мясной продукции при отъеме телят от коров и последующих стрессах в период выращивания и реализации бычков // *Известия Оренбургского государственного аграрного университета*. – 2013. – №4. – С. 243-246.

Поступила в редакцию 15.06.20
После доработки 20.08.20
Принята к публикации 09.09.20

АССОЦИАЦИЯ ГАПЛОТИПА ФЕРТИЛЬНОСТИ HCD С МОЛОЧНОЙ ПРОДУКТИВНОСТЬЮ И РЕПРОДУКТИВНЫМИ КАЧЕСТВАМИ ГОЛШТИНСКИХ КОРОВ*

М.В. Позовникова, кандидат биологических наук,
О.К. Васильева, кандидат сельскохозяйственных наук,
О.В. Митрофанова, кандидат биологических наук

*Всероссийский научно-исследовательский институт генетики и разведения сельскохозяйственных животных – филиал Федерального научного центра животноводства – ВИЖ имени академика Л.К. Эрнста, 196601, Санкт-Петербург, Пушкин, Московское ш., 55а
E-mail: pozovnikova@gmail.com*

Представлены результаты исследования коров голштинской породы на предмет носительства гаплотипа фертильности HCD (haplotype cholesterol deficiency), ассоциированного с гибелью плода на различных сроках пренатального и ранних сроках постнатального онтогенеза. Изучены хозяйственно-полезные признаки животных, несущих в своем гено типе дефект HCD. В выборку (n = 583) вошли животные 2007–2017 гг. рождения племенного хозяйства Ленинградской области. Проведена сравнительная оценка животных HCD⁺ (носитель генетического дефекта дефицит холестерина) и HCD⁻ (не носитель генетического дефекта дефицит холестерина) по показателям молочной продуктивности и репродуктивным качествам. Материалом для исследования послужила ДНК, выделенная из крови животных. Генотипы определяли методом полимеразной цепной реакции с использованием аллельспецифичных праймеров. Обнаружено, что 35 животных (6,0%) имели в своем гено типе мутантный аллель гена Apob. Эти коровы не уступали по племенной ценности по удою, процентному содержанию жира и белка своим сверстницам, свободным от изучаемого генетического дефекта. Коровы HCD⁺ 2014 г. рождения отличались более высокими показателями содержания белка (3,29 ± 0,05%) в сравнении с коровами HCD⁻ (3,17 ± 0,01%). Для плодотворного осеменения коров-носителей HCD, рожденных в 2013 г. (n = 11) и 2014 г. (n = 11), использовали меньшие спермодозы, что значительно повлияло на сроки первого плодотворного осеменения. Коровы 2014 г. рождения, несущие в своем гено типе мутантный аллель гена Apob, имели меньшую продолжительность сервис-периода в сравнении со своими сверстницами. Использование коров HCD⁺ не влияет на общую продуктивность и фертильность стад. Однако необходимо своевременно выявлять и регистрировать животных с положительным статусом по HCD⁺. Такой учет позволит уменьшить число носителей данного генетического дефекта в последующих поколениях.

ASSOCIATION OF HCD FERTILITY HAPLOTYPE WITH MILK PRODUCTION AND REPRODUCTIVE QUALITIES OF HOLSTEIN COWS

Pozovnikova M.V., Vasileva O.K., Mitrofanova O.V.

*Russian Research Institute of Farm Animal Genetics and Breeding – Branch of the L.K. Ernst Federal Science Center for Animal Husbandry, 196601, St. Petersburg, Pushkin, Moskovskoe sh., 55a
E-mail: pozovnikova@gmail.com*

The paper presents the results of studies of Holstein cows and first-calf heifers for carriage of the haplotype cholesterol deficiency (HCD) fertility haplotype associated with fetal death at various stages of prenatal and early postnatal ontogenesis. The economically useful traits of animals carrying the HCD defect in their genotype have been studied. The sample of studies (n = 583) included animals born in 2007–2017 of the breeding farm of the Leningrad region. A comparative assessment of HCD⁺ (a carrier of a genetic defect, cholesterol deficiency) and HCD⁻ (not a carrier of a genetic defect, cholesterol deficiency) animals was carried out in terms of milk production and reproductive qualities. The material for the study was DNA isolated from animal blood. Animal genotypes were determined by polymerase chain reaction using allele-specific primers. It was found that 35 animals (6.0%) had a mutant allele of the Apob gene in their genotype. These cows were not inferior in terms of breeding value in terms of milk yield, percentage of milk fat and milk protein to their peers who were free from the studied genetic defect. Cows HCD⁺ 2014 differed in higher absolute indicators of the percentage of protein (3.29 ± 0.05%) in comparison with cows HCD⁻ (3.17 ± 0.01%). For fruitful insemination of HCD cows born in 2013 (n = 11) and 2014 (n = 11), fewer sperm doses were used, which significantly influenced the timing of the first fruitful insemination. Cows born in 2014 individuals carrying the mutant allele of the Apob gene in their genotype had a shorter service period in comparison with their peers. The use of HCD⁺ cows does not affect the overall performance and fertility of the herds. However, it is necessary to timely identify and register animals with a positive status for HCD⁺. Such accounting will reduce the number of carriers of this genetic defect in subsequent generations.

Ключевые слова: дефицит холестерина, крупный рогатый скот, молочная продуктивность, фертильность, ген Apob, АС-ПЦР

Key words: cholesterol deficiency, cattle, milk production, fertility, Apob gene, AS-PCR

На протяжении последних 50 лет в Ленинградской области при использовании генофонда голштинской породы создана одна из лучших племенных баз молочного животноводства России. Современная популяция черно-пестрого скота со значительной долей кровности

по голштинам отличается высокой молочной продуктивностью. Отмечено, что генетический тренд у коров новой генерации 2002-2010 гг. рождения увеличивался от 93,6 кг до 382,4 кг молока в сравнении с продуктивностью базовой популяции [1]. Однако на фоне возрас-

*Исследование выполнено при финансовой поддержке Минобрнауки России по темам Государственного задания АААА-А18-118021590138-1.

тания уровня показателей молочной продуктивности наблюдалось снижение воспроизводительных качеств коров [2], что в значительной степени связано с генетическими факторами [3].

В настоящее время зарегистрировано 12 гаплотипов фертильности голштинского скота (НН0-НН7, НСD, ННВ, ННС, ННD), ассоциированных с эмбриональной смертностью или гибелью телят в постнатальный период [4, 5]. Особое место в ряду рецессивных генетических дефектов занимает гаплотип дефицита холестерина (НСD, haplotype cholesterol deficiency). Причиной НСD является инсерция LTR (Long Terminal Repeats) эндогенного ретровируса типа ERV2-1 в пятом экзоне гена *ApoB* на ВТА 11. Вследствие чего происходит сдвиг рамки считывания, образование стоп-кодона и усечение 97% белка аполипопротеина В. В результате нарушения синтеза АРОВ происходит прекращение выведения хиломикрона из кишечных клеток и, как следствие, мальабсорбция холестерина [6].

Общая клиническая картина данного заболевания у телят впервые описана в 2016 г. [7]. У больных животных наблюдали выраженную задержку роста, видимое истощение при нормальном аппетите и потреблении корма, идиопатическую диарею, обезвоживание, ломкость и сухость шерстного покрова. Результаты клинического исследования крови выявляли лейкоцитоз и пониженный уровень гемоглобина, биохимический профиль отличался гипохолестеринемией, низким уровнем липопротеинов низкой плотности и жирорастворимых витаминов А и Е, гипокалиемией. Результаты патологоанатомического вскрытия телят показали изменения в кишечнике, характерные для идиопатической диареи, выраженную кахексию, признаки атрофии костного мозга. Гистологическими исследованиями отмечена атрофия адипоцитов в жировой ткани и ткани костного мозга. Животные с данными показателями нежизнеспособны и умирают или подвергаются эвтаназии. Как родоначальник мутации определен бык Maughlin Storm №5457798 [6]. По данным канадской молочной организации (CDN, Canadian Dairy Network) в настоящее время это самый распространенный генетический дефект, и его частота в голштинских стадах Канады в 2019 г. составила 14,3%.

Быстрым и эффективным способом снижения числа вредных рецессивных аллелей в геноме популяции является исключение быка-носителя генетического дефекта из системы искусственного осеменения. Но такая мера имеет и ряд негативных последствий, поскольку приводит к снижению генетического прогресса и уменьшению числа производителей в программах разведения. Американскими исследователями было показано, что в США использование знаменитого быка Pawnee Farm Arlinda Chief (1962 г. рождения), оказавшегося носителем гаплотипа НН1, увеличило прибыль от надоя молока на 25 миллиардов долларов, в тоже время экономические потери вследствие абортос составили 0,4 миллиарда долларов [8].

С расширением возможностей геномных исследований молочного скота список обнаруженных генетических дефектов постоянно увеличивается. Встает вопрос о возможности использования в стадах животных-носителей рецессивных аллелей. В связи с этим изучение хозяйственно-полезных признаков коров, несущих в своем генотипе дефект НСD, представляет научный и практический интерес.

Цель исследования – проанализировать встречаемость генетического дефекта НСD и провести сравнительную оценку выборки коров голштинской породы с

учетом статуса по НСD по показателям воспроизводства и молочной продуктивности.

Методика. Исследования проведены в 2018-2019 гг. в лаборатории молекулярной генетики Всероссийского научно-исследовательского института генетики и разведения сельскохозяйственных животных – филиала Федерального научного центра животноводства – ВИЖ имени академика Л.К. Эрнста (ВНИИГРЖ). Анализировали случайную выборку коров голштинской породы 2007-2017 гг. рождения (n = 583) из племенного хозяйства Ленинградской области.

Материалом для исследования послужила ДНК, выделенная из лейкоцитов крови. Забор крови проводили с использованием вакуумной системы Vacuette в пробирки с антикоагулянтом К3ЭДТА. Генотипы животных определяли методом полимеразной цепной реакции с использованием аллельспецифичных праймеров (АС-ПЦР). Последовательность праймеров (ООО «Бигль», г. Санкт-Петербург): прямой F1: 5'GGTGACCATCCTCTCTCTGC3' – обеспечивает амплификацию фрагмента 249 п. н., прямой F2: 5'CACCTTCCGCTATTCGAGAG3' – обеспечивает амплификацию фрагмента 436 п. н. при наличии вставки мобильного LTR-элемента в гене *ApoB* и общего обратного праймера R: 5'AGTGGAACCCAGCTCCATTA3' [9]. Реакцию проводили на амплификаторе Thermal Cycler C1000 (Bio-Rad, США) в режиме: денатурация 94 °C – 4 мин, 35 циклов в режиме 94 °C – 1 мин, отжиг праймеров 62 °C – 30 сек, элонгация при 72 °C – 1 мин, конечный этап синтеза 72 °C – 4 мин. Электрофоретическое разделение ампликонов проводили в 1,5%-ном агарозном геле с добавлением флуоресцентного красителя бромистого этидия и фотографировали при УФ-свете.

Для проведения сравнительной оценки по абсолютным показателям молочной продуктивности и репродуктивным качествам животные разделены на группы в зависимости от года рождения, чтобы исключить

Табл. 1. Показатели молочной продуктивности коров с различным статусом по дефициту холестерина НСD

Год рождения	Статус по НСD	n	Удой за первые 305 дней лактации, кг	Содержание жира, %	Содержание белка, %
Показатели молочной продуктивности по годам					
2012	HCD ⁺	5	11037 ± 969	3,63 ± 0,18	3,12 ± 0,05
	HCD ⁻	63	10523 ± 213	3,69 ± 0,02	3,17 ± 0,01
2013	HCD ⁺	11	9314 ± 505	3,68 ± 0,08	3,14 ± 0,03
	HCD ⁻	141	9983 ± 138	3,60 ± 0,02	3,15 ± 0,01
2014	HCD ⁺	11	8928 ± 512	3,67 ± 0,09	3,29 ± 0,05**
	HCD ⁻	192	9307 ± 102	3,69 ± 0,02	3,17 ± 0,01
2015	HCD ⁺	6	9034 ± 847	3,23 ± 0,18	3,11 ± 0,05
	HCD ⁻	89	9381 ± 162	3,41 ± 0,03	3,04 ± 0,01
Племенная ценность					
HCD ⁺		34	-56,51 ± 77,05	-0,01 ± 0,02	0,01 ± 0,01
HCD ⁻		519	24,09 ± 15,85	-0,001 ± 0,01	-0,002 ± 0,002

** p < 0,01

Здесь и далее: HCD⁺ – носитель генетического дефекта дефицит холестерина; HCD⁻ – не носитель генетического дефекта дефицит холестерина

Табл. 2. Показатели репродуктивных качеств коров различного статуса по HCD

Год рождения	Статус по HCD	n	Возраст 1-го осеменения, мес	Возраст 1-го плодотворного осеменения, мес	Кратность осеменения перед 1-ым отелом	Кратность осеменения в 1-ую лактацию	Продолжительность сервис-периода, дн
2012	HCD ⁺	5	16,2 ± 0,5	17,0 ± 0,7	1,4 ± 0,4	2,0 ± 0,3	136,6 ± 15,4
	HCD ⁻	63	15,8 ± 0,2	16,3 ± 0,3	1,5 ± 0,1	1,8 ± 0,1	138,1 ± 11,2
2013	HCD ⁺	11	13,9 ± 0,1	14,0 ± 0,1	1,1 ± 0,1	2,3 ± 0,4	166,9 ± 32,6
	HCD ⁻	141	14,1 ± 0,1	14,8 ± 0,1***	1,6 ± 0,1*	1,9 ± 0,1	162,3 ± 10,4
2014	HCD ⁺	11	14,2 ± 0,2	14,3 ± 0,2	1,2 ± 0,1	1,9 ± 0,3	111,6 ± 15,7
	HCD ⁻	192	14,1 ± 0,1	14,8 ± 0,1*	1,6 ± 0,1*	1,8 ± 0,1	172,0 ± 8,2***

*** p < 0,001; * p < 0,05

влияние факторов окружающей среды (рацион кормления, климат), а также влияние быка-производителя. Индивидуальные данные взяты из племенных карточек формы 2МОЛ. Учитывали следующие показатели: удой за первые 305 дней 1-ой законченной лактации; процентное содержание жира и белка в молоке; возраст 1-го осеменения; возраст 1-го плодотворного осеменения; кратность осеменения перед первым отелом; кратность осеменения в 1-ую лактацию; продолжительность сервис-периода. Для комплексной оценки по признакам молочной продуктивности рассчитывали племенную ценность (ПЦ) коров по удою с помощью компьютерной программы «СГС-ВНИИГРЖ» [10], а также процентное содержание жира и белка. Определение связи между генотипами коров в зависимости от статуса HCD проводили путем вычисления достоверности разности между средними значениями с применением критерия Стьюдента. Статистическую обработку данных выполняли с использованием компьютерных программ Microsoft Excel и AtteStat.

Результаты и обсуждение. На предмет носительства дефицита холестерина HCD протестировано 583 животных, что составило 64,8% от маточного поголовья коров и 28,5% от всего поголовья в анализируемом хозяйстве. Результаты показали, что 35 голов (6,0%) имели в своем генотипе мутантный аллель гена *Aprob*. Анализируя данные по частоте встречаемости HCD в стадах голштинского скота, разводимого в разных странах мира, отмечена значительная доля носительства – от 5 до 17% [11, 12]. Проведенные ранее исследования на примере другого хозяйства Ленинградской области также показали высокую частоту встречаемости HCD у маточного поголовья (7,76%), у телок в возрасте 3-16 месяцев, происходящих от быков гетерозиготных носителей HCD – 26,7%. Также выявлена одна телочка с гомозиготным генотипом по HCD [13, 14].

Сравнительную оценку по ряду хозяйственно ценных признаков проводили в выборках коров 2012-2015 гг. рождения с законченной 1-ой лактацией. Результаты показали, что коровы, несущие в своем генотипе мутантный аллель гена *Aprob*, не уступали по показателям молочной продуктивности своим сверстницам, свободным от данного генетического дефекта (табл. 1). При этом в выборке коров 2014 г. рождения животные HCD⁺ отличались достоверно более высокими показателями процентного содержания белка (p < 0,01). Подобное влияние было выявлено и ранее при анализе голштинского скота разных стран [15-17]. Такое превосходство может быть обусловлено тем, что зачастую быки-производители с высокой племенной ценностью могут нести в своем генотипе мутантный аллель, а интенсивное

их использование в системе искусственного осеменения России не только способствует генетическому прогрессу в популяции, но и приводит к эффекту генетической эрозии [4]. Отмечено, что наличие мутации в гене *Aprob* не нарушает продуктивность у гетерозиготных голштинских коров [17].

Анализ репродуктивных качеств животных (табл. 2) показал, что для плодотворного осеменения коров-носителей HCD 2013 и 2014 гг.

рождения использовали меньше спермодоз (p < 0,001), что значительно влияло на сроки первого плодотворного осеменения (p < 0,001 и 0,05). Среди коров 2014 г. рождения животные, несущие в своем генотипе мутантный аллель гена *Aprob*, имели более короткие сроки сервис-периода в сравнении со своими сверстницами (p < 0,001). По остальным показателям не было определено достоверных различий. Полученные данные согласуются с результатами других исследователей [15, 16], где также показано отсутствие негативного влияния гаплотипа фертильности HCD на репродуктивные качества голштинских коров.

В проведенных ранее исследованиях [17] не выявлено каких-либо фенотипических особенностей у разновозрастных коров, в том числе и у содержания холестерина и триглицеридов в крови. Мы предположили, что положительный статус коровы по HCD не может быть причиной ее выбраковки из стада, но при подборе быка-производителя особенно важно учитывать статус обоих родителей по HCD для снижения риска рождения нежизнеспособного потомства.

Наличие мутантного аллеля гена *Aprob* (дефицит холестерина, HCD) в геноме коров голштинской породы не оказывает негативного влияния на молочную продуктивность и репродуктивные качества животных. Но при воспроизводстве стада необходимо учитывать животных с положительным статусом по HCD⁺ для контроля генетического дефекта в стадах и снижения риска рождения больных телят.

Литература

1. Племашов К.В., Лабинов В.В., Сакса Е.И., Смарагдов М.Г., Кудинов А.А., Петрова А.В. Использование метода *Blup Animal Model* в определении племенной ценности голштинизированного скота Ленинградской области // *Молочное и мясное скотоводство*. – 2016. – № 1. – С. 2-5.
2. Сакса Е.И. Использование оценок быков-производителей по индексам плодovitости их дочерей в улучшении воспроизводительной способности животных голштинской породы // *Молочное и мясное скотоводство*. – 2019. – № 8. – С. 14-18.
3. Терлецкий В.П., Деметьева Н.В., Тыщенко В.И., Митрофанова О.В., Крутикова А.А., Зозуля О.К., Бейшова И.С. Распространение летальных рецессивных мутаций у племенного крупного рогатого скота в Ленинградской области // *Ветеринария*. – 2016. – № 3. – С. 37-41.
4. Зиновьева Н.А. Гаплотипы фертильности голштинского скота // *Сельскохозяйственная биология*. – 2016. – Т. 5. – № 4. – С. 423-435.

