

Растениеводство

- Гончаренко А.А., Макаров А.В., Кузьмич М.А., Ермаков С.А., Семенова Т.В., Тоцилин 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
- Кощеева 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 овощного направления использования 22

Защита растений

- Шпанев А.М., Смуков 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 вирусодержащего 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

Plant growing

Goncharenko A.A., Makarov A.V., Kuzmich M.A., Ermakov S.A., Semenova T.V., Tochilin V.N., Tsygankova N.V., Kuzmich L.S., Goncharenko M.S., Krakhmaleva O.A., Yashina N.A., Kondratyeva O.P. Assessment of ecological variability, stability and plasticity of varieties of winter rye on traits of quality of grain 3

Sibikeev S.N., Druzhin A.E., Gulyaeva E.I., Yankovskaya A.A. Use of durum wheat gene pool in breeding of spring bread wheat 10

Koshcheeva N.S., Batalova G.A., Lyskova I.V., Kraeva S.N. Evaluation of the modern gene pool of long-fiber flax on the main economic and valuable characteristics in the conditions of the Kirov region 14

Nalbandyan A.A., Hussein A.S., Fedulova T.P., Cherepukhina I.V., Kryukova T.I., Rudenko T.S., Mikheeva N.R., Moiseenko A.V. Differentiation of sugar beet cultivars by SSR markers to create promising hybrids 18

Shafigullin D.R., Pronina E.P., Gins M.S., Soldatenko A.V. Predisposition of phenolic compounds accumulation in soybean (*Glycine max* (L.) Merr.) depending on the vegetable direction of use 22

Plant protection

Shpanev A.M., Smuk V.V. Effectiveness of differentiated application of herbicides in winter wheat crops 25

Sheshegova T.K., Shchekleina L.M. Control of ergot (*Claviceps purpurea* (Fr) Tul.) with new pesticides Pedology 28

Pedology

Gamzikov G.P., Suleimenov S.Z. Influence of plant biomass on nitrogen soil mode and productivity of field crops 32

Rabinovich G.Yu., Podolyan E.A., Zinkovskaya T.S. Use of sewage sludge and organic matter regime of sod-podzolic soil 37

Reclamation

Dubenok N.N., Gemonov A.V., Lebedev A.V. Features of forming plum seedlings growing in the nursery-garden with drip irrigation 42

Animal husbandry

Melnikova E.E., Nikitin S.A., Kabanov A.V., Sermyagin A.A., Kharitonov S.N., Zinovieva N.A. Selection indices using in different breeding systems of maternal pig breeds 46

Glazko V.I., Kosovsky G.Yu., Erkenov T.A., Glazko T.T., Amerkhanov Kh.A. Population-genetic relationship between mouflon and domestic sheep breeds by highly polymorphic genomic elements 51

Vertiprakhov V.G., Kislova I.V., Ovchinnikova N.V. The interrelationships of dietary calcium level and activities of the digestive enzymes in broiler chicks 56

Filippova N.P., Stepanov N.P., Dodokhov V.V., Gadgiev A.M., Marzanov N.S. Morphological and genetic features of the yakut horse breeds 60

Veterinary science

Balyshv V.M., Yurkov S.G., Balysheva V.I., Lapteva O.G., Slivko I.A., Zhivoderov S.P., Lunitsin A.V. Multipurpose technology for obtaining of virus-containing material for manufacture of live and inactivated vaccines against most dangerous diseases of cattle and goats 65

Neustroev M.P., Petrova S.G. Horse salmonella abortion vaccine development results 69

Mechanization

Lachuga Yu.F., Ibyatov R.I., Ziganshin B.G., Shogenov Yu.H., Dmitriev A.V. Modeling of grain motion trajectory by working elements of pneumomechanical peeling machine 73

Растениеводство

УДК 633.14: 630.165.41

DOI:10.31857/S2500262720040018

ОЦЕНКА ЭКОЛОГИЧЕСКОЙ УСТОЙЧИВОСТИ, СТАБИЛЬНОСТИ И ПЛАСТИЧНОСТИ СОРТОВ ОЗИМОЙ РЖИ ПО ПРИЗНАКАМ КАЧЕСТВА ЗЕРНА

А.А. Гончаренко, академик РАН,
А.В. Макаров, М.А. Кузьмич, доктора сельскохозяйственных наук,
С.А. Ермаков, Т.В. Семенова, В.Н. Точилин, Н.В. Цыганкова, Л.С. Кузьмич,
М.С. Гончаренко, кандидаты сельскохозяйственных наук,
О.А. Крахмалева, Н.А. Яшина, О.П. Кондратьева