5. Escoufflaire H. C., Mesbah-Uddin C., Barbat M., Boussaha A., Deloche M. C., Boichard D., Fritz S., Capitan A. A splice site mutation in CENPU is associated with recessive embryonic lethality in Holstein cattle // *Journal of Dairy Science*. – 2020. – V. 103. – No 1. – P. 607-612.
6. Schütz E., Wehrhahn C., Wanjek M., Bortfeld R., Wemheuer W. E., Beck J., Brenig B. The Holstein Friesian Lethal Haplotype 5 (HH5) results from a complete deletion of TBF1M and cholesterol deficiency (CDH) from an ERV-(LTR) insertion into the coding region of APOB // *PloS ONE*. – 2016. – V. 11. – No 4. – e0154602.
7. Kipp S., Segelke D., Schierenbeck S., Reinhardt F., Reents R., Wurmser C., Pausch H., Fries R., Thaller G., Tetens J., Pott J., Haas D., Raddatz B.B., Hewicker-Trautwein M., Proios I., Schmicke M., Grünberg W. Identification of a haplotype associated with cholesterol deficiency and increased juvenile mortality in Holstein cattle // *Journal of Dairy Science*. – 2016. – V. 99. – No 11. – P. 8915-8931.
8. Segelke D., Täubert H., Reinhardt F., Thaller G. Considering genetic characteristics in German Holstein breeding programs // *Journal of Dairy Science*. – 2016. – V. 9. – No 1. – P. 458-467.
9. Kamiński S., Ruś A. Cholesterol Deficiency—new genetic defect transmitted to Polish Holstein-Friesian cattle // *Polish Journal of Veterinary Sciences*. – 2016. – V. 19. – No 4. – P. 885-887.
10. Сергеев С.М., Тулинова О.В. Селекционно-генетическая статистика – ВНИИГРЖ. Свидетельство о государственной регистрации программы для ЭВМ РФ, №. 2015663613, 2015.
11. Menzi F., Besuchet-Schmutz N., Fragnière M., Hofstetter S., Jagannathan V., Mock T., Raemy A., Studer E., Mehinagic K., Regenscheit N., Meylan M., Schmitz-Hsu F., Drögemüller C. A transposable element insertion in APOB causes cholesterol deficiency in Holstein cattle // *Animal Genetics*. – 2016. – V. 47. – No 2. – P. 253-257.
12. Li Y., Fang L., Liu L., Zhang S., Ma Z., Sun D. The cholesterol-deficiency associated mutation in APOB segregates at low frequency in Chinese Holstein cattle // *Canadian Journal of Animal Science*. – 2018. – V. 99. – No 2. – P. 332-335.
13. Позовникова М.В., Лихачева Т.Е., Кудинов А.А., Лейбова В.Б., Дементьева Н.В. Мутация HCD у российских голштинизированных черно-пестрых коров не влияет на молочную продуктивность и содержание холестерина и триглицеридов в крови // *Сельскохозяйственная биология*. – 2018. – Т.53. – № 6. – С. 1142-1151.
14. Лихачева Т.Е., Позовникова М.В. Влияние гаплотипа «дефицит холестерина» (HCD) на интенсивность прироста живой массы телок голштинской породы // *Известия Оренбургского государственного аграрного университета*. – 2019. – № 1 (75). – С. 166-168.
15. Wang M., Do D.N., Peignier C., Dudemaine P.L., Schenkel F.S., Miglior F., Zhao X., Ibeagha-Awemu E.M. Cholesterol deficiency haplotype frequency and its impact on milk production and milk cholesterol content in Canadian Holstein cows // *Canadian Journal of Animal Science*. – 2020. – <https://doi.org/10.1139/CJAS-2019-0068>.
16. Gross J.J., Schwinn A.C., Schmitz-Hsu F., Barenco A., Neuenschwander T.O., Drögemüller C., Bruckmaier R.M. The APOB loss-of-function mutation of Holstein dairy cattle does not cause a deficiency of cholesterol but decreases the capacity for cholesterol transport in circulation // *Journal of Dairy Science*. – 2019. – V. 102. – No 11. – P. 10564-10572.
17. Позовникова М.В., Лихачева Т.Е., Ширяев Г.В. Влияние мутации дефицит холестерина на репродуктивные качества коров голштинизированной черно-пестрой породы // *Генетика и разведение животных*. – 2018. – № 2. – С. 61-66.

Поступила в редакцию 25.07.20

После доработки 26.08.20

Принята к публикации 03.09.20

АМИНОКИСЛОТНЫЙ СОСТАВ И БИОЛОГИЧЕСКАЯ ЦЕННОСТЬ БЕЛКОВ МОЛОКА КОРОВ ЧЕРНО-ПЕСТРОЙ ПОРОДЫ И ЕЕ ПОМЕСЕЙ С МОНБЕЛЬЯРДСКОЙ

Г.Н. Левина, доктор сельскохозяйственных наук,
М.Г. Максимчук, аспирант, В.М. Артюх, доктор сельскохозяйственных наук

Федеральный научный центр животноводства – ВИЖ имени академика Л.К. Эрнста,
142132, Московская область, Дубровицы
E-mail: gnlevina@yandex.ru

Актуальность исследований заключается в поиске селекционных приемов повышения массовой доли белка и его биологической ценности в молоке коров черно-пестрой породы. Цель исследований – изучение аминокислотного состава и биологической ценности белка молока коров черно-пестрой породы и ее помесей с монбельярдской для определения перспективности использования последней в коммерческих стадах черно-пестрого скота. Установили, что массовая доля белка в молоке помесных полукровных животных (½МБх½ЧП) составляла 3,50%, что выше, чем у сверстниц черно-пестрой породы, на 0,26%. При полном наборе и практически равной доле незаменимых аминокислот в белке молока помесных и чистопородных коров – по 48,0%, помесные, уступаая по содержанию триптофана, имели достоверное превосходство по незаменимым аминокислотам: изолейцину, лизину, тирозину, треонину и заменимым: аланину, аргинину и аспарагиновой кислоте + аспарагин. Это дает основание рекомендовать использование монбельярдских в коммерческих стадах коров черно-пестрой породы для повышения массовой доли белка и улучшения его аминокислотного состава.

AMINO ACID COMPOSITION AND BIOLOGICAL VALUE OF PROTEINS MILK FROM BLACK-AND-WHITE COWS AND THEIR CROSSBREDS FROM MONTBELIARD

Levina G.N., Maksimchuk M.G., Artyukh V.M.

Federal Science Center for Animal Husbandry,
142132, Moskovskaya oblast, Dubrovitsi
E-mail: gnlevina@yandex.ru

The relevance of research is to search for selection methods to increase the mass fraction of protein and its biological value in the milk of Black-and-white cows. The purpose of the research was to study the amino acid composition and biological value of milk protein in cows of modern Black-and-white breed and its crossbreeds with the Montbeliard breed to determine the prospects of using this breed in commercial herds of Black-and-white breed. It was found that the mass fraction of protein in the milk of crossbred animals (½MB½BaW) was 3.50%, which is higher than that of peers of the Black-and-white breed by 0.26%. With a full set and almost equal proportion of essential amino acids in the milk protein of crossbred and purebred cows – 48.0%, crossbred, inferior in terms of tryptophan, had a significant superiority in essential amino acids: isoleucine, lysine, tyrosine, threonine and interchangeable: alanine, arginine and aspartic acid + asparagine. This makes it possible to recommend the use of Monbellards in commercial herds of black-and-white cows to increase the mass fraction of protein in milk and improve the amino acid composition of its protein.

Ключевые слова: черно-пестрая порода, монбельярдская порода, генотипы, аминокислоты, биологическая ценность белков, аминокислотный коэффициент усвояемости белков

Key words: Black-and-white breed, Montbeliard breed, genotypes, amino acids, biological value of proteins, amino acid coefficient of protein assimilation

Черно-пестрая порода в Российской Федерации по численности поголовья занимает первое место, составляя 51,01% [1]. Совершенствование ее на протяжении почти четырех десятилетий осуществлялось при использовании голштинской породы в качестве улучшающей. Однако в процессе работы с отечественной черно-пестрой породой зачастую игнорировали функциональные особенности голштинов, которые привели к сокращению продуктивного долголетия, изменению качественного состава молока и другим негативным проявлениям [2, 3]. Сложившиеся обстоятельства вызвали необходимость поиска новых эффективных приемов селекции молочного скота, разработкой которых озадачены ученые разных стран [4, 5]. В последнее время проявился глобальный интерес к такому направлению в селекции как скрещивание молочных пород, в частности и голштинской, с комбинированными породами (симментальской, монбельярдской, бурой швицкой), что позволило улучшить у потомства состав молочных компонентов, воспроизводительные качества, продуктивное долголетие, функциональное состояние, устойчивость коров к метаболическим и неинфекционным заболеваниям [6, 7].

Принимая во внимание позитивный мировой опыт использования на молочных породах монбельярдской (МБ), нами был поставлен эксперимент по скрещиванию монбельярдских быков с черно-пестрыми коровами в нашей стране. В числе изучаемых аспектов была массовая доля белка в молоке и его биологическая ценность, так как белок находится на первом месте селекционного приоритета и в значительной степени генетически детерминирован [8, 9].

В питании человека и животных важнейшей эволюционно-выработанной составляющей является потребность в белке и, прежде всего, в эссенциальных (незаменимых) аминокислотах. Являясь мономерными звеньями белков, аминокислоты представляют собой исходные вещества для синтеза белка и в значительной степени определяют его свойства. Из 20 аминокислот, присутствующих в пищевых белках, часть из них являются незаменимыми для человека (лейцин, изолейцин, лизин, метионин, цистеин, фенилаланин, тирозин, треонин, триптофан, валин, гистидин). Источником полноценного белка являются продукты животного происхождения, которые усваиваются организмом че-

ловека на 93-96%. Уникальность молока как пищевого продукта заключается в том, что оно практически полностью снабжает организм незаменимыми питательными веществами, причем в той форме, которая обеспечивает процесс их усвоения пищеварительной системой. Белки молока, в отличие от фибриллярных белков мяса, являясь глобулярными и присутствуют в коллоидной форме. Величина и структура мицелл казеина обеспечивает возможность их коагуляции в желудке, предотвращая быстрый переход большой массы белка в толстый кишечник.

В молоке содержится больше таких незаменимых аминокислот как метионин, триптофан, изолейцин, чем в рыбе, мясе и растительных белках. Протеины молока выполняют разнообразные жизненные функции: являются основой структурных единиц (белок клеточных мембран), участвуют в передаче информации (гормоны), защите организма (лизоцим, иммуноглобулин) и другие. Молочные белки являются источником не только незаменимых аминокислот, но и минеральных веществ. В белке оболочек жировых шариков содержится значительное количество фосфолипидов, аргинина и треонина – аминокислот, нормализующих процессы роста и развитие организма. Доля молочных белков от общего количества потребляемого протеина в развитых странах составляет для взрослых около 20%, для детей дошкольного возраста – около 50-60%, в развивающихся странах – менее 6% [10].

Белки оценивают по их биологической ценности, которая определяется тем количеством белков организма, которое может быть синтезировано из 100 г протеина, поступившего с пищей. Белки молока имеют высокую биологическую ценность, уступая по этому качеству только яичным белкам.

Цель исследований – изучение аминокислотного состава и биологической ценности белка молока коров черно-пестрой породы и ее помесей с монбельярдской для определения перспективы использования последней в коммерческих стадах черно-пестрого скота, имеющего высокую кровность по голштинам.

Методика. Экспериментальные исследования проводили в 2016-2019 гг. в СПК «Колхоз имени Горина» Белгородской области, поголовье коров в котором составляет 2500 голов с продуктивностью 8564 кг молока при массовой доле белка 3,23% и жира – 3,73%. Содержание животных беспривязное в условиях современного молочного комплекса. Были сформированы две группы коров по 35 голов в каждой, аналоги по возрасту и дате отела. В 1 группу вошли помесные полукровные животные, полученные от скрещивания монбельярдских быков с коровами черно-пестрой породы (½МБх½ЧП), во 2 – чистопородные черно-пестрые (ЧП).

Для определения аминокислотного состава, учитывая по выборкам групп средние данные по массовой доле белка и жира, отбирали на 4-5 месяце первой лактации пробы от 4 коров из каждой группы. При выполнении исследований руководствовались общепринятыми методиками. Аминокислотный состав белков молока определяли методом высокоэффективной жидкостной хроматографии на жидкостном хроматографе Shimadzu LC-20 Prominence (Япония) [11].

Для установления биологической ценности использовали аминокислотный коэффициент усвояемости белков (Protein digestibility-corrected amino acid score (PDCAAS)), рекомендованный FAO/ВОЗ в 1993 году [12]. Этот метод позволяет контролировать не только концентрацию эссенциальных аминокислот, но опреде-

лять степень их переваривания. PDCAAS рассчитывали по формуле:

$$PDCAAS = \frac{A_1}{A_2} \times K,$$

где A_1 – количество лимитирующей аминокислоты (г) в 100 г белка молока;

A_2 – количество этой же аминокислоты (г) в 100 г «эталонного» белка;

K – доля истинной усвояемости белков молока ($K=95\%$).

Лимитирующую аминокислоту (A_1) определяли по минимальному значению аминокислотного числа конкретной незаменимой аминокислоты по формуле:

$$A_1 = \frac{A}{A_2},$$

где A – количество незаменимой кислоты (г) в 100 г белка молока.

Для оценки биологической ценности белков молока использовали утвержденный в 2011 году FAO/ВОЗ состав эталонного белка (A_2) [13], который отражает потребность в незаменимых аминокислотах детей в возрасте от 2-5 лет, считающуюся самой высокой относительно других возрастных групп.

Полученный в эксперименте цифровой материал обработан методом вариационной статистики по алгоритмам [14] с использованием компьютерной программы Microsoft Office «Excel». Достоверность разности между показателями определялась с использованием критериев непараметрической статистики для связанных совокупностей и была рассчитана по Стьюденту.

Результаты и обсуждение. По массовой доле белка в молоке дочери монбельярдских быков превосходили сверстниц черно-пестрой породы на 0,26% (3,50% против 3,24%).

Исследования аминокислотного состава белков молока, представленные в таблице 1, позволили выяснить, что в молоке животных обеих групп имеется полный набор и высокая концентрация незаменимых и заменимых аминокислот. Среди незаменимых аминокислот наибольшим количеством характеризовались фенилаланин + тирозин, лизин, лейцин, валин, наименьшим – триптофан. Высокую концентрацию заменимых аминокислот в белке имели глутаминовая кислота + глутамин, пролин, аспарагиновая кислота + аспарагин, а наименьшую – аланин, глицин.

Общая доля незаменимых аминокислот в белке молока коров подопытных групп практически не различалась – по 48,0%, аминокислотный индекс составил 0,94, то есть был практически на уровне показателей отечественных пород (симментальской и других) – от 0,93 до 1,16 [15].

Помесные коровы имели достоверное превосходство над чистопородными по содержанию в белке незаменимых аминокислот – изолейцина, лизина, тирозина, треонина; заменимых – аланина, аргинина и аспарагиновой кислоты + аспарагин и уступали по содержанию триптофана. Однако коэффициент вариации его был выше у коров 1 группы, причем при большей массовой доле белка в молоке. В целом коэффициенты вариации содержания аминокислот в молоке коров обеих групп были невысокими, но величины различались между группами (табл. 2).

Биологическая ценность белков определяется сбалансированностью содержащих в них незаменимых

Табл. 1. Аминокислотный состав белков молока

Аминокислота	В нмоль/мл		В % от общего состава молока		В % от общего белка	
	1 группа	2 группа	1 группа	2 группа	1 группа	2 группа
<i>Незаменимые, всего, $\Sigma(A)$</i>	2035,39	1821,91	1,70	1,57	48,54	47,63
Валин	297,73±9,96	269,56±13,19	0,21±0,007	0,19±0,007	5,97±0,033	5,90±0,112
Гистидин	104,28±3,26	93,61±4,64	0,09±0,003	0,09±0,004	2,70±0,024	2,65±0,056
Изолейцин	223,02±7,50*	197,08±8,07	0,18±0,006*	0,16±0,005	5,01±0,018*	4,84±0,057
Лейцин	420,62±13,99	381,61±17,22	0,33±0,011	0,31±0,011	9,44±0,034	9,35±0,142
Лизин	329,04±13,81	289,52±13,35	0,29±0,012	0,26±0,010	8,23±0,069*	7,91±0,138
Метионин + цистеин	96,70±3,94	91,26±3,64	0,09±0,004	0,08±0,002	2,47±0,054	2,54±0,026
Тирозин	155,56±6,84	138,85±4,24	0,17±0,007	0,16±0,003	4,82±0,047*	4,71±0,006
Треонин	216,06±9,70*	188,25±6,56	0,15±0,007*	0,14±0,003	4,40±0,05***	4,19±0,016
Триптофан	29,00±0,85	24,18±4,67	0,03±0,001	0,03±0,0004	0,77±0,014**	0,84±0,006
Фенилаланин	163,38±5,41	148,00±5,68	0,16±0,006	0,15±0,004	4,73±0,019	4,69±0,038
<i>Заменимые, всего, $\Sigma(A_i)$</i>	2401,73	2160,13	1,81	1,67	51,53	51,97
Аланин	182,41±8,36*	152,76±4,52	0,10±0,004*	0,08±0,002	2,78±0,028***	2,54±0,004
Аргинин	114,01±3,72*	100,94±3,29	0,12±0,004*	0,11±0,002	3,40±0,015***	3,28±0,012
Аспарагиновая кислота + аспарагин	336,52±14,00	296,48±13,16	0,27±0,011	0,24±0,008	7,65±0,076*	7,37±0,116
Глицин	142,26± 4,69	134,17±3,54	0,06±0,002	0,06±0,001	1,83±0,020	1,88±0,004
Глутаминовая кислота + глутамин	856,01±31,68	772,69±35,09	0,75±0,027	0,70±0,025	21,32±0,020	22,27±0,342
Пролин	466,04±17,45	428,91±17,27	0,32±0,012	0,30±0,009	9,17±0,102	9,23±0,101
Серин	304,48±13,81	274,18±9,40	0,19±0,008	0,18±0,004	5,38±0,057	5,40±0,025
<i>Отношение $\Sigma(A) / \Sigma(A_i)$</i>	-	-	0,94	0,94	-	-

*P<0,05; **P<0,01; ***P<0,001

аминокислот по отношению к идеальному белку (шкалы ФАО/ВОЗ), а также эффективностью их использования человеческим организмом. Для синтеза собственных белков организму человека необходимо не только достаточное количество каждой незаменимой аминокислоты, но важно их соотношение. Недостаток хотя бы одной эссенциальной аминокислоты ограничивает использование всех остальных аминокислот в процессе жизнедеятельности организма [16].

Расчитанные показатели биологической ценности белков молока (табл. 3) свидетельствуют о том, что аминокислотное число незаменимых аминокислот варьирует в широком диапазоне: у коров 1 группы от 1,07 для совокупности метионин+цистеин до 2,33 – фенилаланин+тирозин; у коров 2 группы по тем же аминокислотам – от 1,10 до 2,29. Поэтому сумма метионина и цистеина в обеих группах в данном случае будет лимитирующей и определяющей уровень использова-

ния других незаменимых аминокислот молока. При высокой природной усвояемости белков молока (95%), организмом человека будет использовано 100% от поступивших эссенциальных аминокислот при аминокислотном коэффициенте усвояемости белков молока коров 1-ой группы 102% и коров второй группы – 104%.

Незаменимая аминокислота метионин является предшественником цистеина и таурина, имеет важное значение при синтезе этих веществ. Она также известна своими антиоксидантными свойствами, что делает ее отличным защитником от свободных радикалов и токсинов. Аминокислота вступает в реакции с вредными веществами, защищая клетки от разрушения, способствует очищению организма от токсинов и тяжелых металлов. Метионин в метаболизме ответственен за биосинтез различных веществ, например, адреналина, карнитина, гистидина и глутатиона. Помимо этого, он стимулирует клеточную регенерацию печени,

Табл. 2. Коэффициенты вариации содержания аминокислот в белке молока коров подопытных групп, %

Группа	Незаменимые аминокислоты									
	Валин	Гистидин	Треонин	Изолейцин	Лейцин	Лизин	Метионин + цистеин	Тирозин	Триптофан	Фенилаланин
1	1,12	1,77	2,22	0,73	0,71	1,67	4,4	1,95	3,7	0,81
2	3,8	4,25	0,75	2,35	3,03	3,48	2,05	0,24	1,31	1,63
Группа	Заменимые аминокислоты									
	Аланин	Аргинин	Аспарагиновая кислота + аспарагин	Глицин	Глутаминовая кислота + глутамин	Пролин	Серин			
1	2,05	0,9	1,98	2,17	0,19	2,23	2,07			
2	0,35	0,72	3,14	0,43	3,22	2,19	0,91			

Табл. 3. Биологическая ценность белка молока коров подопытных групп

Аминокислота	Эталон ФАО/ВОЗ		Содержание, г/100 г		Аминокислотное число	
	содержание, г/100 г	аминокислотное число	1 группа	2 группа	1 группа	2 группа
Изолейцин	3,0	1,0	5,0	4,8	1,67	1,61
Лейцин	6,1	1,0	9,4	9,4	1,55	1,53
Лизин	4,8	1,0	8,2	7,9	1,71	1,65
Метионин + цистеин	2,3	1,0	2,5	2,5	1,07	1,10
Фенилаланин + тирозин	4,1	1,0	9,5	9,4	2,33	2,29
Треонин	2,5	1,0	4,4	4,2	1,76	1,68
Триптофан	0,66	1,0	0,8	0,8	1,17	1,27
Валин	4,0	1,0	6,0	5,9	1,53	1,51
Гистидин	1,6	1,0	2,7	2,6	1,69	1,65
Всего	29,06	–	48,5	47,5		
Усвояемость белков молока, %					95	
Аминокислотный коэффициент усвояемости белков (PDCAAS), %			102	104		

предотвращая развитие таких серьезных заболеваний как гепатит, цирроз, жировая печеночная дистрофия и многих других, уменьшает уровень гистамина в крови, тем самым блокируя вспышки аллергических реакций. Метионин является серосодержащей аминокислотой, следовательно, компенсирует дефицит данного вещества в организме. Цистеин же разрушает слизь в дыхательных путях, ускоряя процессы выздоровления при заболеваниях органов дыхания, и играет важную роль в активизации лейкоцитов и лимфоцитов [17].