Федеральный исследовательский центр «Немчиновка»,
 143026, Московская область, Одинцовский район, ул. Калинина, 1
 E-mail: goncharenko05@mail.ru

Представлены результаты изучения корреляционной зависимости и экологической изменчивости признаков качества зерна у 18 сортов озимой ржи, выращенных в широком диапазоне погодных факторов, сложившихся в 2014-2019 гг. Изучали признаки: вязкость водного экстракта (ВВЭ), число падения (ЧП), высота амилограммы (ВА), формоустойчивость подового хлеба (H/D), температура клейстеризации крахмала (Т °С), качество мякиша формового хлеба, объем хлеба, натура зерна, масса 1000 зерен, содержание белка и крахмала в зерне. По каждому признаку вычисляли коэффициент экологической вариации CVe, фенотипическую стабильность SF, экологическую пластичность b, и коэффициент наследуемости H². Показано, что уровень качества подового и формового хлеба у ржи достоверно определяют высота амилограммы, число падения, температура клейстеризации крахмала и вязкость водного экстракта (r=0,48-0,83). Под влиянием погодных условий года наиболее сильно варьировали высота амилограммы и число падения. Лучшими по хлебопекарным качествам были сорт Альфа с высоким ЧП и высоковязкая популяция GK-494BV. Среди худших сортов устойчиво выделялась низковязкая популяция GK-614HV. Показано, что высокий потенциал ВВЭ является важным признаком, способствующим улучшению хлебопекарных свойств зерна ржи. Проведено сравнение адаптивного потенциала популяций GK-494BV и GK-614HV, полученных в результате 10-кратного дивергентного отбора по признаку ВВЭ. Установлено, что многократный дивергентный отбор по ВВЭ коррелятивно изменяет многие признаки, определяющие хлебопекарные свойства зерна ржи. Характерной чертой проведенного отбора был тренд в сторону снижения экологической устойчивости и фенотипической стабильности основных (тесно коррелирующих) признаков качества зерна при одновременном повышении их экологической пластичности. При этом экологическое варьирование признаков при минус-отборе возрастало сильнее, чем при плюс-отборе.

ASSESSMENT OF ECOLOGICAL VARIABILITY, STABILITY AND PLASTICITY OF VARIETIES OF WINTER RYE ON TRAITS OF QUALITY OF GRAIN

Goncharenko A.A., Makarov A.V., Kuzmich M.A., Ermakov S.A., Semenova T.V., Tochilin V.N., Tsygankova N.V., Kuzmich L.S., Goncharenko M.S., Krakhmaleva O.A., Yashina N.A., Kondratyeva O.P.

Federal Research Center "Nemchinovka",
 143026, Moskovskaya oblast, Odintsovskiy rayon, ul. Kalinina, 1
 E-mail: goncharenko05@mail.ru

Results of studying of correlation dependence and ecological variability of traits of quality of grain at 18 varieties of winter rye which are grown up in the wide range of the weather factors which developed in 2014-2019 are presented. Studied traits: the viscosity of water extract (VWE), the falling number (FN), the amilogramma height (AH), a stable form of toppling bread (H/D relation), starch pasting temperature (°C T), quality of a crumb of square loaf, bread volume, grain nature, weight is 1000 grains, protein content and starch in grain. On each trait calculated coefficient of an ecological variation of CVe, phenotypical stability of SF, ecological plasticity b, of and coefficient of heritability H². It is shown that the level of quality of toppling and square loaf at rye was authentically defined by the amilogramma height, falling number, temperature of a pasting of starch and viscosity of water extract (r=0,48- 0,83). Under the influence of weather conditions of year height of an amilogramma and number of falling most strongly varied. On baking qualities a variety the Alpha (differs in high FN) and high-viscosity population of GK-494HV were the best. Low-viscosity population of GK-614LV was steadily distinguished from the worst varieties. It is shown that the high potential of VWE is the important trait promoting improvement of baking properties of grain of rye. Comparison of adaptive potential of populations of GK-494HV and GK-614LV received as a result of 10-fold divergent selection on the basis of VWE is carried out. It is established that repeated divergent selection on VWE correlative changed many traits defining baking properties of grain of rye. Characteristic feature of the made selection was the trend towards decrease in ecological and phenotypical stability of the main (closely correlating) traits of quality of grain at simultaneous increase in their ecological plasticity. At the same time the ecological variation of traits at minus selection increased stronger, than at plus selection.