Таким образом, установили, что содержание белка в молоке помесных животных (½МБ х ½ЧП) на 0,26% выше, чем у сверстниц черно-пестрой породы. При практически равной доле незаменимых аминокислот в белке молока помесных и чистопородных коров (48,0%), помесные животные, уступая по содержанию триптофана, имели достоверное превосходство по таким незаменимым аминокислотам как изолейцин, лизин, тирозин, треонин и заменимым – аланин, аргинин и аспарагиновая кислота + аспарагин. Это дает основание рекомендовать использование скрещивания монбельярдов с коровами черно-пестрой породы в коммерческих стадах для повышения массовой доли белка и улучшения его аминокислотного состава.

Литература

1. Ежегодник по племенной работе в молочном скотоводстве в хозяйствах Российской Федерации (2018) [Текст]. – М.: ФГНУ ВНИИПлем, 2019. – 272 с.
2. Bjelland D.W., Weigel K.A., Vukasinovic N., Nkrumah J.D. Evaluation of inbreeding depression in Holstein cattle using whole-genome SNP markers and alternative measures of genomic inbreeding // *J. Dairy Science.* – 2013. – Vol. 96. – P. 4697-4706.
3. Heins B.J., Hansen L.B., Seykora A.J. Crossbreds of Normande-Holstein, Montbeliarde-Holstein, and Scandinavian Red-Holstein compared to pure Holsteins for days to first breeding, first service conception rate, days open, and survival // *J. Dairy Science.* – 2005. – Vol. 88 – P. 93.
4. O'Neill C.J., Swain D.L., Kadarmideen H.N. Evolutionary process of *B. taurus* cattle in favorable versus unfavorable environments and its implications for genetic selection // *Evolutionary Applications.* – 2010. – Vol. 3. – P.422–433.
5. Henderson L., Miglior F., Sewalem A., Wormuth J., Kelton

- D., Robinson A., Leslie K.E. Short communication: Genetic parameters for measures of calf health in a population of Holstein calves in New York State // *J. Dairy Science.* – 2011. – Vol. 94. – P.6181-6187.
6. Heins B.J., Hansen L.B., De Vries A. Survival, lifetime production, and profitability of crossbreds of Holstein with Normande, Montbeliarde, and Scandinavian Red compare to pure Holstein cows // *J. Dairy Science.* – 2012. – Vol. 95(2). – P. 1011-1021.
7. Dezetter C., Leclerc H., Mattalia S., Barbat A., Boichard D., Ducrocq V. Inbreeding and Crossbreeding parameters for production and fertility traits in Holstein, Montbeliarde and Normande cows // *J. Dairy Science.* – 2015. – Vol. 98(7). – P. 4904-4913.
8. Жебровский Л.Г. Селекция животных: учеб. для вузов. – СПб.: Лань, 2002. – 254 с.
9. Снопова А.А. Пути повышения белковости молока. – М.: Россельхозиздат, 1985. – 84 с.
10. Тёпел А. Химия и физика молока. – СПб.: Профессия, 2012. – 832 с.
11. ГОСТ 32201–2013 (ISO13904: 2005). Корма, комбикорма. Метод определения содержания аминокислот. – Введ. 2015–07–1. – М.: Стандартинформ, 2016. – 19 с.
12. Schaafsma G. Advantages and limitations of the protein digestibility-corrected amino acid score (PDCAAS) as a method for evaluating protein quality in human diets // *Brit. J. Nutr.* – 2012. – Vol. 108. – P. 333-336.
13. Protein quality evaluation: report of the Joint FAO/WHO Expert Consultation. – Rome: FAO, 1991. – 66 p. Режим доступа: http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/38133/1/9251030979_eng.pdf.
14. Dietary protein quality evaluation in human nutrition: Report of an FAO Expert Consultation. – Rome: FAO, 2013. – 66 p. Режим доступа: <http://www.fao.org/3/a-i3124e.pdf>.
15. Мусенко И.В. Продуктивные и биологические особенности коров основных молочных пород в условиях интенсивной технологии: автореф. дис. ...канд. с-х. наук: 06.02.04. – Мичуринск-наукоград: 2017. – 23 с.
16. Lewis J.L. The regulation of protein content and quality in national and international food standards. // *Brit. J. Nutr.* – 2012. – Vol. 108 (Suppl S2). – P. 212-221.
17. Лысиков Ю.А. Аминокислоты в питании человека // Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология. – 2012. – №2. – С. 88-104.

Поступила в редакцию 17.07.20
 После доработки 21.09.20
 Принята к публикации 30.09.20

Рыбоводство

УДК 597.423:639.331.4

DOI: 10.31857/S2500262720060137

**ВЛИЯНИЕ ТЕРМИЧЕСКИХ УСЛОВИЙ ЗИМОВКИ ПРОИЗВОДИТЕЛЕЙ
НА ПРОДОЛЖИТЕЛЬНОСТЬ ИНКУБАЦИИ ИКРЫ
И ВЫДЕРЖИВАНИЯ ПРЕДЛИЧНОК ОСЕТРОВЫХ РЫБ****Э.В. Бубунец¹, А.В. Жигин², доктора сельскохозяйственных наук,
А.В. Лабенец³, кандидат сельскохозяйственных наук**¹Центральное управление по рыбохозяйственной экспертизе и нормативам по сохранению, воспроизводству водных биологических ресурсов и акклиматизации, 125009, Москва, Большой Кисловский пер., 10, стр. 1²Всероссийский научно-исследовательский институт рыбного хозяйства и океанографии, 107140, Москва, Верхняя Красносельская ул., 17³Всероссийский научно-исследовательский институт ирригационного рыбоводства, 142460, Московская область, Ногинский район, пос. им. Воровского, ул. Сергеева, 24
E-mail: azhigin@gmail.com

Цель исследований – определить температурные границы и длительность периода зимовки производителей белуги и русского осетра в хозяйствах аквакультуры, исключая нарушения их генеративной функции. Рассмотрены и оценены температурные условия и результаты зимовки производителей, инкубации икры и выдерживания предличинок белуги и русского осетра в хозяйстве на сбросных теплых водах электростанции. Изученные показатели сопоставлены с аналогичными данными, полученными при содержании производителей из естественных популяций в низовьях реки Волга. Установлено, что при средней температуре воды 2,2-2,4 °С производители исследованных видов способны находиться в режиме пищевой депривации до 9 месяцев. У рассмотренных видов при укороченной и комфортной «теплой» зимовке (для белуги при 2-7, русского осетра – 4-11 °С) зафиксировано увеличение продолжительности инкубации до суток и более по сравнению с особями из естественных популяций. При более жестких условиях зимовки производителей получена максимально близкая к условной норме продолжительность инкубации икры и выдерживания предличинок. Проводить зимовку производителей белуги следует при средней температуре воды 3 °С на протяжении 4-6 месяцев, инкубацию икры при плавном повышении температуры воды от 11 до 14 °С, выдерживание предличинок в диапазоне от 14 до 18 °С. Зимовка производителей русского осетра должна проходить при средней температуре воды 4 °С на протяжении 4,5-6,5 месяцев, инкубация икры при плавном повышении температуры воды от 13 до 16 °С, выдерживание предличинок – от 16 до 20 °С.

**THE IMPACT OF THERMAL CONDITIONS OF WINTERING
OF SPAWNERS ON DURATION OF SPAWN INCUBATION AND EXPOSITION
OF YOLK SAC LARVA OF STURGEON FISH****Bubunets E.V.¹, Zhigin A.V.², Labenets A.V.³**¹Central Department for Fishery Regulations and Norms the Department of fisheries examination of the structures and technologies that have an impact on aquatic bioresources and their habitats, 125009, Moskva, Bolshoy Kislovskij per., 10, p. 1.²Federal state budgetary scientific institution «VNIRO», 107140, Moskva, ul. V. Krasnoselskaya, 17³Federal State Budgetary scientific Institution of All-Russian Research Institute of Irrigation Fish Farming, 142460, Moskovskaya oblast, Noginskij rajon, p. im. Vorovskogo, ul. Sergeeva, 24
E-mail: azhigin@gmail.com

The goal of this research is the determination of temperature bounds and wintering duration of spawners of great sturgeon and Russian sturgeon in the aquaculture farms excluding distortion of their reproduction function. Temperature conditions and results of wintering of spawners, incubation of spawn and exposition of yolk sac larva of great sturgeon and Russian sturgeon at the farm in the warm discharge water of powerstation have been considered and evaluated. Investigated parameters have been compared with analogical data obtained from stocking of spawners from natural populations in the Lower Volga. It has been established that spawners of studied species can live to 9 months with average temperature 2,2-2,4 °C under conditions and food deprivation. Both of studied species have exhibited the increase of incubation duration to 24 h and more in comparison with individuals from nature population under conditions of shortened and comfort “warm” wintering. The closest to conventional norm incubation duration of spawn and exposition of yolk sac larva has been obtained under harsher conditions of wintering of spawners. Wintering of spawners of great sturgeon should be proceed under the following conditions: average water temperature 3 °C, duration 3-6 months. Incubation of spawn should be proceed while gradual increasing of water temperature from 11 to 14 °C, exposition of yolk sac larva – from 14 to 18 °C. Preferable conditions of wintering of spawners of Russian sturgeon include average water temperature 4°C and duration 4,5-6,5 months. Preferable conditions of incubation of spawn include gradual increasing of water temperature from 13 to 16 °C, exposition of yolk sac larva – from 16 to 20 °C.

Ключевые слова: белуга, русский осетр, температура воды, зимовка производителей, инкубация икры, выдерживание предличинок

Key words: great sturgeon, Russian sturgeon, water temperature, wintering of spawners, incubation of spawn, exposition of yolk sac larva

Рыбы являются пойкилотермными животными, и температура их тела зависит от температуры окружающей среды. В этой связи влияние температурного фактора на уровень физиологической активности гидробионтов имеет первостепенное значение. Повышение или понижение температуры в допустимых пределах вызывает соответствующие сдвиги в жизнедеятельности гидробионтов, при этом многие рыбы обладают способностью различать градиенты температур менее 1 °С [1]. С возрастом температурный оптимум становится шире, поэтому влияние этого показателя на рост наиболее сильно проявляется на ранних стадиях развития [2].

Осетровым рыбам свойственна большая эвритермность, характерная и для ранних этапов онтогенеза. В зависимости от вида и этапа выращивания оптимальная температура меняется. В частности для развития икры белуги она составляет 8-15 °С, для русского осетра – 15-23 °С [3, 4]. Различны не только средние оптимальные температуры, но и диапазоны чувствительности допустимых значений на ранних стадиях развития разных видов осетровых. Верхней сублетальной для развития икры белуги является температура 20-21 °С, для русского осетра – 27 °С [5]. Нижний диапазон допустимых значений температуры воды для белуги составляет 4-7 °С [6].

Известно, что естественные запасы осетровых находятся в депрессивном состоянии, и их промышленный вылов в нашей стране полностью запрещен. В этой связи легальное получение товарной продукции возможно только в условиях аквакультуры и наиболее эффективно осуществляется в хозяйствах индустриального типа на теплых сбросных водах энергетических объектов в садках и бассейнах. При этом температурные условия, в которых содержатся маточные стада осетровых рыб, существенно отличаются от естественных, что, безусловно, влияет на генеративные функции производителей, и это влияние требует глубокого изучения. Актуальность проведенных исследований определялась отсутствием информации о температурных условиях зимовки анадромных осетровых в индустриальных хозяйствах и ее анализа [7, 8].

Цель исследований – определить температурные границы и длительность периода зимовки производителей белуги и русского осетра в хозяйствах аквакультуры, исключая нарушения их генеративной функции.

Представлялось необходимым проанализировать результаты зимовки при различной продолжительности выдерживания производителей в зимовальных сооружениях, установить зависимость результатов инкубации икры и выдерживания свободных эмбрионов до начала активного питания от температурных условий зимовки, сопоставив их с данными по содержанию производителей в естественных температурных условиях в низовьях реки Волга.

Методика. Сбор исходных данных проводили в тепловодном рыболовном хозяйстве Московской области. Последние сопоставлялись с результатами работы цехов длительного выдерживания производителей (ЦДВР) из естественных популяций на основе усредненных ретроспективных данных по гидрологическому посту в районе г. Астрахань [9].

Анализовалась температура воды в период зимовки производителей, инкубации оплодотворенных ооцитов и выдерживания предличинки. Изучалась развивающаяся икра и предличинки белуги (*Huso huso*) и русского осетра (*Acipenser gueldenstaedtii*). Продол-

жительность зимовки производителей рассчитана с 1 ноября предыдущего года до начала их вывода на нерестовые температуры воды. Отобранных для получения половых продуктов самок и самцов белуги и русского осетра предварительно (за 2-3 недели) переводили в бассейны, оборудованные терморегуляцией. Зимний диапазон температур был разбит на три интервала: < 3,9 °С; 4,0-8,0 °С; ≥ 8,1 °С.

Ранее были показаны отличия температурного режима в осетровых хозяйствах по ряду критериев, в том числе по зимнему содержанию производителей в диапазоне К-1 (0,0-7,9 °С) [7]. Для удобства изложения материала согласно результатам отобранных биопсийных проб, исследуемые производители с учетом условий и длительности зимовки в индустриальном хозяйстве были разделены на группы: белуга – Б 1, Б 2 и Б 3; русский осетр – Р 1, Р 2 и Р 3. По литературным данным, производители русского осетра из природной популяции после зимовки с первой декады апреля содержались при постоянной температуре 3-4 °С (группа Р 4) и при 2-3 °С (группа Р 5) [9].

Для стимуляции созревания половых продуктов производителей инъецировали комбинированным методом: доза предварительной инъекции карпового гипофиза 0,4-0,6 мг/кг массы особи, разрешающей – 2,0-3,0 мкг/кг препарата «Сурфагон» [10, 11]. Одну группу самок русского осетра (Р 3) с показателем поляризации икры 10-12% инъецировали дробно суспензией карпового гипофиза из расчета 6,0 мг/кг.

Для оценки условий зимовки производителей, находящихся в состоянии естественной свободы, рассматривали термический режим реки Волга после зарегулирования ее стока в том же временном интервале с 1 ноября до наступления нерестовых температур у *H. huso* 8,0 °С (группа А 1) и *A. gueldenstaedtii* – 14,0 °С (группа А 2).

Температурные условия выражены в °С, градусо-днях (°С/д) и градусо-часах (°С/ч).

Результаты и их обсуждение. Продолжительность зимовки у самого холодолюбивого из рассматриваемых видов – белуги – варьировала от 4,2 (Б 1) до 5,3 (Б 3) месяца при колебании температуры от 2,0 до 7,0 °С и средних значениях 3,2-3,9 °С. Доля суммы накопленного тепла в диапазоне ниже 4 °С составила от 21,9 до 80,1%. В группах Б 2 и Б 3 эти показатели находились в диапазоне 4,0-8,0 °С и 19,9-78,1% от общей за зимовку (табл. 1).

Временной интервал зимнего содержания русского осетра был более узким и составил 5,0-5,3 месяца при лимитах температур 1,2-11,0 °С и средних значениях 3,1-6,3 °С. Доля суммы накопленного тепла при температуре ниже 4 °С составила 36,4-84,1% (Р 3, Р 2), от 4 до 8 °С – 15,9-71,2% (Р 2, Р 1), ≥ 8,1 °С – 28,8% (Р 1) Температура выше 8 °С отмечена в группе Р 1 как в начале, так и на завершающем этапе зимнего содержания.

При среднем значении 2,4 °С за 6 месяцев зимовки температура воды, в которой содержались производители белуги из естественной среды, варьировала от 1,0 до 8,6 °С (группа А 1). С учетом того, что более 6 месяцев температура воды держалась в районе 1,0 °С, доля суммы набранного тепла в диапазоне до 4 °С составляет 33,7%, от 4,0 до 8,0 °С – 64,4%, выше 8,0 °С – 1,9%. На протяжении последующих 30 дней температуры растут, верхний предел достигает 14,5 °С, среднее значение за зимовку производителей русского осетра – 3,7 °С (группа А 2). Доля суммы набранного тепла до 4 °С снижается до 18,8%, при 4-8 °С составляет 36,0%, а выше 8 °С возрастает до 45,2% (табл. 1).

Табл. 1. Условия зимовки производителей в индустриальных хозяйствах и в реке Волга

Группа	Продолжительность и температурные условия зимовки				Количество °C/д за зимовку с температурами		
	сут	°C/д	$\bar{X} \pm S\bar{X}$, °C	lim, °C	≤ 3,9 °C	4,0-8,0 °C	≥ 8,1 °C
Белуга (в индустриальном хозяйстве)							
Б 1	127	490	3,8±0,3	2,0-7,0	117	373	0
Б 2	143	557	3,9±0,4	2,0-7,0	122	435	0
Б 3	158	502	3,2±0,2	2,0-4,8	402	100	0
Русский осетр (в индустриальном хозяйстве)							
Р 1	158	991	6,3±0,7	4,0-11,0	0	706	285
Р 2	152	477	3,1±0,3	2,0-4,8	401	76	0
Р 3	159	541	3,4±0,4	1,2-8,0	197	344	0
Белуга и русский осетр (в естественных условиях р. Волга)							
А 1	182	442,6	2,4	1,0-8,6	149	285	8,6
А 2	212	791,5	3,7	1,0-14,5	149	285	357,5
Русский осетр (в ЦДВР)							
Р 4	227	464,9	2,0±0,2	1,0-7,7	291,9	173	0
Р 5	273	513,9	1,9±0,1	1,0-7,7	340,9	173	0

В реке Волга период с температурами 1,0 °C длился на протяжении 182 дней. С 1 ноября до наступления нерестовых температур для белуги проходит 180-185 дней (6,0-6,2 месяца), для русского осетра – 210-215 дней (7,0-7,2 месяца). Проведенные ранее исследования показали, что при содержании осетровых рыб в ЦДВР, в зависимости от температуры, можно смещать половые циклы на 1,5 и 3,0 месяца. Следовательно, производители русского осетра в режиме зимовки и пищевой депривации находились 7,5 (Р 4) и 9,0 (Р 5) месяцев. В таких условиях средняя за зимовку температура составляет 2,2-2,4 °C, что более характерно для группы А 1, где доля суммы набранного тепла в диапазоне до 4 °C составила 68,7-71,3%, при 4-8 °C – 28,7-31,3%.

Несмотря на различия в продолжительности и условиях зимовки, благодаря применению инновационного устройства для определения состояния ооцитов и стадии зрелости гонад [12], комбинированного метода гормонального стимулирования [10, 11], от производителей нами были получены половые продукты вполне удовлетворительного рыбоводного качества и выращены стандартные сеголетки.

Анализ доступной литературы [8, 13, 14] показал наличие только фрагментарных сведений либо их отсутствие по ряду температурных показателей и даже видам осетровых. Поэтому при оценке продолжительности эмбрионального развития от оплодотворения до стадии единичного вылупления нами за норму для *A. gueldenstaedtii* приняты данные Т.А. Детлаф с соавторами [13], для *H. huso* – Л.В. Игумновой [15].

Известно, что в одной и той же партии икры эмбрионы развиваются не вполне синхронно, а сроки перехода от стадии к стадии варьируют в пределах 10% продолжительности периода развития [13]. Приведенные в таблице 2 данные получены нами по первым 10-20

предличинкам, освободившимся из оболочек.