Ключевые слова: озимая рожь, сорт, признак, экологическое варьирование, корреляция, фенотипическая стабильность, экологическая пластичность, хлебопекарные качества

Key words: winter rye, variety, trait, ecological variation, correlation, phenotypical stability, ecological plasticity, baking qualities

Известно, что хлебопекарные качества ржи зависят от состояния углеводно-амилазного комплекса зерна [1]. Ржаная мука отличается от пшеничной относительно высоким содержанием углеводов, сравнительно низкой температурой клейстеризации крахмала

и высокой активностью амилолитических ферментов. По этой причине в отдельные годы формируется зерно ржи с низкой набухаемостью крахмала, который не способен связывать всю влагу теста, что снижает его хлебопекарные качества. Важно и то, что при замесе

теста у ржи доминирует молочнокислое брожение, а не спиртовое, как у пшеницы. В кислом тесте белки этой культуры легко растворяются и не формируют связный клейковинный комплекс [2].

Основные биохимические компоненты зерна ржи – крахмал, белки и пентозаны (некрахмальные сахараиды). Каркасообразующую роль в ржаном хлебе выполняют пентозаны, содержание которых составляет 7-10%, что значительно больше, чем у других злаков [3]. Из общего количества пентозанов ржаной муки около 40% водорастворимы. Они отличаются высокой водоудерживающей способностью, что является решающим для пригодности к хлебопечению. При смешивании муки с водой они быстро набухают, связывают воду и образуют тесто. Если пентозанов мало, то ржаная мука имеет низкую водопоглощительную способность и низкую вязкость теста, которое при высокой активности альфа-амилазы не имеет достаточной силы для сохранения формы в процессе расстойки и выпечки хлеба [4].

Долгое время роль пентозанов в хлебопечении была не выясненной, и сортовые различия по их содержанию не изучены. Лишь в последние годы появились данные, что от уровня содержания пентозанов, особенно их водорастворимой фракции, сильно зависят хлебопекарные, кормовые и технологические качества зерна [5-8]. Количественное содержание водорастворимых пентозанов чаще всего оценивают косвенным путем, измеряя относительную вязкость водного экстракта зернового шрота с помощью высокоточных вискозиметров [9]. Исследования показали, что признак ВВЭ наряду с числом падения – важное слагаемое формулы хлебопекарной ржи и его необходимо использовать в селекции [10].

В то же время качество зерна ржи зависит не только от его биохимической структуры, но и от действия многих факторов внешней среды и преодолеть их отрицательные последствия можно лишь за счет создания экологически устойчивых сортов и гибридов [11]. Поэтому важно учитывать не только степень фенотипической выраженности признаков у создаваемых сортов, но и характер их адаптивных реакций в различных экологических условиях [12]. Создаваемые сорта могут различаться по амплитуде приспособляемости, то есть иметь относительно «широкую» или «узкую» экологическую пластичность. Понятие «адаптивность» означает способность сорта обеспечивать высокую и устойчивую продуктивность в варьирующих условиях среды [13]. Экологически устойчивые сорта характеризуются тем, что могут относительно нормально произрастать в широком диапазоне значений факторов среды. Особый интерес представляют сорта ржи с высоким гомеостазом признаков, определяющих хлебопекарные качества. Между тем адаптивные реакции этой категории признаков у ржи практически не изучены, что не позволяет достоверно раскрыть спектр экологических факторов влияния и идентифицировать генотипы с высоким потенциалом адаптивности. Хотя популяционные сорта ржи отличаются более высокой экологической устойчивостью, чем гибриды [14], все же адаптивный потенциал сортов необходимо улучшать, так как экологические стрессы могут негативно влиять на экспрессию признаков качества. Все это предопределяет актуальность эколого-адаптивной направленности селекции применительно к условиям конкретного региона.