За период инкубации температура воды в аппаратах с икрой белуги варьировала от 12,0 до 16,5 °C, русского осетра – от 13,0 до 16,5 °C. По данным А.Ф. Карпевич [16], весенне-нерестующие бореальные рыбы после зимовки обладают малым энергозапасом, а развитие гамет протекает при низких температурах (8-12 °C). В связи с этим, теплоемкость эмбриогенеза составляет примерно 50-100 °C/д. Результаты проведенных нами исследований в целом соответствуют указанному диапазону при некоторых незначительных отклонениях в сторону увеличения у белуги до 9% (Б 2), русского осетра – до 12% (Р 1).

В тепловодных хозяйствах получены результаты, отличающиеся большей длительностью инкубации икры (> 10% времени от нормативной для природных популяций): для белуги (Б 1 – 15,6%, Б 2 – 19,4%), русского осетра (Р 1 – 20,0%).

Фактические данные по инкубированию икры белуги при 15,4 °C (Б 3) сравнимы по продолжительности с данными, приведенными Л.В. Игумновой [15], тогда как при средней температуре инкубации 13,6 °C (Б 1 и Б 2) развитие шло на сутки дольше. При более суровых условиях зимовки, когда 134 дня температура воды опускалась ниже 4 °C, у самок белуги (группа Б 3) была получена максимально близкая к условной норме продолжительность инкубации. При противоположных «комфортных» условиях зимовки самок белуги (Б 1, Б 2),

когда в течение 90-100 суток температура воды укладывалась в диапазон 4-8 °C, инкубация длилась на 30 часов дольше нормы.

В группе Р 1 зафиксировано увеличение продолжительности инкубации икры русского осетра до 30 часов. При одинаковой средней температуре инкубации (~15 °C), но дробной инъекции суспензии карпового гипофиза (группа Р 3) продолжительность зародышевого развития была на 20 часов меньше, чем по имеющимся данным Т.А. Детлаф с соавторами [13], а также меньше на 25 часов, чем при комбинированных инъекциях в группе Р 2 и 50 часов в группе Р 1.

При введении комбинированной инъекции производителей русского осетра (группы Р 1 и Р 2), одинаковой средней температуре инкубации (~15 °C) и сходной продолжительности зимовки (150 суток), установлено,

Табл. 2. Термический режим инкубации

Группа	Температура воды за инкубацию, °C		Продолжительность инкубации			
	$\bar{X} \pm S\bar{X}$	lim	Факт		Норма	
			°C/д	°C/ч	°C/д	°C/ч
Белуга						
Б 1	13,56±0,97	13,0-14,5	104,5	2509	90,4	2170
Б 2	13,61±1,12	12,0-14,5	108,3	2600	90,7	2178
Б 3	15,35±1,41	12,0-16,5	78,7	1888	76,8	1842
Русский осетр						
Р 1	14,94±1,54	13,0-16,0	112,1	2689	93,4	2241
Р 2	15,02±1,03	14,0-16,5	97,0	2328	93,9	2253
Р 3	14,86±1,25	14,0-16,0	80,5	1932	92,9	2229

Табл. 3. Термический режим выдерживания предличинок

Группа	Температура воды при выдерживании, °С		Период выдерживания			
			Факт		Норма	
	$\bar{X} \pm S_{\bar{x}}$	lim	°С/д	°С/ч	°С/д	°С/ч
Белуга						
Б 1	16,73±1,57	15,0-19,5	251,9	6056	171,2	4109
Б 2	17,38±1,82	14,0-20,0	197,9	4745	169,7	4073
Б 3	16,11±1,36	14,5-17,5	172,4	4140	173,1	4154
Русский осетр						
Р 1	18,38±1,79	16,0-20,5	151,2	3639	170,2	4085
Р 2	15,79±1,64	13,0-17,5	232,4	5574	177,8	4267
Р 3	17,28±1,72	14,0-18,5	233,6	5392	168,7	4049

что при более «комфортной» зимовке длительность инкубации больше, чем при «холодной» температурном диапазоне в зимний период. Так, в группе Р 1 температурный диапазон в зимний период варьировал в пределах от 4 °С и выше, сумма общего тепла составила 991 °С/д, а инкубация продолжалась 2689 °С/ч. В группе Р 2 температура воды была ниже 4 °С 134 дня, общая сумма тепла составила 477 °С/д, инкубация продолжалась 2328 °С/ч. В группе Р 3 сумма тепла за зимовку составила 541 °С/д, однако длительность инкубации составила 1932 °С/ч, что на 396 °С/ч меньше, чем в группе Р 2, и 757 °С/ч в группе Р 1 (табл. 1, 2). У производителей русского осетра при сходной длительности зимовки максимально близкая к норме продолжительность инкубации получена в группе Р 2 при максимальном интервале температуры воды < 4 °С.

Таким образом, в большинстве случаев при укороченной и комфортной («теплой») зимовке (для белуги 2-7, русского осетра 4-11 °С) зафиксировано увеличение продолжительности инкубации до суток и более от данных, приводимых для особей из естественных популяций. При более низких температурах этот параметр находится в пределах, характерных для особей из природных популяций.

Полученные данные по группам Р 2, Р 3, Б 3, А 1 и А 2 со всей определенностью подтверждают вывод А.Ф. Карпевич [16] о том, что чем дольше и суrowее зима, тем меньше питательных веществ аккумулируется в ооцитах, и тем скорее должно идти развитие эмбрионов, чтобы перейти на экзогенное питание. В условиях тепловодных хозяйств с достаточно теплой зимой, в ооцитах, вероятно, сохраняется достаточное количество питательных веществ, что ведет к увеличению продолжительности инкубационного периода.

Предличиночный период, как этап онтогенеза, начинается с момента выхода зародыша из оболочек и завершается переходом предличинки на активное экзогенное питание. В это время происходит смена зародышевых адаптаций на дефинитивные, формируется ряд признаков, имеющих систематическое значение и характеризующих взрослых рыб разных видов [13]. При оценке продолжительности предличиночного периода от вылупления эмбриона до начала экзогенного питания в существующих условиях рыбоводных хозяйств за норму нами приняты интерполированные данные К.Д. Краснодембской [17].

Температура воды за период выдерживания предли-

Табл. 4. Рекомендуемые температурные режимы для осетровых рыб при зимовке, инкубации икры и выдерживании предличинок

Показатель	Вид			
	Белуга	Русский осетр		
	Зимовка	Температура воды, °С	lim	2-4
		\bar{X}	3	4
	Продолжительность, мес		4-6	4,5-6,5
Инкубация, °С	начальная		11	13
	конечная		14	16
Выдерживание, °С	начальная		14	16
	конечная		18	20

чинок белуги варьировала от 14,0 до 20,0 °С при средних значениях 16,1-17,3 °С; у русского осетра – от 13,0 до 18,5 (15,8-18,4) °С (табл. 3). Значения, превышающие 10% условной нормы продолжительности периода выдерживания особей из природных популяций, отмечены для белуги (Б 1 – 47,2%, Б 2 – 16,7%), русского осетра (Р 2 – 30,7%, Р 3 – 38,5%).

В тепловодном хозяйстве у русского осетра (группа Р 1), получены наиболее близкие к норме результаты. При оптимальных для вида температурах время перехода на внешнее питание совпало с нормой, тогда как более низкие значения температуры воды (группы Р 2 и Р 3) ведут к увеличению продолжительности предличиночного периода. Плавный подъем температуры воды (без перепадов и резких колебаний) от 14,5 до 17,5 °С при содержании группы Б 3 обеспечил близкий к оптимальному температурный режим выдерживания.

Вылупившиеся предличинки, полученные от самок группы Б 1, были размещены в бассейнах с температурой 17,0 °С, однако на этапе «роения» температура воды резко снизилась до 14,0 °С. Через двое суток произошло восстановление температурного режима. Вероятно, повышенные температуры в начале инкубации и последующий резкий перепад температур вызвали запаздывание перехода на активное питание на 4,8 суток. Увеличение длительности периода выдерживания (более 1,5 суток) отмечено и в группе Б 2. Основная причина – продолжительный период неадекватных специфике вида температур 16,0-17,5 °С в начале предличиночного этапа.

Рассматривая температурные условия и продолжительность периода от вылупления зародыша до начала экзогенного питания, следует отметить, что наиболее близкие к норме для природных популяций результаты получены в тепловодном хозяйстве у русского осетра в группе Р 1 и белуги в группе Б 3. В этих группах отмечено наибольшее совпадение с нормой продолжительности предличиночного периода. Кроме того, можно обосновано предположить, что на продолжительность предличиночного периода оказывают влияние условия зимовки производителей и предшествующие условия инкубации икры. Однако ограниченный характер имеющихся до настоящего времени данных позволяет говорить лишь о наличии некоторой тенденции влияния данных факторов.

В тепловодных хозяйствах после проведения бо-

комплекс, при инкубации икры и выдерживании предличинок целесообразно рекомендовать следующие параметры температурного режима (табл. 4).

Результаты проведенных исследований позволяют сделать вывод о том, что производители изученных видов осетровых при средней температуре воды 2,2-2,4 °С способны находиться в режиме пищевой депривации до 9,0 месяцев. При более суровых условиях зимовки производителей в промышленных тепловодных хозяйствах получена максимально близкая к норме продолжительность инкубации икры. В случае «комфортных» условий укороченной зимовки (белуги при 2-7, русского осетра при 4-11 °С) инкубация длилась до 30 часов дольше нормы.

Литература

1. Уитон Ф. *Техническое обеспечение аквакультуры*. – М.: Агропромиздат, 1985. – 528 с.
2. Бессонов Н.М., Привезенцев Ю.А. *Рыбохозяйственная гидрохимия*. – М.: Агропромиздат, 1987. – 159 с.
3. Никольская Н.Г., Сытина Л.А. Сравнительный анализ действия постоянных температур на эмбриональное развитие осетровых // *Вопросы ихтиологии*. – 1978. – Т. 18. – Вып. 1 (108). – С.101-106.
4. Гинзбург А.С., Детлаф Т.А. Развитие осетровых рыб. Созревание яиц, оплодотворение и эмбриогенез. – М.: Наука, 1969. – 134 с.
5. Голованов В.К. Температурный оптимум и температурные границы жизнедеятельности осетровых видов рыб // *Аквакультура осетровых рыб: достижения и перспективы развития. Материалы 4-ой международной научно-практической конференции*. – М.: ВНИРО, – 2006 – С. 21-24.
6. Гершанович А.Д., Пегасов В.А., Шатуновский М.И. *Экология и физиология молоди осетровых*. – М.: Агропромиздат, 1987. – 215 с.
7. Бубунец Э.В. К вопросу об оценке температурных условий при культивировании осетровых в тепловодных хозяйствах // *Рыбное хозяйство – 2017*. – № 2. – С. 75-79.
8. Чебанов М.С., Галич Е.В. *Руководство по искусственному воспроизводству осетровых рыб*. – Анкара: ФАО, 2013. – 325 с.
9. Казанский Б.Н., Молодцов А.Н. *Рекомендации по работе с производителями осетровых, мигрантами разного типа, по непрерывному графику в цехах с регулируемой температурой воды*. – М., 1974. – 48 с.
10. Бубунец Э.В., Ревякин А.О., Лабенец А.В. Инновационная модель комбинированного стимулирования овуляции у осетровых рыб и цитометрические особенности продуцируемых ооцитов // *Биомедицина*. – 2014. – №4. – С. 65-69.
11. Патент № 2500101 Российская Федерация, МПК А01К 61/00 (2006.01). *Способ воспроизводства осетровых рыб*: № 2012139088/13: заявл. 13.09.2012: опубл. 10.12.2013 / Бубунец Э.В., Лабенец А.В., Жигин А.В. – 7 с.
12. Патент № 2708156 Российская Федерация, МПК А01К 61/00 (2006.01). *Устройство для определения состояния ооцитов и стадии зрелости гонад у осетрообразных и карповых рыб*: № 2019105326: заявл. 08.06.2018: опубл. 04.12.2019 / Бубунец Э.В., Новосадов А.Г., Жигин А.В., Лабенец А.В. – 9 с.
13. Детлаф Т.А., Гинзбург А.С., Шмальгаузен О.И. *Развитие осетровых рыб. (Созревание яиц, оплодотворение, развитие зародышей и предличинок)*. – М.: Наука, 1981. – 224 с.
14. *Технологии и нормативы по товарному осетроводству в VI рыболовной зоне / Под ред. Н.В. Судаковой*. – М.: Изд-во ВНИРО, 2006. – 100 с.
15. Игумнова Л.В. *Рекомендации по биотехнике заводского разведения белуги*. – М.: Главрыбвод МРХ СССР, 1975. – 27 с.
16. Каревич А.Ф. *Избранные труды: в 2-х томах. Акклиматизация гидробионтов и научные основы аквакультуры*. – М.: ВНИРО, 1998. – Т 2. – 870 с.
17. Краснодарская К.Д. *Методические рекомендации по проведению этапа перевода на экзогенное питание предличинок осетровых на рыболовных заводах*. – СПб., 1994. – 36 с.

Поступила в редакцию 17.08.20
После доработки 09.09.20
Принята к публикации 14.09.20

Ветеринария

УДК 619:616.15: 504.75.05:618

DOI: 10.31857/S2500262720060149

**ВОЗДЕЙСТВИЕ ЭКОЛОГИЧЕСКИХ ФАКТОРОВ
НА ИММУНОГЕМАТОЛОГИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ
СТЕЛЬНЫХ КОРОВ****О.Ю. Опарина, Н.А. Верещак, доктор ветеринарных наук,
С.В. Малков, А.С. Красноперов, кандидаты ветеринарных наук***Уральский федеральный аграрный научно-исследовательский центр Уральского отделения РАН,
620142, Екатеринбург, ул. Белинского, 112а
Email: olia91oparina@yandex.ru*

Цель работы – оценить степень воздействия экологических факторов на иммуногематологические показатели коров во вторую половину стельности. У всех обследованных животных под влиянием поллютантов был выявлен комплекс изменений в составе крови и иммунореактивности организма. Наблюдался синдром «физиологическая анемия беременных» разной степени выраженности: в 20% случаев концентрация гемоглобина составляла $81,50 \pm 1,71$ г/л, а в 35% – $85,50 \pm 5,10$ г/л. В структурном составе лейкоцитов диагностировали увеличение палочкоядерных нейтрофилов на 23%, эозинофилов и моноцитов – на 5%, смещение сегментоядерных нейтрофилов и лимфоцитов к верхней границе физиологической нормы. В общей иммунореактивности организма регистрировалась активация фагоцитарного звена иммунитета. Количество фагоцитарных клеток составляло $52,05 \pm 5,04\%$, при их поглотительной способности $9,02 \pm 2,05$ у.е. Происходило снижение относительного содержания Т-лимфоцитов до $39,50 \pm 4,15\%$, В-лимфоцитов – до $25,05 \pm 2,14\%$. Среднее значение концентрации ЦИК регистрировалось на уровне $121,45 \pm 8,12$ у.е. Лейкоцитарный-Т-лимфоцитарный индекс находился в пределах $4,80-7,04$ у.е., что соответствовало нормоэргическому состоянию организма. Выраженность изменений иммуногематологических показателей во многом зависела от территориального расположения хозяйства, в котором содержали животных. Зарегистрированные изменения в системе крови и иммунитета у стельных коров не являлись патологическими, а носили транзиторный характер, что обусловлено физиологическим состоянием самок и развитием компенсаторно-приспособительных реакций на фоне негативного воздействия окружающей среды.

**IMPACT OF ENVIRONMENTAL FACTORS
ON IMMUNOHEMATOLOGICAL INDICATORS PREGNANT COWS****Oparina O.Yu., Vereshchak N.A., Malkov S.V., Krasnoperov A.S.***Ural Federal Agrarian Scientific Research Centre, Ural Branch of the Russian Academy of Sciences,
620142, Yekaterinburg, ul. Belinskogo, 112a,
Email: olia91oparina@yandex.ru*

Purpose of work – to assess the impact of environmental factors on the immunohematological parameters of cows in the second half of pregnancy. In all the examined animals, under the influence of pollutants, a complex of changes in the composition of blood and the immunoreactivity of the body was revealed. There was a syndrome of «physiological pregnancy anemia» of various degrees of severity: in 20% of cases, the hemoglobin concentration was 81.50 ± 1.71 g/l, and in 35% – 85.50 ± 5.10 g/l. The structural composition of leukocytes was diagnosed with an increase in stab neutrophils by 23%, eosinophils and monocytes by 5%. Segmented neutrophils and lymphocytes were displaced to the upper boundary of the physiological norm. In the general immunoreactivity of the body, activation of the phagocytic immunity was recorded. The number of phagocytic cells was $52.05 \pm 5.04\%$, with their absorption capacity being 9.02 ± 2.05 cu. The relative content of T-lymphocytes decreased to $39.50 \pm 4.15\%$, B-lymphocytes to $25.05 \pm 2.14\%$. The average value of the CIC concentration was recorded at the level of 121.45 ± 8.12 cu. The leukocyte-T-lymphocytic index in pregnant cows was in the range of $4.80-7.04$ cu. This corresponded to the normoergic state of the body. The severity of changes in immunohematological indicators largely depended on the territorial location of the farm where the animals were kept. Registered changes in the blood system and immunity in cows during pregnancy were not pathological. They are transient in nature. This is due to their physiological state and the development of compensatory and adaptive reactions against the negative impact of the environment.

Ключевые слова: стельные коровы, индекс загрязнения почв, иммунитет, система крови, гематологические исследования, иммунологические исследования

Key words: pregnant cows, pollution index, immunity, blood system, soil hematological studies, immunological studies

С ростом промышленного производства увеличивается поступление в окружающую среду высоких концентраций экотоксических веществ, которые через воздух попадают в почву и растения, где депонируются. Согласно данным Государственных докладов «О состоянии санитарно-эпидемиологического благополучия населения в Свердловской области» и «О состоянии и об охране окружающей среды Свердловской области» в Свердловской области основные сельскохозяйственные предприятия и принадлежащие им кормовые угодья располагаются на территориях, относящихся к категориям «опасный уровень загрязнения почв»

и «умеренно-опасный уровень загрязнения почв». Подобная тенденция обуславливает хроническое воздействие поллютантов через воздух, почву, воду и корма на организм сельскохозяйственных животных [1-4].

Степень негативного влияния экотоксикантов зависит от физиологического состояния организма. Наиболее подвержены патологическому воздействию определенные группы животных, к которым относятся и беременные. В этот период у самок отмечается напряжение во многих системах органов, что объясняется формированием сложных взаимоотношений между матерью и плодом. Эмбрион, развиваясь в организме

самки, вместе с внезародышевыми оболочками продуцирует антигены, которые воспринимаются клетками иммунной системы матери как чужеродные мишени. Таким образом, иммунная система находится в состоянии напряжения и характеризуется низким потенциалом защитных сил, что наиболее выражено во вторую половину беременности. По этой причине интенсивность негативного экологического воздействия на животных в этот период выше, чем в его стабильном физиологическом состоянии [5-11].

Известно, что первыми на внутренние и внешние воздействия реагируют кроветворная и иммунная системы организма за счет подвижности своих клеточных элементов, что проявляется изменениями в клинико-иммунологических и гематологических показателях [12-14]. Данные о негативном воздействии экотоксикантов на показатели крови и иммунитета стельных коров немногочисленны и их изучение – актуальная задача ветеринарии, что обусловило направление наших исследований.

Цель работы – оценить степень воздействия экологических факторов на иммуногематологические показатели коров во вторую половину стельности.

Методика. Исследования выполнены в 2012–2018 гг. в лаборатории иммунологии и патобиохимии Уральского научно-исследовательского ветеринарного института ФГБНУ УрФАНИЦ УрО РАН в рамках Государственного задания Программы ФНИ государственных академий наук по направлению 160 «Молекулярно-биологические и нанотехнологические методы создания биопрепаратов нового поколения, технологии и способы их применения с целью борьбы с особо опасными инфекционными, паразитарными и незаразными болезнями животных».

Объектом исследования послужили коровы в период второй половины стельности (n=697). Обследованных животных содержали на территориях, относящихся к категориям «опасный уровень загрязнения почв» имеющих суммарный индекс загрязнения (Z_c) почв в пределах $\geq 32-128$ и «умеренно-опасный уровень за-

грязнения почв» $Z_c \geq 16-32$. В качестве источников загрязнения в почвах регистрировали такие тяжелые металлы как цинк, свинец, медь, кадмий, никель, хром, кобальт и другие. Их количество и качество варьировало в зависимости от территориального расположения [1, 2].

Клинико-лабораторные исследования крови животных проводили согласно требованиям национального стандарта РФ ГОСТ 31886-2012 [15]. Гематологические показатели определяли на полуавтоматическом ветеринарном анализаторе Abacus Junior Vet (Diatron, Австрия) с использованием стандартных наборов реактивов. Лейкоцитарную формулу подсчитывали в мазках крови, окрашенных по Романовскому-Гимза по общепринятой методике. Иммунологические исследования крови включали определение относительного содержания Т-лимфоцитов и их субпопуляций (CD4+, CD8+), а также В-лимфоцитов по методике Смирнова П.Н. с соавторами. Индекс Т/В находили как соотношение относительного количества Т-клеток к относительному количеству В-клеток. Фагоцитарную активность (ФА) нейтрофилов и моноцитов учитывали по результатам опсоно-фагоцитарной реакции в модификации Смирнова П.Н. с соавторами [16]. Учет реакций проводили на микроскопе бинокулярном Micros MCX100 (Австрия). Содержание циркулирующих иммунных комплексов (ЦИК) выявляли методом селективной преципитации полиэтиленгликолем на анализаторе «Sanrise-Basic-Tecan» (производитель Tecan Austria GmbH, Австрия). Интегральный лейкоцитарно-Т-лимфоцитарный индекс (ЛТИ) находили как соотношение общего количества лейкоцитов к Т-лимфоцитарному клеточному звену.

Статистический анализ данных обработан математически на персональном компьютере с помощью стандартного пакета Microsoft Office 2010.

Результаты и обсуждение. Результаты изучения иммуногематологических показателей выявили, что под влиянием поллютантов у коров во вторую половину стельности был обнаружен комплекс изменений в



Рис. 1. Гемограмма коров во вторую половину стельности.



Рис. 2. Иммунограмма коров во вторую половину стельности.

количественно-структурном составе крови и иммунореактивности организма в целом.

У всех обследованных животных наблюдался синдром «физиологическая анемия беременных» разной степени выраженности. При этом в 20% случаев концентрация гемоглобина составляла $81,50 \pm 1,71$ г/л, а в 35% – $85,50 \pm 5,10$ г/л. Синдром «физиологическая анемия беременных» сопровождался изменением в структурном составе лейкоцитов: диагностировалось увеличение палочкоядерных нейтрофилов на 23%, эозинофилов и моноцитов – на 5%, смещение сегментоядерных нейтрофилов и лимфоцитов к верхней границе физиологической нормы (рис. 1).

У стельных коров изменение клеточного состава белой крови обуславливается миграцией и накоплением в подслизистой оболочке матки лимфоцитов и нейтрофилов, что препятствует проникновению инфекции в развивающийся плод и обеспечивает тканевую толерантность в системе «мать–плод». Кроме того, данные отклонения в составе белой крови свидетельствуют об интенсивности процессов регенерации мочеполовой системы.

Выявлены значительные изменения в общей иммунореактивности организма. Регистрировалась активация фагоцитарного звена иммунитета. Количество фагоцитарных клеток составляло $52,05 \pm 5,04\%$, при их поглотительной способности $9,02 \pm 2,05$ у.е. Наблюдалось смещение относительного содержания Т- и В-лимфоцитов к нижней границе физиологической нормы до значений $39,50 \pm 4,15\%$ и $25,05 \pm 2,14\%$ соответственно. Среднее значение концентрации ЦИК регистрировалось на уровне $121,45 \pm 8,12$ у.е., что выше нормативного показателя на 5% (рис. 2).

Зарегистрированные отклонения в системе крови и иммунитета не являются патологическим состояни-

ем. Индекс ЛТИ у обследованных коров находился в пределах $4,80 - 7,04$ у.е., что соответствовало нормоэргическому состоянию организма крупного рогатого скота.

Выраженность изменений иммуногематологических показателей во многом зависела от территориального расположения хозяйства, в котором содержали животных. Так, в сельскохозяйственных организациях на территориях с «опасным уровнем загрязнения почв» у коров второй половины стельности количество эритроцитов в крови составляло в среднем $5,40 \pm 0,53 \cdot 10^{12}/л$, в лейкоцитарной формуле наблюдалось повышение относительного количества палочкоядерных нейтрофилов до $6,53 \pm 2,56\%$, сегментоядерных нейтрофилов – до $31,0 \pm 6,38\%$, эозинофилов – до $11,2 \pm 5,94\%$. В хозяйствах, находящихся на территориях с «умеренно опасным уровнем загрязнения почв», эти показатели крови регистрировались на более сбалансированном к физиологической норме уровне: количество эритроцитов составляло $6,51 \pm 0,92 \cdot 10^{12}/л$, палочкоядерных нейтрофилов – $3,38 \pm 1,93\%$, сегментоядерных нейтрофилов – $24,27 \pm 3,43\%$, эозинофилов – $4,25 \pm 1,34\%$.

Иммунологические показатели крови стельных коров на территориях с «опасным уровнем загрязнения почв» существенно отличались от физиологической нормы. Количество фагоцитарных клеток составляло 60%, что соответствовало верхней границе физиологической нормы, а их поглотительная способность увеличивалась до 13,04 у.е. Вместе с тем, отмечали снижение относительного количества Т-лимфоцитов до 27,35% и В-лимфоцитов – до 14,1%. Концентрация ЦИК достигала значения 147,2 у.е., что выше верхнего показателя нормы на 21%.

Результаты иммунологических исследований крови животных, районированных на территориях

с «умеренно-опасным уровнем загрязнения почв», носили менее выраженный характер. Количество активных фагоцитарных клеток составляло в среднем $52,20 \pm 4,12\%$, при фагоцитарном индексе $9,75 \pm 1,5$ у.е. Относительное количество Т-лимфоцитов регистрировалось на уровне $36,02 \pm 3,13\%$, В-лимфоцитов – $24,13 \pm 4,93\%$, что близко к средне-нормативным показателям для крупного рогатого скота. Среднее значение концентрации ЦИК составляло $101,73 \pm 6,07$ у.е. Патологии иммунной системы у животных в период беременности не было выявлено: индекс ЛТИ у коров, содержащихся в хозяйствах на территориях с «опасным уровнем загрязнения почв», составлял $7,04$ у.е., а на территориях с «умеренно опасным уровнем загрязнения почв» – $5,60$ у.е.

Таким образом, установлено, что изменения в системе крови и иммунитета у коров во вторую половину стельности являются транзиторными, что обусловлено физиологическим состоянием животных. Эти изменения несут компенсаторно-приспособительный характер и зависят от территориального расположения хозяйств. На территориях с «опасным уровнем загрязнения почв» степень выраженности этих изменений выше по сравнению с территориями с «умеренно-опасным уровнем загрязнения почв», где показатели находятся на более сбалансированном к физиологической норме уровне.

Проведенная оценка воздействия экологических факторов на иммуногематологические показатели стельных коров отражает реакцию организма на действие экотоксикантов, что позволяет оперативно оценить уровень иммунореактивности животных и своевременно осуществлять мероприятия по коррекции клинико-иммунологических и гематологических показателей.

Литература

1. Государственный доклад «О состоянии и охране окружающей среды в Свердловской области» [Текст]. – Екатеринбург, 2012-2018 – Ч. 1.
2. Государственный доклад «О состоянии санитарно-эпидемиологического благополучия населения в Свердловской области» [Текст]. – Екатеринбург, 2012-2018 – Ч. 1.
3. Шкуратова И.А., Донник И.М., Исаева А.Г., Кривоногова А.С. Экологический мониторинг аграрных предприятий Среднего Урала // Зоотехническая наука в условиях современных вызовов. Сборник статей научно-практической конференции с международным участием, посвященной 85-летию со дня рождения академия Л.К. Эрнста и 80-летию подготовки зоотехников в Вятской государственной сельскохозяйственной академии. – 2015. – С. 444-448.
4. Donnik I.M., Vykova O., Krivonogova A.S., Isaeva A.G., Lorets O.G., Baranova A., Musikhina H., Romanova A. Biological safety of cows' milk under the conditions of technogenic agricultural ecosphere when using biologically active substances // International Transaction Journal of Engineering, Management and Applied Sciences and Technologies. – 2019. –Т. 10. – № 2. – С. 203-209.
5. Сотникова Н.Ю., Анциферова Ю.С., Крошклина Н.В., Воронин Д.Н. Роль клеток врожденного иммунитета в обеспечении успеха беременности на ранних сроках гестации // Журнал акушерства и женских болезней. – 2013. – № 2. – С. 151-159.
6. Нежданов А.Г., Мануилов А.В. Воспроизводительная способность и перинатальная патология у коров в связи с иммунопрофилактикой инфекционных болезней // Ветеринарная патология. – 2003. – №2. – С. 59-61.
7. Mor G., Cardenas I. The immune system in pregnancy: A unique complexity // Am J Reprod Immunol. – 2010. – №6. – P. 425-433.
8. Колчина А.Ф., Шурманова Е.И., Таранова Л.А., Баркова А.С. Развитие и строение плодных оболочек и плода // Методические указания к лабораторному занятию для студентов. – Екатеринбург: Изд. УрГCSXA, 2013. – 46 с.
9. Ряпосова М.В., Заузолкова О.И., Сивкова У.В. Гинекологическая патология у коров в племенных заводах Свердловской области // Вопросы нормативно-правового регулирования в ветеринарии. – 2015. – № 2. – С. 241-242.
10. Смирнова Т.Л., Портнова Е.В., Сергеева В.Е. Иммунитет и беременность // Вестник Чувашского университета. – 2009. – №2. – С. 79-85.
11. Самбуров Н.В., Палаус И.Л. Биохимический и иммунологический статус коров при смене физиологического состояния // Вестник Курской государственной сельскохозяйственной академии. – 2015. – № 2. – С. 46-48.
12. Pellicer B., Perales-Marin A., Pellicer A. Relationship between maternal immunological response during pregnancy and onset of preeclampsia // Journal of Immunology Research. – 2014. – № 5. – P. 1-15.
13. Соколова О.В., Зайцева О.С., Белоусов А.И. Характеристика иммунного статуса высокопродуктивных коров и его влияние на формирование иммунной системы молодняка // В сборнике: Современные проблемы и инновационные подходы к диагностике, лечению и профилактике болезней животных и птиц. Экологические проблемы использования природных и биологических ресурсов в сельском хозяйстве. Материалы международной научно-практической конференции. – 2012. – С. 214-217.
14. Криушин Н.В., Кирасиров З.А. Особенности ведения сельского хозяйства на территориях, загрязненных экотоксикантами // Нива Поволжья. – 2009. – №3. – С. 62-66.
15. Принципы надлежащей лабораторной практики (GLP) [Текст]: ГОСТ 31886-2012. – Введ. 2013-01-01. – М.: Стандартинформ, 2013. – 10 с.
16. Панель наиболее информативных тестов для оценки резистентности животных / ФГОУ ВПО «Новосибирский государственный аграрный университет», Россельхозакадемия, Сиб. отд-ние, ГНУ ИЭВСиДВ ГНУ ВИЭВ; П.Н. Смирнов, Н.В. Ефанова. – Новосибирск, 2007. – 40 с.

Поступила в редакцию 14.06.20
После доработки 14.08.20
Принята к публикации 24.08.20

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ ИЗУЧЕНИЕ ИММУНОТРОПНОЙ АКТИВНОСТИ АЛБЕНДАЗОЛА В НИЗКИХ ДОЗАХ

О.И. Мамыкова, кандидат ветеринарных наук

Всероссийский институт фундаментальной и прикладной паразитологии ФНЦ ВИЭВ РАН,
117218, Москва, ул. Б. Черемушкинская, 28
E-mail: olga.mamykova@yandex.ru

Оценка иммунотропной активности албендазола в низких терапевтических дозах проведена на основе тестирования способности организма мышей линии CBA×C57BL/6 к индукции реакции гиперчувствительности замедленного типа (ГЗТ) и синтеза антител против тимусзависимого антигена. Показано, что албендазол в дозах 2,5 и 5,0 мг/кг не оказывал действия на иммунный ответ клеточного и гуморального типа. Индексы ГЗТ составили 10,1±3,14 и 10,8±2,45%, соответственно, и незначительно превосходили таковые в контроле на 3,1 и 10,2%. При введении албендазола в дозах 2,5 и 5,0 мг/кг иммунизированным животным, log_{1/2} титра гемагглютининов крови составил 6,8±0,46 и 7,0±0,47, а индексы действия албендазола – 1,03 и 1,06. Титр гемагглютининов в крови экспериментальных животных превышал таковой в контроле на 3,0 и 6,1%, соответственно. Показано, что иммунокомпетентные клетки, функционально обеспечивающие формирование замедленной гиперчувствительности и синтез антител против тимусзависимого антигена, толерантны к албендазолу. Албендазол в низких терапевтических дозах 2,5 и 5,0 мг/кг при однократном введении не обладал иммунотропной активностью. В испытанных дозах албендазол не является регулятором клеточных и гуморальных процессов, так как не способствует модуляции функциональной активности иммунокомпетентных клеток и их кооперативного взаимодействия, необходимых для развития иммунного ответа клеточного и гуморального типа.

EXPERIMENTAL STUDY OF ALBENDAZOLE IMMUNOTROPIC ACTIVITY IN LOW DOSES

Mamykova O.I.

The All-Russian Institute of Fundamental and Applied Parasitology – FSC RIEV RAS,
117218, Moskva, ul. B. Chermushkinskaya, 28
E-mail: olga.mamykova@yandex.ru

The immunotropic activity of albendazole in low doses was evaluated based on testing the ability of organism of CBA×C57BL/6 line mice to induce a delayed type hypersensitivity reaction (DTH) and the synthesis of antibodies to a thymus-dependent antigen. It was shown that albendazole at dose levels of 2,5 and 5,0 mg/kg of body weight had no effect on the immune response of the cellular and humoral type. DTH index amounted to 10,1±3,14 and 10,8±2,45%, respectively, and slightly exceeded that in the control by 3,1 and 10,2%. After the introduction with albendazole at the dose levels of 2,5 and 5,0 mg/kg of body weight to immunized animals, the logarithm of the antibody titer was 6,8±0,46 and 7,0±0,47, and drug action indexes were 1,03 and 1,06. The hemagglutinin titer in the blood of experimental animals exceeded that in the control by 3,03 and 6,1%, respectively. It was shown that immunocompetent cells that functionally provide the formation of delayed hypersensitivity and the antibodies synthesis against thymus-dependent antigen are tolerant to albendazole. Albendazole at low therapeutic dose levels of 2, 5 and 5, 0 mg/kg of body weight did not possess immunotropic activity. In the tested doses, albendazole is not a regulator of cellular and humoral processes, since it does not contribute to the modulation of the functional activity of immunocompetent cells and their cooperative interaction necessary for the development of cellular and humoral type immune response.

Ключевые слова: иммунотропная активность, албендазол, гиперчувствительность замедленного типа, гемагглютинины, синтез антител, клеточный и гуморальный иммунный ответ

Key words: immunotropic activity, albendazole, delayed type hypersensitivity, hemagglutinin, synthesis of antibodies, cellular and humoral type immune response

Накопленные данные о нежелательных побочных эффектах лекарственных препаратов на иммунную систему привели к формированию научного направления – иммунофармакологии, которое включает оценку механизма иммунотоксического или иммунотропного действия потенциальных лекарственных препаратов на основные иммунокомпетентные клетки [1]. Механизм иммунотропного действия дает представление о способе взаимодействия лекарственных препаратов с иммунокомпетентными клетками, при котором наблюдается определенная картина, характерная для конкретного лекарственного средства. Антигельминтики относятся к фармакологическим препаратам, которые применяют однократно или короткими неповторяющимися курсами, поэтому необходимость изучения их иммунотропной активности рассматривается индивидуально. Оценка иммунотропного действия может быть проделована отсутствием обоснованных экспериментальных данных об отрицательных эффектах медикаментов, близких по действию и химической струк-

туре, а также их аналогов. Изучение иммунотропной активности антигельминтиков предпринимается нами в связи с особенностями иммунного ответа при гельминтозах, ассоциированного с дисбалансом клеточных и гуморальных факторов [2, 3, 4], и обнаружением отрицательной динамики параметров иммунного статуса у экспериментальных животных после проведенной терапии [5]. Знание механизма действия лекарственных веществ является необходимым условием для разработки способов и поиска средств целенаправленной коррекции действия медикаментов для устранения или ослабления нежелательных побочных эффектов с помощью активных регуляторов иммунного ответа. В связи с этим целью настоящих исследований явилась оценка иммунотропных эффектов антигельминтного препарата албендазола из группы производных карбаматбензимидазола, нашедших широкое применение в практике терапии гельминтозов [6, 7, 8].

Методика. Оценка иммунотропных эффектов албендазола проведена в двух опытах на 60 самцах мышей

линии СВА×С57ВL/6. Албендазол – антигельминтное средство, производное карбаматбензимидазола [5-(пропилтио)-1-Н-бензимидазол-2-ил] карбамиловой кислоты метиловый эфир. Брутто формула $C_{12}H_{15}N_3O_2S$. Нематодоцидная активность албендазола обусловлена избирательным подавлением полимеризации β -тубулина, нарушением всасывания глюкозы и синтеза АТФ [9, 10]. Албендазол эффективен в широком диапазоне доз, как при однократном применении, так и при назначении по курсовой схеме. Препарат эффективен в отношении гельминтов: нематод (*Trichinella spiralis*, *Enterobius vermicularis*, *Strongyloides stercoralis*), цестод (*Hemenolepis nana*, *Taenia solium*, *Taenia saginata*), трематод (*Opisthorchis viverrini*). Эффективность албендазола доказана при тканевых паразитах – гидатидозах (*Echinococcus granulosus*, *Echinococcus multilocularis*) и цистицеркозах (*Cysticercus cellulosus*).

При тестировании иммуотропного действия албендазола на клеточный иммунитет (Th1) применяли модель гиперчувствительности замедленного типа (ГЗТ), которую воспроизводили по методу Kitamura [11]. Формирование клеточной реакции ГЗТ дает представление о способности фармакологических препаратов или биологически активных веществ влиять на интенсивность продукции сенсibilизированными лимфоцитами медиаторов клеточного иммунитета разнонаправленного действия в присутствии макрофагов при повторной встрече с соответствующим антигеном. Продукцию медиаторов клеточного иммунитета клетками-эффекторами ГЗТ стимулировали тимусзависимым антигеном – нативными эритроцитами барана (ЭБ).

Изучение иммуотропного действия албендазола на клеточный иммунитет проведено на 30 мышах, разделенных на 3 группы. Для воспроизведения реакции ГЗТ мышей подопытных групп иммунизировали однократно интраперитонеально сенсibilизирующей дозой тимусзависимого антигена: 0,5 мл 3%-ной суспензии ЭБ в стерильном физиологическом растворе. Албендазол вводили в дозах 2,5 и 5,0 мг/кг однократно перорально с помощью пищеводного зонда после сенсibilизирующей инъекции тимусзависимого антигена. Контролем служили животные, которым вводили только разрешающую дозу антигена.

Для выявления сенсibilизации на пятые сутки осуществляли локальный перенос антигена (разрешающая инъекция) в подушечку правой задней лапы мышей. В контрлатеральную лапу вводили физиологический раствор. О степени выраженности воспалительной реакции судили по приросту массы лап через 24 часа после разрешающей инъекции антигена. По разнице массы опытной и контрольной лап вычисляли индекс реакции ГЗТ (ИР) для каждой мыши по формуле:

$$ИР = (M_o - M_k) / M_k \times 100\%,$$

где M_o – масса опытной лапы; M_k – масса контрольной лапы.

Т-клеточно-опосредованный гуморальный иммунный ответ (Th2) при введении албендазола оценивали на основе тестирования способности организма мышей к выработке антител (гемагглютининов) против иммунизирующего агента – неинфекционного тимусзависимого антигена (нативных эритроцитов барана). Для индукции продукции гемагглютининов всех мышей иммунизировали интраперитонеально оптимальной дозой тест-антигена – 0,5 мл 3%-ной суспензии ЭБ трижды отмытых в стерильном физиологическом

растворе. Албендазол в дозах 2,5 и 5,0 мг/кг вводили в индуктивную фазу иммунного ответа. Титр антител в сыворотке крови каждой мыши определяли на пике первичного иммунного ответа в микроварианте прямой реакции гемагглютинации (РГА) [12]. РГА основана на адгезии частиц, несущих антиген (ЭБ), и специфических антител, содержащихся в крови. Титр антител выражали в виде $\log_{1/2}$ числа. Для сравнения выраженности иммунного ответа в опыте и в контроле определяли индекс действия препарата (ИД) [13], который представляет собой отношение титра антител в опыте к величине титра антител в контроле. Значение ИД 0,7 и $< 0,7$ свидетельствует о подавлении гуморального иммунного ответа под влиянием тестируемого препарата: значение ИД 1,3 и $> 1,3$ соответствует стимулирующему эффекту [14].