Целью наших исследований было изучение экологической устойчивости, стабильности и пластичности

различных признаков, прямо или косвенно определяющих хлебопекарные качества озимой ржи, а также сравнительная оценка их по различным параметрам адаптивности с целью оптимизации селекции этой культуры на улучшение хлебопекарных качеств зерна.

Методика. Исходным материалом послужили 18 сортов озимой ржи (Альфа, Восход 1, Валдай, Татьяна, Московская 12, Московская 15, Московская 18, Крона, Популяция 11, ЖЗ-760, ГК-984, ГК-796, ГК-2701, ГК-2731, ГК-785, ГК-985, ГК-494ВВ, ГК-614НВ), которые проходили полевые испытания в 2014-2019 гг. на делянках 15 м² в 4-кратной повторности. Оценку хлебопекарных качеств зерна проводили методом пробной лабораторной выпечки подового и формового хлеба из обойной муки [15]. Качество зерна оценивали по 11 признакам: масса 1000 зерен (г), натура (г/л), содержание белка и крахмала (%), вязкость водного экстракта (ВВЭ), число падения (ЧП), высота амилограммы (ВА), температура клейстеризации крахмала (Т°С), формоустойчивость подового хлеба (Н/Д), объемный выход формового хлеба (см³), качество мякиша (балл). Содержание сырого протеина и крахмала определяли на инфракрасном спектрофотометре ИК-6250, число падения – на приборе Хагберга-Пертена, высоту амилограммы и температуру клейстеризации – на амилографе Брабендера, относительную вязкость водного экстракта зернового шрота – в сантимупазах (сП) на вискозиметре VT5L (Германия). По каждому признаку рассчитывали коэффициент экологического (CVe) и генотипического (CVg) варьирования. Компоненты дисперсий и коэффициенты наследуемости H^2 вычисляли по руководству А.В. Смирнова и др. [16].

Погодные условия за годы изучения значительно различались. Наиболее благоприятные условия для формирования высококачественного зерна сложились в 2017 г., когда посевы не полегли вплоть до уборки, а налив и созревание зерна проходили в теплую и сухую погоду. Это способствовало формированию относительно крупного зерна с высокой амилограммой и низкой активностью амилолитических ферментов. Очень неблагоприятными оказались погодные условия 2014 и 2019 гг., когда частые дожди в виде сильных ливней пришли на период массового цветения озимой ржи, что стало причиной раннего полегания посевов и формирования щуплого зерна в колосе. При этом полегание носило прикорневой характер и удерживалось вплоть до уборки, что негативно отразилось на массе 1000 зерен и величине числа падения, а у некоторых сортов отмечено видимое прорастание зерна в колосе.

Для оценки экологической устойчивости признака вычисляли коэффициент экологической вариации CVe , выраженный в процентах. Чем ниже его значение, тем выше экологическая устойчивость признака. Определяли также фактор стабильности SF , предложенный D. Lewis [17] для оценки способности генотипа создавать узкий (или широкий) диапазон фенотипов в меняющихся условиях среды. Если фактор $SF = 1$, то сорт идеально устойчив по фенотипу, так как не изменяет признаки при выращивании в разных средах. Если $SF > 1$, то фенотип неустойчив и его фенотипическая нестабильность тем больше, чем выше этот показатель. Экологическую пластичность сортов оценивали по S.A. Eberhart и W.A. Russell [18], вычисляя коэффициент линейной регрессии b , в качестве меры отзывчивости генотипа на изменяющиеся условия. Чем выше этот коэффициент, тем выше удельное приращение (или снижение) величины признака под влиянием внешнего фактора и тем выше его пластичность,

Табл. 1. Генотипическое (CVg) и экологическое (CVe) варьирование признаков качества зерна озимой ржи (по средним данным за 2014-2019 гг.)