Статистическую обработку проводили с помощью программы «STUDENT 200». Достоверность разности между изучаемыми признаками определяли по критерию t Стьюдента при уровне значимости 0,05.

Результаты и обсуждение. Использование модельной системы гиперчувствительности замедленного типа позволяет оценить функциональную активность CD^{4+} хелперных клеток Th1 клона и их способность к экспрессии провоспалительных цитокинов TNF- α , IFN- γ , IL2 и IL6 [15]. Фармакологические средства или биологически активные вещества, вызывающие сдвиг индекса реакции ГЗТ, оказывают влияние на клеточный иммунитет, индуцируя синтез сенсibilизированными лимфоцитами медиаторов клеточного иммунитета. Степень воспалительной реакции в месте локального переноса антигена соответствует интенсивности формирования клеточной реакции ГЗТ. Результаты тестирования способности организма мышей к индукции ГЗТ при введении малых доз албендазола представлены в таблице 1.

Из приведенных данных следует, что однократное применение албендазола в терапевтических дозах 2,5 и 5,0 мг/кг не вызывало существенного изменения интенсивности формирования клеточной реакции ГЗТ. Значения индексов реакции ГЗТ у экспериментальных животных, получивших албендазол, превосходили таковой у мышей контрольной группы на 3,1 и 10,2%, соответственно, и не имели статистически значимых различий ($p > 0,05$). Воспроизведение реакции гиперчувствительности замедленного типа при введении албендазола показало, что эффекторные клетки ГЗТ, выполняющие лимфокинсекреторную функцию, толерантны к албендазолу в испытанных дозах. Теоретически допускаем, что эффекторные клетки ГЗТ менее резистентны к албендазолу в дозе 5 мг/кг, поскольку индекс реакции более чем в 3 раза превышал

Табл. 1. Интенсивность формирования гиперчувствительности замедленного типа у мышей линии СВА×С57ВL/6 при введении албендазола в низких дозах

Группа	Препарат	Доза, мг/кг	Кратность введения	Индекс реакции гиперчувствительности замедленного типа, %
1 опытная	албендазол	2,5	однократно	10,1±3,19
2 опытная	албендазол	5,0	однократно	10,8±2,45
3 контрольная	-	-	-	9,8±2,25

таковой при введении препарата в дозе 2,5 мг/кг. Фактически албендазол в дозах 2,5 и 5,0 мг/кг не вызывал сдвига индекса реакции ГЗТ, и, следовательно, не обладал иммуотропной активностью в отношении клеточного иммунитета.

Результаты воспроизведения модельной системы замедленной гиперчувствительности на линейных мышах СВА×С57BL/6 при введении албендазола противоречат ранее полученным данным. В эксперименте на белых беспородных мышах показано, что албендазол в диапазоне доз 2,5 – 10,0 мг/кг подавлял интенсивность формирования клеточной реакции ГЗТ. Выявлена обратная зависимость эффекта подавления иммунных реакций Th1 типа от дозы албендазола [16]. В литературе также представлены противоречивые сведения о влиянии албендазола на продукцию провоспалительных цитокинов CD⁺4 хелперными клетками Th1 клона. Показано усиление продукции IFN γ и IL2 при введении албендазола в комбинации с биологически активными веществами (L-MTP-PE, TF – фактор переноса) или вакцинами (живая холерная вакцина CVD 103-HgR). Усиление иммунных реакций клеточного типа (Th1) ассоциируется с ингибированием гуморального иммунного ответа (Th2) на фоне подавления продукции IL5, а также с торможением развития инвазии при экспериментальном альвеолярном гидатидозе мышей [17, 18] и у лиц, инвазированных *Ascaris lumbricoides* [19]. Ингибирование албендазолом секреции провоспалительных медиаторов клеточного иммунитета выявлено *in vitro* в первичной культуре крысиных купферовских клеток [20]. На основании данных собственных исследований и литературных сведений полагаем, что иммуотропная активность албендазола зависит от функционального состояния иммунной системы на момент введения антигельминтного препарата.

О состоянии гуморального иммунного ответа судили по интенсивности синтеза антител против тимусзависимого антигена. Согласно принятому положению, титр антител в крови экспериментальных животных при введении фармакологических средств косвенно отражает функциональную активность и кооперативное взаимодействие основных клеток иммунной системы (Т-, В- лимфоциты и макрофаги), включая главные фазы иммунного ответа от момента поступления в организм антигена до появления в крови антител: фагоцитоз, презентация антигена, активизация, пролиферация, дифференцировка, созревание плазматических клеток и синтез специфических антител. Иммунный ответ на тимусзависимый антиген определяется Т-клетками и макрофагами и характеризует преимущественно функцию Th2 лимфоцитов, которые дифференцируются из нативных CD⁺4 клеток под влиянием IL4. Клетки Th2 экспрессируют противовоспалительные цитокины IL4, IL10, IL13, IL5 и участвуют в продукции основных классов антител [21, 15, 22].

Табл. 2. Интенсивность Т-клеточно-опосредованного гуморального иммунного ответа у мышей линии СВА×С57BL/6 при введении албендазола в низких дозах

Группа	Препарат	Доза, мг/кг	Кратность введения	log ½ титра антител	Индекс действия
1 опытная	албендазол	2,5	однократно	6,8±0,46	1,03
2 опытная	албендазол	5,0	однократно	7,0±0,47	1,06
3 контрольная	-	-	-	6,6±0,77	-

Результаты тестирования гуморального иммунного ответа у мышей, иммунизированных тимусзависимым антигеном, при введении албендазола представлены в таблице 2.

Приведенные данные показывают, что однократное пероральное введение албендазола в низких терапевтических дозах 2,5 и 5,0 мг/кг не приводило к существенному изменению интенсивности антителопродукции к тест-антигену. Антитела против иммунизирующего агента обнаруживались в титре, превышающем средние контрольные значения, на 3,0 и 6,1%, соответственно. Индексы действия, равные 1,03 и 1,06, также указывают на толерантность CD⁺4 хелперных клеток, обеспечивающих развитие иммунного ответа гуморального типа (Th2), к албендазолу в испытанных дозах. Накопление антител к тимусзависимому антигену в крови протекало по типу, наблюдаемому у контрольных животных, не получавших препарат. Албендазол не оказывал влияния на интенсивность антителопродукции и, соответственно, на все фазы клеточного цикла В-лимфоцитов: функциональную активизацию, пролиферацию, дифференцировку предшественников В-лимфоцитов, способность вступать в кооперативное взаимодействие с другими клетками и способность реагирования на интерлейкины (фактор роста BCGF и фактор дифференцировки BCDF) [21]. Тестирование способности организма экспериментальных животных к синтезу антител подтверждает ранее полученный результат о толерантности Т-клеточно-опосредованного гуморального иммунитета к албендазолу [16]. Согласно литературным сведениям, применение албендазола снижает уровень как специфических, так и неспецифических антител в крови. Феномен усиления клиренса специфических антител при успешном лечении лиц с цистным гидатидозом и экспериментального трихинеллеза мышей [23, 24] обусловлен, очевидно, резистентностью гуморального иммунного ответа к албендазолу, и указывает на эффективность этиотропной терапии и возможность оценки проведенного лечения с помощью серологических реакций.

Результаты исследований показывают, что албендазол в низких терапевтических дозах 2,5 и 5,0 мг/кг при однократном введении самцам мышей линии СВА×С57BL/6 не обладал иммуотропной активностью. CD⁺4 хелперные клетки Th1 и Th2 клонов, экспрессирующие провоспалительные и противовоспалительные цитокины и реализующие развитие иммунного ответа клеточного (Th1) и гуморального (Th2) типа, толерантны к албендазолу. Албендазол не относится к иммуотропным средствам, поскольку в испытанных дозах не является регулятором клеточных и гуморальных процессов, не способствует модуляции функциональной активности иммуокомпетентных клеток и их кооперативного взаимодействия, необходимых для изменения направленности и интенсивности иммунного ответа.

Литература

1. Забродский П.Ф., Мандыч В.Г. Иммунотоксикология ксенобиотиков. – Саратов: СВИБХБ, 2007. – 420 с.
2. Urban J.F. et al. Local TH1 and TH2 responses to parasitic infection in the intestine: regulation by IFN-gamma and IL-4 // *Vet. Immunol. and Immunopathol.* – November 1996. – V.54, Issue 1-4. – P. 337-344.
3. Liu Z. et al. Requirements for the development of IL-4-producing T-cells during intestinal nematode

- infection: what it take to make a Th2 cell in vivo // *Immunol. Rev.* – September 2004. – V. 201, Issue 1. – P.57-74.
4. Kreider T., Anthony R.M., Urban J.F., Gause W.C. Alternatively activated macrophages in helminth infections // *Current Opinion in Immunol.* – August 2007. – V. 19, Issue 4. – P. 448-453.
 5. Мамыкова О.И. Концентрация циркулирующих иммунных комплексов при желудочно-кишечных стронгилятозах овец и их динамика при специфической терапии // *Труды Всесоюзного института гельминтологии.* – М., 1992. – Т. 31. – С. 83-92.
 6. Horton J. Albendazole: abroad spectrum anthelmintic for treatment of individuals and populations // *Current opinion in infect. Dis.* – Desember 2002. – V. 15, Issue 6. – P. 599-608.
 7. Markoski M.M. et al. Praziquantel and albendazole damaging action in vitro developing *Mesocestoides corti* (Platyhelminthes. Cestoda) // *Parasitol. Intern.* – March 2006. – V. 55, Issue 1. – P. 51-61.
 8. Mohammadi S.S., Genkider G.M., Loffredo C.A., Singer S.M. A meta-analysis of the effectiveness of Albendazole compared with Metronidazole as treatment for infection with *Giardia duodenalis* // *PLoS Negl. Trop. Dis.* – May 2010. – V. 4, Issue 5. – P. 682.
 9. Захарянц А.А. Бензимидазолы – конкурентные ингибиторы FAD-содержащей монооксигеназы // *Вестник Московского государственного университета, Серия 2. Химия.* – 2015. – Т. 56. – № 6. – С. 329-335.
 10. Furtado L.F.V., de Aguiar P.H.N., Zuccherato L.W., Teixeira T.T.G. Albendazole resistance induced in *Ancylostoma ceylanicum* is not due to single – nucleotide polymorphisms (SNPs) at codons 167, 198, or 200 of the *betatubulin* gene, indicating another resistance mechanism // *Parasitol. Res.* – 2019. – V. 118. – P. 837-849.
 11. Kitamura K. A Footpad weight assay method to evaluate delayed-type hypersensitivity in the mouse // *Immunol. Methods.* – 1980. – V. 39. – N 3. – P. 277-283.
 12. Sever J.L. Application of a micro-technique to viral serological investigation // *J. Immunol.* – 1962. – V. 88. – N 1. – P. 320-328.
 13. Мамыкова О.И. Методические указания по испытанию схем комплексного применения антгельминтных и иммуностимулирующих препаратов // *Труды Всесоюзного института гельминтологии.* – М., 2003. – Т. 39. – С. 353-360.
 14. Рубцова Е.Р., Подымова Н.Г. Исследование иммунотропной активности ингибиторов цАМФ- фосфодиэстеразы кофеина и теофиллина // *Фармакология и токсикология.* – 1986. – № 3. – С.74-77.
 15. Trinchieri G. Regulatory role of T cells producing both interferon γ and interleukin 10 in persistent infection // *J. of Exp. Medicine.* – 2001. – V.194. – N 10. – P. F53-F57.
 16. Мамыкова О.И. Дозозависимый побочный эффект албендазола на реакции клеточного иммунитета. Селективный механизм иммунобиологического действия комбинации рекомбинантного интерлейкина 2 (ронколейкин) и албендазола // *Теория и практика борьбы с паразитарными болезнями: Материалы докладов научной конференции, Москва 19-20 мая 2015.* – М., 2015. – Вып.16. – С. 239-242.
 17. Dvoroznakova E., Porubkova J., Snabel V., Fedorocko P. Immunomodulative effect of liposomized muramyltripeptide phosphatidylethanolamin (L-MTP-PE) on mice with alveolar echinococcosis and treated with albendazole // *Parasitol. Res.* – 2008. – V. 103. – P. 912-929.
 18. Dvoroznakova E., Porubkova J., Sevcikova Z. Immune response of mice with alveolar echinococcosis to therapy with transfer factor, alone and in combination with albendazole // *Parasitol. Res.* – 2009. – V. 105. – P. 1067-1076.
 19. Cooper P.J., Chino M., Sandoval C., Espinal I., Guevara A. Human infection with *Ascaris lumbricoides* is associated with suppression of the interleukin 2 response to recombinant cholera toxin B subunit following with the live oral cholera vaccine CYD 103-HgR // *Infect. and Immun.* – March, 2001. – V. 69. – N 3. – P. 1574-1580.
 20. Victorov A.V., Yurkiv V.A. Albendazole and colchicines modulate LPS induced secretion of inflammatory mediators by liver macrophages // *Bulletin of Exp. Biol. and Med.* – 2011. – V. 151. – N 6. – P. 627-629.
 21. Утешев Б.С. Механизмы активации и регуляции клеточного цикла В-клеток // *Успехи современной биологии.* – 1988. – Т. 106. – Вып. 3(6). – С. 382-395.
 22. Дьяченко П.А., Дьяченко А.Г. Роль Th17-клеток в патогенезе аутоиммунных заболеваний // *Вестник Сумского государственного университета, Серия Медицина.* – 2010. – № 2. – С. 14-22.
 23. Bonifacino R. et al. Assessment of the immunological surveillance value of humoral and lymphocyte assays in severe human cystic echinococcosis // *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene.* – 2000. – V. 94, Issue 1. – P. 97-102.
 24. Мамыкова О.И., Написанова Л.А. Эффективность применения ронколейкина в комплексной терапии экспериментального трихинеллеза мышей // *Доклады Российской академии сельскохозяйственных наук.* – 2012. – № 2. – С. 51- 54.

Поступила в редакцию 10.08.20
 После доработки 30.09.20
 Принята к публикации 08.10.20

Механизация

УДК 631.33

DOI: 10.31857/S2500262720060162

**ВЛИЯНИЕ КОНСТРУКТИВНЫХ ИЗМЕНЕНИЙ
В ПНЕВМАТИЧЕСКИХ ВЫСЕВАЮЩИХ УСТРОЙСТВАХ
НА КАЧЕСТВЕННЫЕ ПОКАЗАТЕЛИ ВЫСЕВА СЕМЯН****Б.Х. Ахалая¹**, кандидат технических наук, **Ю.Х. Шогенов²**, член-корреспондент РАН,
С.И. Старовойтов¹, доктор технических наук,¹Федеральный научный агроинженерный центр ВИМ Всероссийский институт механизации сельского хозяйства,
109428, Москва, 1-й Институтский проезд, 5
E-mail: badri53@yandex.ru²Российская академия наук, 119334, Москва, Ленинский проспект, 32а
E-mail: yh1961s@yandex.ru

Созданы конструкции пневматических высевающих устройств, работающих на избыточном давлении воздушного потока. В дозирующей системе пневматического устройства проведены конструктивные изменения. Высевающие диски жестко закреплены между собой для высева семян двух культур одновременно с возможностью смещения дисков по окружности и демонтажа, а воздушное сопло разделено на две пары патрубков с одинаковыми сечениями. Одна пара обеспечивает удаление лишних семян из ячеек, сохраняя единственное, другая пара – выталкивание из ячеек застрявших семян, не нарушая при этом их целостность с соблюдением установленных схем посева. Первая разработка предназначена для высева семян двух пропашных культур уплотненным способом, вторая – для высева семян пунктирным и гнездовым способами с различными физико-механическими и аэродинамическими свойствами. С помощью изменения в дозирующей системе, благодаря использованию втулок с отверстиями на резьбе, расположенных на дне конических ячеек, стал возможным переход от однозернового высева семян к гнездовому, не меняя высевающих дисков. Для этого достаточно сменить втулки ячеек с двумя или тремя отверстиями на них. Использование разработанных конструкций пневматических высевающих устройств позволяет улучшить эксплуатационную надежность и повысить урожайность высеваемой культуры до 15%.

INFLUENCE OF DESIGN CHANGES IN PNEUMATIC SEEDING DEVICES ON THE QUALITY INDICATORS OF SEEDING OF ANIMAL ORIGIN**Akhalaya B.Kh.¹, Shogenov Yu.Kh.², Starovoitov S.I.¹**¹Federal scientific Agroengineering center VIM all-Russian Institute of agricultural mechanization,
109428, Moscow, 1-j Institutskiy proezd, 5
E-mail: badri53@yandex.ru²Russian Academy of Sciences, 119334, Moscow, Leninskiy prospect, 32a
E-mail: yh1961s@yandex.ru

Designs of pneumatic seeding devices operating on an overpressure air flow have been developed. The first one is designed for seeding seeds of two row crops in a compacted way. The diffusion system developed by the pneumatic device produced constructive changes, the sowing discs are fixed between them for sowing seeds of two cultures at the same time with the possibility of displacement of one disk relative to another circumferentially and dismantling, and the air nozzle is divided into two pairs of nozzles with the same cross-sections, the first removes excess seeds from the cells, keeping one, and another pair for ejection of cells stuck seeds without compromising their integrity with adherence to established planting schemes. The second development is intended for seeding seeds by dotted and nest methods of seeds with different physical, mechanical and aerodynamic properties by changing the dosing system, in which, thanks to the use of bushings with holes on the thread located at the bottom of conical cells, it became possible to switch from single-grain seeding to nest seeding, without changing the seeding disks, it is enough to change the bushings of cells with two or three holes on them. The use of developed designs of pneumatic seeding devices allows improving operational reliability and increasing the yield of the sown crop by up to 15%.

Ключевые слова: бункер для семян, высевающий аппарат, дозирующая система, высевающий диск**Key words:** seed hopper, seeding unit, a metering system, a seed disk

Развитие сельского хозяйства напрямую связано с внедрением высоких технологий, позволяющих получить максимальную урожайность высококачественной продукции с минимальными энергетическими и трудовыми затратами при комплексной защите растений от вредителей, болезней, сорняков и применении удобрений, обеспечивающих условия роста и развития растения [1, 2]. Важнейшая задача земледелия – достижение максимума растениеводческой продукции с единицы площади пашни без снижения почвенного плодородия. Осуществление этой цели возможно разными путями. Обычно стремятся повысить урожайность культуры путем подбора наиболее продуктивного сорта и применения интенсивной технологии возделывания. Но

в этом случае сорт, его потенциальная биологическая продуктивность выступают ограничительным фактором, то есть почвенное плодородие в состоянии обеспечить производство большего объема продукции, а сорт не в состоянии использовать эту возможность. Подобное противоречие можно уменьшить путем совмещения посевов двух или нескольких культур на одном поле [3-6].

Одним из перспективных направлений считается введение в сельскохозяйственную практику уплотненных посевов, которые имеют следующие преимущества по сравнению с чистыми посевами:

- они формируют фотосинтетическую модель большой площади в разных ярусах, а с увеличением коли-

чества ярусов повышается эффективность использования растениями солнечной энергии и участия их в фотосинтезе;

- вследствие размещения корневых систем других видов растений в разных слоях почвы полнее используются минеральные вещества и влага;

- в совместных посевах создается более плотный травостой, который позволяет успешно подавлять сорные растения;

- совокупность растений разных видов реже страдает от вредителей и болезней;

- введение в состав бобовых культур улучшает азотное питание в целом всего посева;

- плотный растительный покров замедляет развитие водной и ветровой эрозии и способствует сохранению почвенного плодородия.

С экономической точки зрения такие посева относительно выгоднее благодаря более эффективному по сравнению с чистыми посевами использованию площади земель, равномерному распределению по времени труда рабочих и максимальному использованию возможностей комплекса сельскохозяйственных машин.

Цель исследования – разработка модернизированных пневматических устройств для высева семян уплотненным, пунктирным и гнездовым способами, повышающими качество высева семян двух культур в один рядок и обеспечивающими в процессе работы простой переход от пунктирного способа посева на гнездовой.

Методика. Анализ конструкций различных высевающих систем и способов высева семян [7-9] послужил основой для разработки высевающих устройств. Такие устройства обеспечивают высев семян различных культур уплотненным способом с высокой точностью, соблюдением схем посева и на повышенных скоростях. Кроме того создание пневматического высевающего аппарата для пунктирного и гнездового высева семян с различными физико-механическими и аэродинамическими свойствами стало возможным путем внесения конструктивных изменений в дозирующую систему, в которой используют втулки с отверстиями на резьбе, расположенные на дне конических ячеек. При этом можно перейти от однозернового высева се-

мян к гнездовому, не меняя высевающих дисков, для чего достаточно сменить втулки ячеек с двумя или тремя отверстиями.

Результаты и обсуждение. Проведен сравнительный анализ конструктивных особенностей высевающих систем как зарубежных [10-12], так и отечественных исследователей [13-17]. В импортной посевной технике в основном применяют дозирующие устройства, основанные на избыточном давлении воздушного потока, тогда как отечественные производители используют принцип вакуумного действия. При этом наблюдается общая тенденция перехода вакуумной системы высева семян на сжатый воздух. В частности, рассмотрена конструкция пневматического высевающего аппарата, дозирующее устройство которого содержит кольца, расположенные изнутри высевающих дисков. Кольца закреплены с возможностью их смещения вдоль продольной оси дозирующего устройства и изготовлены цилиндрической формы с рядами проникающих отверстий [18]. В рассматриваемой конструкции отсутствует возможность очистки отверстий от застрявших семян, что приводит к нарушению установленной схемы высева.

Известна конструкция пневматического высевающего устройства, в состав которого входит бункер из двух половин, дозатор с коническими ячейками, патрубков для удаления излишнего посевного материала. Патрубок на выходе разделен на две пары патрубков, первая служит для прижатия одного семени ко дну сквозной конической ячейки, вторая – для удаления застрявшего семени [19]. Устройство характеризуется следующими недостатками: для удаления застрявших семян из ячеек используют рукав для подвода воздушного потока, который расположен у конических ячеек с внутренней стороны в глубине высевающего диска, до места падения семян в борозду. В зоне падения на семена не действует воздушный поток, и они падают вниз под действием силы тяжести; конструктивные особенности такого аппарата не позволяют увеличить поступательную скорость посевного агрегата.

Разработанная конструкция пневматического высевающего устройства, действующая на избыточном давлении воздушного потока, представлена на рис. 1 [20].

Высевающий аппарат состоит из бункера для семян 1, который поделен пластиной 2 на две половины на валу 3 установлен двух высевающих дисков 4 и 5 (рис. 2); диски соединены крепежами, на них размещены ячейки 6 формы усеченного конуса. Над ячейками установлен патрубок 7 для подачи сжатого воздуха. Патрубок 7 поделен на две пары рукавов 8 и 9 с одинаковыми диаметрами, пара 8 предназначена для удаления из ячейки всех семян, за исключением одного прижатого ко дну ячейки, а вторая 9 – для выталкивания из ячеек застрявших семян (рис. 3). Нижний конец второй пары – рукав подведен над малым

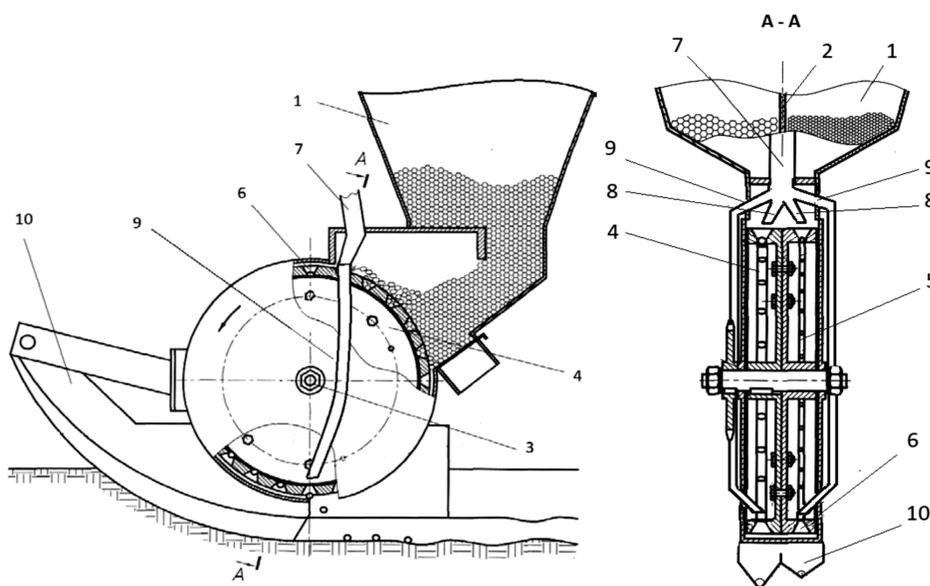


Рис. 1. Схема пневматического высевающего аппарата; обозначения в тексте.

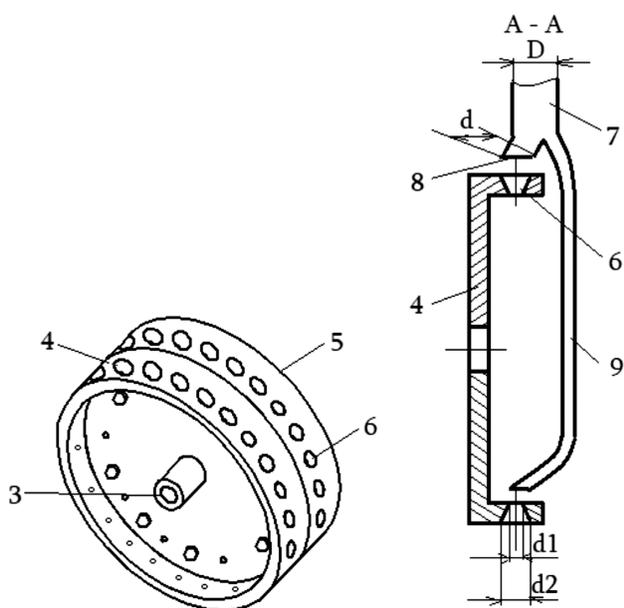


Рис. 2. Сдвоенный высевающий диск.

Рис. 3. Патрубок, разделенный надвое.

диаметром конических ячеек к месту схода семян в борозду и направлен вертикально вниз, при этом соотношение диаметров рукава 9 к малому диаметру конической ячейки 6 составляет $d_1:d_2=4:3$. Приведенное соотношение установлено экспериментальным путем и показывает, что при несоблюдении данного условия происходит чрезмерный расход воздуха или ощущается его недостаток при выдувании застрявшего на дне конической ячейки семени.

Работа высевающего аппарата начинается с того, что семена, находящиеся в двух половинах семенного бункера с момента начала движения сеялки, самостоятельно опускаются на торцевую поверхность высевающих дисков, откуда попадают в конические ячейки. Высевающие диски с застрявшим семенем в конической ячейке, совершая вращательные движения против

часовой стрелки (в данном случае), в нижней части высевающего аппарата подвергаются давлению воздушного потока, выпускаемого из патрубка, что приводит к принудительному (ускоренному) выпадению семени из ячейки в борозду, открытую сошником 10. Два диска между собой соединены крепежными винтами с возможностью перемещения по кругу, демонтажа и замены, что позволяет обеспечивать различные схемы высева семян. Такой высевающий диск упрощает конструкцию, исключая дополнительную цепную передачу, и удобен в эксплуатации.

Следующая разработка пневматического высевающего аппарата (рис. 4) состоит из бункера 1 для семян, оси 2 высевающего аппарата, на которой закреплен диск 3 с ячейками 4 формы усеченного конуса, патрубка 5 для избавления от лишних семян, заполненных в ячейке 4, и отсекавателя 6 для удаления застрявших семян из ячеек 4. На дне ячейки располагается втулка 7 с резьбой (рис. 5) и отверстия 8 в количестве 1-3; ячейка снабжена также глухой втулкой, которая выступает в роли заглушки. Боковые поверхности ячеек расположены под углом $50-55^\circ$ по отношению к горизонтальной оси. На боковой поверхности ячейки нанесены четыре равноудаленные сквозные отверстия 9, которые размещены на $2/3$ глубины ячейки сошника 10. Соотношение диаметра отверстия во втулке к нижнему и верхнему диаметрам ячейки определены условием $3:4:7$.

Угол наклона боковой поверхности к горизонтальной оси составляет $50-55^\circ$ и был вычислен опытным путем, что стало определяющим параметром при загрузке и разгрузке ячейки семян. Эксперимент показал, что, если данный угол будет меньше, то необходимо увеличить размер верхнего диаметра ячейки. Это приводит к сокращению количества ячеек и увеличению ширины диска, что не очень выгодно. Если же угол будет больше, то нарушается процесс удаления лишних семян.

Выполнение ячеек со сменными втулками на резьбе с отверстиями без них (заглушки) делают устройство универсальным, позволяет проводить высев семян тремя способами – пунктирным, совмещенным и

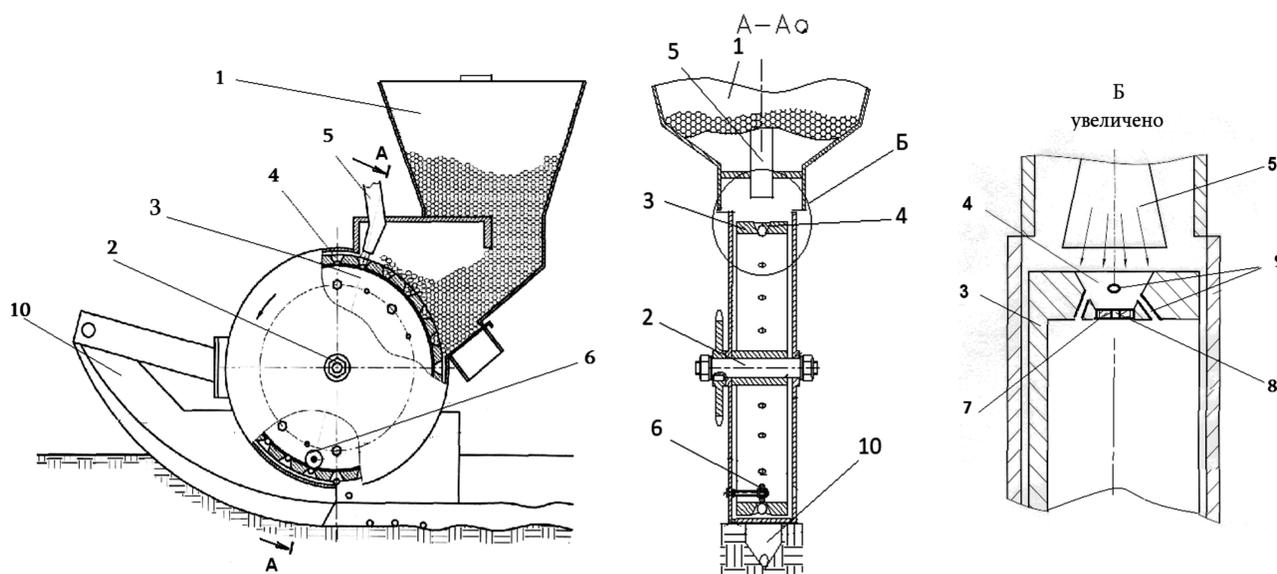


Рис. 4. Пневматический высевающий аппарат; обозначения в тексте.

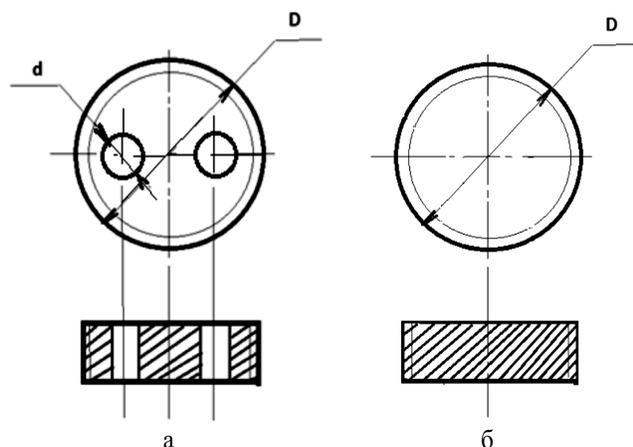


Рис. 5. Схемы втулок с отверстиями – а и без отверстий (заглушка) – б.

гнездовым. Применение глухих втулок-заглушек дает возможность менять нормы и схемы высева семян, что увеличивает эксплуатационную надежность устройства.

В процессе работы высевающего устройства семена из бункера самостоятельно загружаются в ячейки дозирующего устройства. Заполненные семенами ячейки вращающимся высевающим диском перемещаются в зону действия воздушного патрубка, откуда истекающим воздушным потоком выдуваются из ячейки все лишние семена, кроме одного, прижатого ко дну ячейки. Наличие четырех отверстий на боковой поверхности ячейки позволяет дополнительно оказывать давление на прижатое ко дну семя (зерновку), оmyвая ее поверхность обильным воздушным потоком. Такое воздействие на зерновку создает условия гарантированного сохранения в каждой ячейке по одному семени, что и обеспечивается в работе новой дозирующей системы высевающего аппарата. Диск, совершая круговое движение вместе с ячейкой с застрявшим семенем, упирается на выталкиватель семян, с помощи которого семя сбрасывается в борозду, открытое сошником.

Внедрение разработанного высевающего устройства способствует увеличению производительности сеялки за счет роста поступательной скорости посевного агрегата и в дальнейшем может привести к повышению урожая высеваемой культуры за счет сокращения сроков посева. Применение предлагаемого устройства для высева семян увеличит эксплуатационную надежность и обеспечит новые технологические возможности высевающего аппарата.

Литература

1. Лачуга Ю.Ф., Измайлов А.Ю., Лобачевский Я.П., Шогенов Ю.Х. Интенсивные машинные технологии, роботизированная техника и цифровые системы для производства основных групп сельскохозяйственной продукции // *Техника и оборудование для села.* – 2018. – N 7(253). – С.2-7.
2. Измайлов А.Ю., Шогенов Ю.Х. Интенсивные машинные технологии и техника нового поколения для производства основных групп сельскохозяйственной продукции // *Техника и оборудование для села.* – 2017. – N 7(241). – С.2-6.

3. Лобачевский Я.П., Сизов О.А., Ловкис В.Б. Экономически эффективный экологически обоснованный способ уплотненных посевов сельхозкультур // *Сельскохозяйственные машины и технологии.* – 2015. – N 6. – С.4-8.
4. Фирсов А.С., Голубев В.В. Перспективы развития дисковых высевающих аппаратов // *Агротехника и энергообеспечение.* – 2015. – N 1 (5). – С. 18-22.
5. Ивженко С.А. Пневматический скоростной посев // *Сельский механизатор.* – 1987. – N 9. – С. 5-6.
6. Ивженко С.А., Тихов В.М. Совершенствуем скоростной посев // *Степные просторы.* – 1986. – N 11. – С. 42-43.
7. Богомяжких В.А., Шевырев Л.Ю. Анализ работы дозирующей системы зерновой сеялки с централизованным высевом. – *Зерноград, ВПО АЧГАА, 2005.* – 85 с.
8. Черемисин Ю.М. Совершенствование процесса высева семян хлопчатника аппаратом пневматической сеялки: автореф. дис. канд.техн. наук. – *Зерноград, 2003.* – 20 с.
9. Попов А.Ю. Совершенствование конструкции пневматического высевающего аппарата избыточного давления // *Известия ВУЗов. Северо-Кавказский регион. Технические науки.* – 2009. – N 4. – С. 76-79.
10. Charits G. Ewing. Here come the air seeders // *Implement and Tractor.* – 1980. – V. 96. – 23. – P. 16-18.
11. Soza E., Botta G., Tourn M. and Hidalgo R. Sowing efficiency of two seeding machines with different metering devices and distribution systems: a comparison using soybean, *Glycine max (L) Merr.* // *Spanish Journal of Agricultural Research.* – 2004. – 2 (3). – P. 315-321.
12. Abdollahpour S., Karparvarfar S.H. Field evaluation of a grain drill equipped with jointers for direct planting in previous wheat crop residues // *Iran Agricultural Research.* – 2017. – 36(2). – P. 23-30.
13. Зенин Л.С. К теории точного высева // *Вестник с.-х. науки Казахстана.* – 1962. – N 1. – С. 62 – 84.
14. Ахалая Б.Х., Шогенов Ю.Х. Влияние турбулентного воздушного потока на качество высева семян. // *Вестник российской сельскохозяйственной науки.* – 2018. – N 1. – С. – 54-57.
15. Яковец, А.В., Анализ дозирующих систем сеялок точного высева // *Аграрная Россия.* – 2011. – N 3. – С. 60-63.
16. Akhalaya B.Kh. A laboratory study of the pneumatic sowing device for dotted and combined crops // *AMA, Agricultural Mechanization in Asia, Africa and Latin America.* – 2019. – T. 50. – N 1. – С. 57-59.
17. Ахалая Б.Х. Модернизация пневматической сеялки // *Сельскохозяйственные машины и технологии.* – 2011. – N 1. – С.35-36.
18. А.С. 818524, МПК А 01С 7/04. Пневматический высевающий аппарат / Рудаков Г.М., Чирцов С.П., Абдурахманов А., Юшин Ц.К., Кржеменевский П.К. – №2765391, заяв.14.05.1979; опубл. 07.04.1981. №19.
19. Пат. №155628, РФ. Пневматический высевающий аппарат для совмещенного посева // Юшин Ц.К. 2015. Бюл. №28.
20. Пат. №179017, РФ. Дозирующая система пневматического высевающего аппарата // Ахалая Б.Х., Шогенов Ю.Х., Гайко О.А. 2018. Бюл. №12.