Признак	Размах варьирования (min-max) по факторам влияния сорт/год	Коэф-фициент вариации CVg/CVe, %	Сорт		Год	
			лучший	худший	лучший	худший
Число падения, с	129-219/ 81-263	13,2/ 38,8	Альфа	ГК-614НВ	-	-
Высота амилограммы, е.а.	142-268/ 136-356	12,8/ 38,0	ГК-494ВВ	ГК-614НВ	-	-
Вязкость водного экстракта, сП	2,7-10,7/ 4,2-5,8	35,2/ 13,5	ГК-494ВВ	ГК-614НВ	-	-
H/D	0,18-0,31/ 0,18-0,29	12,8/ 16,1	ГК-494ВВ	ГК-614НВ	-	-
Температура клейстеризации, °С	57,6-63,2/ 57,0-63,0	2,1/ 5,7	Альфа	ГК-614НВ	-	-
Качество мякиша, балл	2,9-4,2/ 2,5-4,1	9,3/ 18,9	Альфа	ГК-614НВ	-	-
Объем формового хлеба, см ³	276-311/ 278-320	3,2/ 5,5	Мос-12	Крона	-	-
Натура зерна, г/л	677-728/ 695-729	1,8/ 2,9	Мос-15	ГК-614НВ	-	-
Масса 1000 зерен, г	29,6-34,2/ 29,8-35,2	3,9/ 6,6	ГК-984	ГК-614НВ	-	-
Содержание белка, %	11,4-13,5/ 11,1-12,8	4,6/ 5,1	ГК-614НВ	ГК-796	-	-
Содержание крахмала, %	52,5-56,2/ 52,1-58,3	2,1/ 4,6	ГК-984	ГК-614НВ	-	-

которая достигается за счет снижения фенотипической стабильности. Низкая норма реакции ($b_i < 1$) указывает на высокую буферность признака в различных экологических условиях.

Результаты и обсуждение. Основными факторами влияния на экспрессию признаков качества в наших опытах были генотип сорта и погодные условия года (табл. 1). Наиболее сильно они проявились по числу падения и высоте амилограммы. Под влиянием генотипа сорта эти признаки варьировали на уровне 12,8-13,2%, под влиянием условий года – 38,0-38,8%, то есть средовое варьирование в 3 раза превышало генотипическое.

По ВВЭ межсортовое варьирование почти втроекратно преобладало над экологическим (соответственно 35,2 и 13,5%), что объясняется включением в изучаемый набор уникальных сортообразцов ГК-494ВВ и ГК-614НВ, отселектированных на высокую и низкую величину признака. Что касается других показателей, то наиболее слабо (3-7%) оба вида варьирования проявились по натуре зерна, массе 1000 зерен, температуре клейстеризации крахмала, объему формового хлеба, содержанию белка и крахмала в зерне. Тем не менее по этим признакам сила влияния средового фактора тоже превышала влияние генотипа сорта. По формоустойчивости подового хлеба (H/D) и качеству мякиша формового хлеба варьирование было средним, но влияние экологического фактора над генотипическим – преобладающим.

Практически по каждому признаку качества определились лучшие и худшие сорта. Большинство из них отражало разные грани их качественных характеристик, поэтому в категорию «лучший» или «худший»

попадали разные сорта. Лучшим чаще других был сорт Альфа, полученный методом многократного отбора на высокое число падения, и образец ГК-494ВВ, отселектированный таким же методом на высокую ВВЭ. Сорт Альфа во все годы испытания превосходил другие сорта не только по числу падения, но и по температуре клейстеризации крахмала и качеству мякиша формового хлеба.

Среди худших сортов устойчиво выделялась популяция ГК-614НВ, отселектированная на низкую ВВЭ. Характерная ее особенность – мелкозерность, низкая натура, низкое содержание крахмала, низкие ЧП и ВВЭ. В совокупности эти признаки способствуют медленному процессу гидролиза крахмала, который протекает при относительно низкой температуре клейстеризации. В результате в тесте остается много декстринов и мало неповрежденного крахмала, из-за чего хлеб получается сильно расплывчатым, с крупнопористым, липким и заминающимся мякишем.

Однако по высоте амилограммы и формоустойчивости подового хлеба лучшим был не сорт Альфа, а высоковязкая популяция ГК-494ВВ. Благодаря высокой ВВЭ данный сорт при более низком, чем

у Альфы, числе падения (на 13 с) имел самую высокую амилограмму (268 е. а.) и был лидером по формоустойчивости подового хлеба (H/D=0,31). Следовательно, высокая ВВЭ способствует улучшению хлебопекарных свойств зерна ржи. Известно, что признак ВВЭ тесно коррелирует ($r=0,97$) с содержанием водорастворимых пентозанов [19].

На экспрессию признаков качества существенно влияли погодные условия года. По большинству признаков лучшее зерно ржи для хлебопечения сформировалось в 2017 г., а худшее – в 2019 г. По нашим наблюдениям, такая дифференциация обусловлена не только количеством выпавших осадков, но и вызванными ими характер, степень и длительность полегания посевов. В то же время не все изучаемые признаки реагировали однозначно. Исключение составили три признака: ВВЭ, содержание белка и крахмала в зерне. Их высокая экспрессия достигалась в относительно засушливые годы (2014, 2015, 2018), когда в период налива зерна преобладала теплая и сухая погода и не было сильного полегания.

Фенотипические корреляции между различными признаками качества зерна представлены в табл. 2. Как видно, главный кластер тесно коррелируемых признаков, определяющий качество подового и формового хлеба, составили число падения, температура клейстеризации крахмала, высота амилограммы, ВВЭ и натура зерна. Достоверные коэффициенты корреляции между ними – $r=0,48-0,83$. Особенно сильной оказалась связь между числом падения и температурой клейстеризации крахмала. Эти признаки находятся почти в прямой зависимости между собой. То же можно сказать и о сопряженности числа падения с высотой амилограммы.

Высокая корреляция этих признаков объясняется их сходной реакцией на изменение погодных условий в период налива и созревания зерна [20].

Важно отметить, что качество мякиша формового хлеба точнее всего определялось числом падения ($r=0,71$). Анализируя эту связь, мы находим, что положительный вклад в качество мякиша формового хлеба вносят высота амилограммы, температура клейстеризации крахмала и содержание водорастворимых пентозанов. Потенциал качества подового хлеба определяют три признака: высота амилограммы ($r=0,53$), ВВЭ ($r=0,68$) и число падения ($r=0,58$). Последние два признака тесно коррелируют друг с другом ($r=0,59$), поэтому объективный прогноз хлебопекарных свойств подового хлеба лучше достигается не по одному, а по двум признакам.

Наиболее индифферентными признаками оказались объем формового хлеба и масса 1000 зерен. Ни один из них достоверно не коррелировал с другими признаками качества. Причиной могла быть отмеченная их неоднозначная реакция на изменяющиеся погодные условия года. В связи с этим по величине признака ВВЭ косвенно можно судить о содержании водорастворимых пентозанов в зерне. Особенность в том, что при замесе ржаного теста ключевую роль в его вязкости играют не белки, а водорастворимые пентозаны, которые защищают крахмал от разрушения амилазными ферментами. В засушливые годы таких пентозанов в зерне ржи содержится больше, число падения и пик амилограммы имеют более высокие значения, в результате получается хлеб с упругим и мелкопористым мякишем, но с более низким объемным выходом. Во влажные годы содержание водорастворимых пентозанов в зерне низкое, их водоудерживающая способность и защитная роль снижаются, число падения и высота амилограммы также имеют низкие оценки. На фоне совокупного действия этих признаков формовой хлеб имеет более высокий объем. Это обстоятельство объясняет, почему объемный выход формового хлеба не коррелирует с другими признаками качества.

Содержание белка в зерне отрицательно влияло на натуру зерна ($r=-0,64$) и высоту амилограммы ($r=-0,53$). Причиной могла быть высокая водорастворимость белков, которые оказались не способны формировать упругий и эластичный мякиш. На этом фоне роль крахмала в хлебопечении возрастает, так как его содержание положительно коррелировало с натурой зерна ($r=0,59$). Крахмал – основной компонент набухания, который вместе с пентозанами поглощает воду при замесе теста и участвует в формировании хлебного мякиша.

Следует отметить отсутствие достоверной корреляции между ВВЭ и ВА ($r=0,39$). Это можно объяснить разными факторами, влияющими на экспрессию данных признаков: потенциал ВВЭ зависит главным образом от количества водорастворимых пентозанов, а высота амилограммы – от количества и качества крахмала. Эти компоненты набухания неадекватно реагируют на изменяющиеся погодные условия, что подтверждается различными коэффициентами экологического варьирования (для ВА $CVe=38,0\%$, а для ВВЭ $CVe=13,5\%$). Небольшая синхронность варьирования признаков стала причиной слабой корреляции между ними.