Поступила в редакцию 09.07.20
После доработки 20.07.20
Принята к публикации 01.08.20

Перечень статей, опубликованных в 2020 году

		<i>№ 1</i>	
Растениеводство			
	и обменные процессы откармливаемого молодняка свиней		37
Гончаренко А.А., Макаров А.В., Кузьмич М.А., Ермаков С.А., Семенова Т.В., Точилин В.Н., Цыганкова Н.В., Гончаренко М.С., Кузьмич Л.С., Яшина Н.А., Крахмалева О.А., Кондратьева О.П.	Сравнительная оценка сортов озимой ржи по крупнообразующей способности	3	
Евграфкина Т.Н., Иванищев В.В., Бойкова О.И., Жуков Н.Н.	Индукция окислительного стресса карбонатным засолением в проростках тритикале	11	
Мажайский Ю.А., Шуравилин А.В., Пивень Е.А., Пивень Н.П., Черникова О.В.	Обоснование применения промышленной (голландской) технологии возделывания картофеля в Нечерноземной зоне России	15	
Защита растений			
Голубев А.С., Маханькова Т.А., Долженко В.И., Каракотов С.Д.	Биологическое обоснование возможности применения гербицидов в разные фазы развития зерновых культур	20	
Радиобиология			
Лой Н.Н., Санжарова Н.И., Гулина С.Н.	Влияние ионизирующих излучений на радиочувствительность <i>Oryzaephilus surinamensis</i>	25	
Агрехимия. Почвоведение			
Ямалтдинова В.Р., Завьялова Н.Е., Фомин Д.С., Васбиева М.Т.	Изменение показателей плодородия дерново-подзолистой тяжелосуглинистой почвы Предуралья под влиянием систем удобрений	29	
Аличаев М.М., Казиев М-Р. А., Султанова М.Г.	Оценка трендов развития почвенных процессов на горных пастбищах и проблемы охраны и рационального их использования	33	
Животноводство			
Чабаев М.Г., Некрасов Р.В., Стрекозов Н.И., Цис Е.Ю., Клементьев М.И.	Влияние различных уровней и форм хелатных металлопротеинатов на продуктивные качества		72
		<i>№ 2</i>	
Растениеводство			
Баталова Г.А., Тулякова М.В., Жуйкова О.А., Вологжанина Е.Н., Кротова Н.В.	Адаптивный потенциал перспективных линий и сортов пленчатого овса селекции Федерального научного центра Северо-Востока	3	
Пасынков А.В., Завалин А.А., Пасынкова Е.Н.	Совершенствование способа прогноза содержания сырой клейковины в зерне пшеницы	7	
Хаамируев Т.Н., Базарон Б.З., Волков И.В.	Шерстная и мясная продуктивность овец забайкальской породы хангильского типа		42
Улимбашев М.Б., Хуранов А.М., Краснова О.А., Кудрин М.Р., Хардина Е.В., Паритов А.Ю.	Оплодотворяемость и продуктивные качества крупного рогатого скота при разном уровне атмосферного давления		46
Ветеринария			
Мамыкова О.И.	Уровень циркулирующих иммунных комплексов и гематологический профиль при комбинированной терапии стронгилятозов желудочно-кишечного тракта		50
Медведев И.Н., Воробьева Н.В.	Физиологические свойства тромбоцитов у новорожденных телят холмогорской породы		54
Коцарев В.Н., Нежданов А.Г., Боев В.Ю.	Показатели концентрации половых стероидов свиноматок в прогнозировании воспалительных процессов в репродуктивных органах		58
Моделирование			
Салугин А.Н.	Численное моделирование сукцессионных переходов в агроэкологии		62
Хранение и переработка сельскохозяйственной продукции			
Кандроков Р.Х., Бегеулов М.Ш., Игонин В.Н., Наумович Р.В.	Мукомольные свойства зерна сортов и перспективных сортообразцов твердой озимой и яровой пшеницы		66
Механизация			
Лачуга Ю.Ф., Бурьянов А.И., Пахомов В.И., Червяков И.В.	Адаптация устройств обмолота к физико-механическим характеристикам убираемых культур		72
Шафигуллин Д.Р., Гинс М.С., Пронина Е.П., Романова Е.В., Солдатенко А.В.	Накопление сырого белка образцами сои овощного типа в условиях Центрального района Нечерноземной зоны России		13
Ильницкий О.А., Плугатарь Ю.В., Паштецкий А.В.	Динамика интенсивности фотосинтеза <i>Juniperus excelsa</i> M. Vieb и факторов внешней среды в ходе вегетации вида в условиях Южного берега Крыма		17
			71

Защита растений

- Лукомец В.М., Зеленцов С.В., Саенко Г.М., Мошненко Е.В., Зеленцов В.С.**
Фунгицидная активность слизиобразующих полисахаридов льна обыкновенного *Linum usitatissimum* L. 21
- Шаталина Л.П., Анисимов Ю.П., Калюжина Е.Л.**
Ассоциации сорных растений в агрофитоценозах яровой пшеницы 25
- Семененко С.Я., Лытов М.Н., Чушкина Е.И., Чушкин А.Н.** Применение электролизованной воды в системе мероприятий по борьбе с болезнями рассады томата 30

Агрехимия. Почвоведение

- Курамшина З.М., Хайруллин Р.М., Насретдинова Л.Р.** Влияние фосфорных удобрений на микоризацию корней культурных растений 36
- Стулин А.Ф., Стахурлова Л.Д.** Продуктивность подсолнечника на черноземах выщелоченных в длительном опыте с удобрениями 39

Мелиорация

- Кружилин И.П., Гамм Т.А.**
Этапы трансформации очистительной способности земледельческих полей орошения сточными водами газоперерабатывающего комплекса 44
- Иванов А.И., Иванова Ж.А., Соколов И.В.**
Вторичное освоение неиспользуемых угодий 48

Животноводство

- Седых Т.А., Гизатуллин Р.С., Долматова И.Ю., Гусев И.В., Калашникова Л.А.**
Полиморфизм гена соматотропного гормона в связи с качеством туш мясного скота 53
- Прохоров И.П., Калмыкова О.А.**
Особенности роста и развития скелета симментальских и помесных бычков, выращиваемых на мясо 58
- Шукюрова Е.Б., Марзанов Н.С.**
Генетическая характеристика голштинского крупного рогатого скота, разводимого на Дальнем Востоке 62
- Шаталина О.С., Ткаченко И.В., Афонина Д.А., Новицкая К.В.** Влияние степени генетического сходства по микросателлитным локусам родителей и дочерей на молочную продуктивность 66
- ### Ветеринария
- Нежданов А.Г., Шабунин С.В., Михалев В.И., Пасько Н.В., Сафонов В.А.**
Гормональный и цитокиновый профиль крови молочных коров в ранний период гестации 70
- Кузьмина Т.И., Чистякова И.В., Старикова Д.А.**
Мейотическое созревание и функционирование липидома в ооцитах свиней, завершивших фазу роста *in vivo* или *in vitro*, при пролонгированном культивировании 74

№ 3

Растениеводство

- Зенкина К.В., Асеева Т.А.** Модель адаптированного сорта ярового тритикале для условий Дальнего Востока 3
- Петров Л.К.** Оценка урожайности, экологической стабильности и пластичности сортов озимой пшеницы в условиях Нижегородской области 6
- Жуйкова О.А., Градобоева Т.П., Баталова Г.А.**
Эффективность инфекционных фонов при оценке овса на устойчивость к грибным болезням 10
- Илюшко М.В., Ромашова М.В.** Формирование тетраплоидов риса в андрогенезе *in vitro* 14
- Сердеров В.К., Караев М.К., Сердерова Д.В.**
Перспективные сорта картофеля для промышленной переработки в Дагестане 18

Защита растений

- Колесников Л.Е., Кременевская И.И., Прияткин Н.С., Архипов М.В., Киселёв М.В., Колесникова Ю.Р., Разумова И.Е.** Биологическое обоснование использования белкового стимулятора роста для повышения урожайности пшеницы и оценка качества зерна методами микрофокусной рентгенографии и оптического анализа 21

- Шорохов М.Н., Петрова Н.Г., Долженко В.И.**
Совершенствование ассортимента инсектофунгицидов 26
- ### Агрехимия. Почвоведение
- Алферов А.А., Чернова Л.С.**
Влияние азотных удобрений и биопрепаратов на продуктивность и качество зерна яровой пшеницы 32
- Завьялова Н.Е., Иванова О.В.**
Изменение агрохимических свойств дерново-подзолистой почвы в вегетационный период озимой ржи 36

Животноводство

- Левина Г.Н., Тихонов К.Е., Зелепукина М.В., Назаренко А.И.**
Поведение телок двух генотипов симментальской породы в период завершения полового созревания и случном возрасте 40
- Науменкова В.А., Атрощенко М.М., Гулов А.Н., Широкова О.В., Фролова Н.А.**
Сравнительная оценка определения целостности мембран спермиев жеребцов различными методами 45
- Гаганов А.П., Зверкова З.Н., Харламов К.В.**
Рапсовый жмых в кормлении бройлеров 49

Крупин Е.О. Оценка теплового стресса у крупного рогатого скота с использованием анализа метеорологических величин

53

Ветеринария

Шахов А.Г., Шабунин С.В., Сашнина Л.Ю., Жейнес М.Ю., Карманова Н.В., Боев В.Ю. Состояние клеточного иммунитета у поросят в ранний постнатальный период

57

Фомина Л.Л., Ошуркова Ю.Л., Жунина О.А., Кулакова Т.С., Вайцель А.Э. Изучение белковых компонентов слизи кожи рыб, обладающих тромбогенной активностью

61

Хранение и переработка сельскохозяйственной продукции

Панкратов Г.Н., Мелешкина Е.П., Витол И.С., Кечкин И.А., Нагайникова Ю.Р., Коломиец С.Н. Пшенично-льняная мука: условия получения и биохимические особенности

65

Механизация

Синеговская В.Т., Присяжная И.М., Синеговский М.О., Присяжная С.П. Использование экологически чистых технологий при получении зерна сои

71

№ 4

Растениеводство

Гончаренко А.А., Макаров А.В., Кузьмич М.А., Ермаков С.А., Семенова Т.В., Точилин В.Н., Цыганкова Н.В., Кузьмич Л.С., Гончаренко М.С., Крахмалева О.А., Яшина Н.А., Кондратьева О.П. Оценка экологической устойчивости, стабильности и пластичности сортов озимой ржи по признакам качества зерна

3

Сибикеев С.Н., Дружин А.Е., Гульятеева Е.И., Янковская А.А. Использование генпула твердой пшеницы в селекции яровой мягкой пшеницы

10

Кощева Н.С., Баталова Г.А., Лыскова И.В., Краева С.Н. Оценка современного генофонда льна-долгунца по основным хозяйственно ценным признакам в условиях Кировской области

14

Налбандян А.А., Хуссейн А.С., Федулова Т.П., Черепухина И.В., Крюкова Т.И., Руденко Т.С., Михеева Н.Р., Моисеенко А.В. Дифференциация сортообразцов сахарной свеклы по SSR-маркерам для создания перспективных гибридов

18

Шафигуллин Д.Р., Пронина Е.П., Гинс М.С., Солдатенко А.В. Предрасположенность накопления фенольных соединений у сои (*Glycine max* (L.) Merr.) в зависимости от воцного направления использования

22

Защита растений

Шпанев А.М., Смук В.В. Эффективность дифференцированного применения гербицидов в посевах озимой пшеницы

25

Шешегова Т.К., Щеклеина Л.М. Контроль спорыньи (*Claviceps purpurea* (Fr) Tul.) с помощью новых пестицидов

28

Почвоведение

Гамзиков Г.П., Сулейменов С.З. Влияние биомассы растений на азотный режим серой лесной почвы и продуктивность полевых культур

32

Рабинович Г.Ю., Подолян Е.А., Зинковская Т.С. Использование осадка сточных вод и режим органического вещества дерново-подзолистой почвы

37

Мелиорация

Дубенок Н.Н., Гемонов А.В., Лебедев А.В. Особенности формирования саженцев сливы, выращиваемых в плодовом питомнике при капельном орошении

42

Животноводство

Мельникова Е.Е., Никитин С.А., Кабанов А.В., Сермягин А.А., Харитонов С.Н., Зиновьева Н.А. Использование селекционных индексов в разных системах разведения свиней материнских пород

46

Глазко В.И., Косовский Г.Ю., Эркенов Т.А., Глазко Т.Т., Амерханов Х.А. Популяционно-генетические взаимоотношения между муфлоном и породами домашней овцы по высоко полиморфным геномным элементам

51

Вертипрахов В.Г., Кислова И.В., Овчинникова Н.В. Уровень кальция в рационе и его связь с активностью пищеварительных ферментов у цыплят-бройлеров

56

Филиппова Н.П., Степанов Н.П., Додохов В.В., Гаджиев А.М., Марзанов Н.С. Морфологические и генетические особенности пород лошадей Якутии

60

Ветеринария

Балышев В.М., Юрков С.Г., Балышева В.И., Лаптева О.Г., Сливко И.А., Живодеров С.П., Луницин А.В. Универсальная технология получения вируссодержащего материала для изготовления живых и инактивированных вакцин против особо опасных болезней мелкого и крупного рогатого скота

65

Неустроев М.П., Петрова С.Г. Результаты разработки вакцины против сальмонеллезного аборта лошадей

69

Механизация

Лачуга Ю.Ф., Ибятков Р.И., Зиганшин Б.Г., Шогенов Ю.Х., Дмитриев А.В. Моделирование траектории движения зерна по рабочим органам пневмомеханического шелушителя

73

73

№ 5

Растениеводство

Грабовец А.И., Фоменко М.А. Стабильность урожая в широком диапазоне сред – основной параметр при селекции озимой пшеницы

3

Сандухадзе Б.И., Бугрова В.В., Крахмалёва М.С., Мамедов Р.З. Особенности генотипа сортов озимой пшеницы, возделываемых в условиях Нечерноземной зоны РФ

8

Асеева Т.А., Зенкина К.В., Трифунтова И.Б. Формирование листовой поверхности яровых колосовых культур в условиях Среднего Приамурья

12

Синеговская В.Т., Очкурова В.В., Синеговский М.О. Содержание белка и жира в семенах сортов сои различного генетического происхождения

15

Эльконин Л.А., Сарсенова С.Х. Создание линий-восстановителей фертильности ЦМС типа 9E сорго на основе фертильных ревертантов, индуцированных условиями внешней среды

20

Седов Е.Н., Янчук Т.В., Корнеева С.А. Методы и результаты селекции яблони во Всероссийском научно-исследовательском институте селекции плодовых культур

25

Защита растений

Мешкова Л.В., Плотникова Л.Я., Сабаева О.Б. Устойчивость к черной головне сортов и коллекционных образцов двурядного ячменя в Западной Сибири

30

Перченко Н.А., Сергеева О.Н. Эффективность препарата Турмакс при возделывании картофеля в условиях Томской области

34

Радиобиология

Лой Н.Н., Санжарова Н.И., Гулина С.Н. Чувствительность *Trogoderma graminarium* Ev. к действию ионизирующего излучения

38

Агрехимия. Почвоведение

Леднев А.В., Дмитриев А.В., Попов Д.А. Изменение агрохимических показателей залежных дерново-подзолистых почв при их освоении в пашню

42

Слюсарев В.Н., Осипов А.В., Власенко В.П. Агроэкологические аспекты использования вино-коньячной барды на южных черноземах Таманского полуострова

46

Животноводство

Улимбашев М.Б., Улимбашева Р.А. Формирование мясной продуктивности баранчиков карачаевской породы в условиях вертикальной зональности территории Северного Кавказа

50

Седых Т.А., Калашникова Л.А., Гизатуллин Р.С., Косилов В.И. Влияние полиморфизма гена лептина на продуктивность мясного скота

54

Рыбоводство

Абрамов А.Ф., Слепцова Т.В., Ефимова А.А., Васильева В.Т., Прудецкая М.В. Биохимический состав и пищевая ценность муксуна нижнего течения реки Лена

59

Ветеринария

Шабунин С.В., Шахов А.Г., Сашнина Л.Ю., Востроилова Г.А., Ермолова Т.Г., Владимирова Ю.Ю. Взаимосвязь про- и антиоксидантного статуса и цитокинового профиля у поросят при технологическом стрессе

63

Хранение и переработка сельскохозяйственной продукции

Хворова Л.С., Андреев Н.Р., Баранова Л.В. Исследование со-кристаллизации глюкозы с хлоридом натрия

67

Информационное обеспечение

Бунин М.С., Пирумова Л.Н. Информационно-поисковый тезаурус по сельскому хозяйству и продовольствию Центральной научной сельскохозяйственной библиотеки

72

№ 6

Растениеводство

Бережная В.В., Клыков А.Г., Сидоренко М.Л., Слепцова Н.А., Тимофеева Я.О. Использование штаммов микроорганизмов для повышения урожайности яровой мягкой пшеницы (*Triticum aestivum* L.)

3

Снигирева О.М., Ведерников Ю.Е., Баталова Г.А. Формирование фотосинтетического аппарата яровой пшеницы сорта Баженька под влиянием регуляторов роста

7

Илюшко М.В., Гученко С.С., Ромашова М.В. Внутрикаллусная и межккаллусная морфологическая изменчивость удвоенных гаплоидов риса, полученных в андрогенезе *in vitro*

11

Багринцева В.Н., Ивашенко И.Н. Оценка отзывчивости гибридов кукурузы на азотное удобрение

16

Защита растений

**Гаврилова О.П., Орина А.С.,
Гогина Н.Н., Гагкаева Т.Ю.**

Совместная встречаемость метаболитов грибов *Alternaria* и *Fusarium*, ассоциированных с зерновыми культурами

Экология

Бухарина И.Л., Исламова Н.А., Лебедева М.А.

Влияние инокуляции корневой системы эндوفитом *Cylindrocarpon magnusianum* на показатели растений при воздействии солей тяжелых металлов

Агрохимия. Почвоведение

**Хусайнов Х.А., Абасов М.Ш., Тунтаев А.В.,
Муртазалиев М.С., Завалин А.А.**

Изменение агрохимических показателей чернозема типичного при различных приемах обработки и использовании средств химизации и биологизации

**Соколов Н.М., Жолинский Н.М., Стрельцов С.Б.,
Кораблева И.Н.** Влияние основной обработки на динамику накопления нитратного азота в почве

Якименко М.В., Бегун С.А.

Отличительные признаки ризобий видов *Sinorhizobium fredii* и *Bradyrhizobium japonicum*, обитающих в дальневосточных почвах

Животноводство

**Прохоров И.П., Калмыкова О.А.,
Пикуль А.Н., Александров А.В.** Эффективность производства говядины при использовании промышленного скрещивания

**Позовникова М.В., Васильева О.К.,
Митрофанова О.В.** Ассоциация гап-лотипа фертильности HCD с молочной продуктивностью и репродуктивными качествами голштинских коров

20 **Левина Г.Н., Максимчук М.Г., Артюх В.М.** Аминокислотный состав и биологическая ценность белков молока коров черно-пестрой породы и ее помесей с монбельярдской

Рыбоводство

24 **Бубунец Э.В., Жигин А.В., Лабенец А.В.** Влияние термических условий зимовки производителей на продолжительность инкубации икры и выдерживания предличинок осетровых рыб

Ветеринария

30 **Опарина О.Ю., Верещак Н.А.,
Малков С.В., Красноперов А.С.** Воздействие экологических факторов на иммуногематологические показатели стельных коров

38 **Мамыкова О.И.** Экспериментальное изучение иммуотропной активности албендазола в низких дозах

Механизация

42 **Ахалая Б.Х., Шогенов Ю.Х.,
Старовойтов С.И.** Влияние конструктивных изменений в пневматических высевающих устройствах на качественные показатели посева семян

46

50

54

59

63

67

Правила для авторов

1. Редакция помещает не более двух статей одного автора в год. Это правило не распространяется на академиков и членов-корреспондентов РАН и других академий.
2. Объем статьи не должен превышать **12 стр.**, включая таблицы (не более 4), рисунки (не более 4), библиографию (до 25 названий). Статья, набранная **крупным шрифтом через 1,5 интервала, пересылается по E-mail: nsm2308@yandex.ru**. В ней должны быть указаны **УДК, название статьи, инициалы и фамилии авторов, степени, полное название учреждения с адресом, E-mail, реферат** объемом не менее 500 знаков (не менее 17 строк с указанием цели опытов, объекта исследований, анализа полученных данных), **ключевые слова и все продублировано на английском языке. Таблицы и рисунки в одном файле с текстом. В тексте выделить "Методика" и "Результаты и обсуждение"**. Повторение одних и тех же данных в тексте, таблицах, графиках недопустимо. В конце статьи указать номер телефона (служебный, домашний, мобильный) каждого соавтора.
3. Рисунки (графический материал) должны быть выполнены **четко, представлены на отдельном листе в формате, обеспечивающем ясность передачи всех деталей, и/или на электронном носителе** (программы "Adobe PhotoShop", "Adobe Illustrator"). Подписи к рисункам должны быть напечатаны в конце статьи.
4. **Статья с большим количеством формул (не более 10) представляется на электронном носителе** – (программа "MS Equation" или подобная).
5. При описании методики исследования следует ограничиваться оригинальной ее частью, при элементном анализе приводить только усредненные данные.
6. Исползованная литература приводится в порядке очередности упоминания, в тексте – цифровые ссылки в квадратных скобках. Список литературы оформляется следующим образом: для книг – фамилии и инициалы авторов, полное название, место издания, название издательства, год издания, количество страниц; для журнальных статей – фамилии и инициалы всех авторов, название статьи, полное название журнала, год издания, номер тома, номер выпуска, страницы. Желательны ссылки на журналы, входящие в базу данных Scopus и Web of Science. **Цитируемость на свои работы не более 15%.**
7. При получении статьи редакция рассматривает ее соответствие тематике журнала и посылает на рецензию ведущим специалистам. Возвращение рукописи автору на доработку с копией рецензии не означает, что статья принята к печати. Датой поступления считается день получения редакцией окончательного варианта статьи.
8. Редакция посылает авторам на визу подготовленный к печати экземпляр статьи, который должен быть выслан обратно в течение суток с момента его получения.

Авторам высылается журнал в электронном виде.

С аспирантов плата за публикацию не взимается.

Для получения гонорара за публикацию в англоязычном издании авторы могут обратиться в Российское авторское общество по адресу: 123995, Москва, Б. Бронная, д. 6, стр. 1, тел.: +7 (495) 697-3335; и на сайте РАО: www.rao.ru (подвести курсор на "Правообладатели", далее на "Авторам научных статей". Здесь находятся документы для получения авторского гонорара.

Журнал рассылается только по подписке, в розничную продажу не поступает.