Интерес представляет разложение общей дисперсии изучаемых признаков на экологически и генотипически обусловленные компоненты. Если признак имеет сильную экологическую зависимость, то для него характерны высокое фенотипическое варьирование и сильное взаимодействие генотипа с погодными условиями года. Об этом можно судить по величине коэффициента наследуемости H^2 , косвенно отражающего уровень адаптивной способности генотипа (табл. 3). В наших опытах коэффициенты наследуемости H^2 оказались высоко достоверными по всем изучаемым признакам ($F_{\text{факт.}}=2,32-93,5$ при $F_{\text{табл.}}=2,15$), однако между ними имелись различия. Наиболее высокая доля генотипической дисперсии в общей фенотипической отмечена по содержанию крахмала, белка, ВВЭ и натуре зерна ($H^2=0,71-0,94$), менее высокая – по числу

Табл. 2. Коэффициенты корреляции (r) между различными признаками качества зерна озимой ржи (в среднем за 2014-2019 гг, n=18)

Признак	Высота амилограммы	Температура клейстеризации	Вязкость водного экстракта	Н/D	Качество мякиша	Натура зерна	Объем формового хлеба	Масса 1000 зерен	Содержание белка	Содержание крахмала
Число падения	0,72**	0,83**	0,59**	0,58*	0,71**	0,19	-0,20	0,05	-0,08	-0,09
Высота амилограммы	-	0,70**	0,39	0,53*	0,53*	0,62**	0,05	0,03	-0,53*	0,33
Температура клейстеризации		-	0,25	0,41	0,65**	0,54*	-0,05	0,15	-0,22	0,13
Вязкость водного экстракта			-	0,68**	0,48*	-0,25	-0,12	-0,04	0,19	-0,40
Н/D				-	0,41	0,08	-0,45	0,11	-0,33	-0,14
Качество мякиша					-	0,24	-0,14	0,20	-0,09	0,01
Объем формового хлеба						-	0,33	0,22	0,18	0,02
Натура зерна							-	0,31	-0,64**	0,59**
Масса 1000								-	-0,25	0,22
Содержание белка									-	-0,62**

* и ** Коэффициенты достоверны соответственно при 5- и 1% -ном уровне значимости.

Табл. 3. Компоненты дисперсии и коэффициенты наследуемости (H^2) различных признаков качества зерна озимой ржи

Признак	Дисперсия			H^2	Ффакт.
	фенотипическая (σ_{ph}^2)	средовая (σ_e^2)	генотипическая (σ_g^2)		
Число падения	10950	4562	1140	0,20	2,40
Высота амилограммы	22058	9520	2090	0,18	2,32
Температура клейстеризации	135,3	15,1	20,0	0,57	8,96
Вязкость водного экстракта	57,7	0,64	9,51	0,93	90,10
H/D	0,018	0,0037	0,0024	0,39	4,86
Качество мякиша	2,36	0,64	0,29	0,31	3,69
Объем формового хлеба	2775	793	309	0,28	3,50
Натура зерна	10293	654	1606	0,71	15,7
Масса 1000 зерен	39,0	6,7	5,4	0,45	5,82
Содержание белка	9,7	0,60	1,51	0,72	16,4
Содержание крахмала	1047	11,2	172,6	0,94	93,5

Примечание. F табл. = 2,15 при 5%-ном уровне значимости.

падения и высоте амилограммы ($H^2=0,18-0,20$), что и следовало ожидать вследствие их большого экологического варьирования (табл. 1).

Важна также оценка экологической устойчивости сортов по признакам качества. Используемые нами параметры адаптивности CVe , SF и b_i освещают разные грани экологической буферности сортов и положительно коррелируют между собой. В наших опытах эти корреляции составили $r=0,77-0,98$ (между CVe и SF), $r=0,58-0,95$ (между CVe и b_i) и $r=0,62-0,91$ (между SF и b_i). Взаимосвязь такова: чем меньше параметры CVe и SF , тем выше экологическая устойчивость и фенотипическая стабильность признака и тем ниже его отзывчивость на изменяющиеся погодные условия года, которую оценивает параметр b_i . Необходимо знать не только размах адаптивных реакций сортов при возделывании в различных экологических условиях, но и их зависимость от фенотипической выраженности признака. В наших опытах параметры CVe , SF и b_i неоднородно коррелировали со средним значением признака. Достоверно отрицательная корреляция проявилась

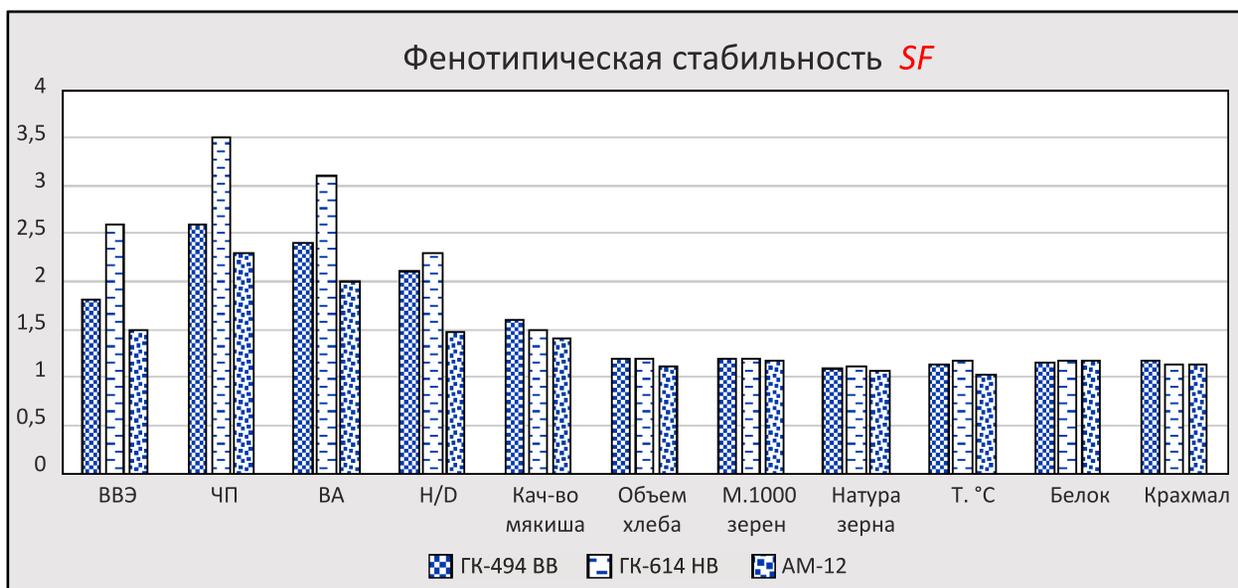
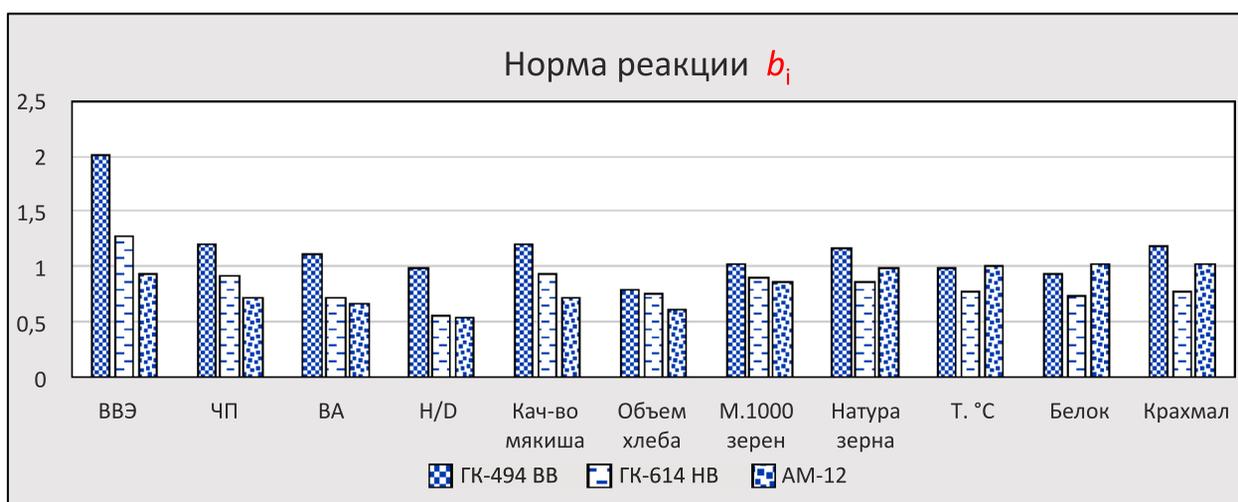
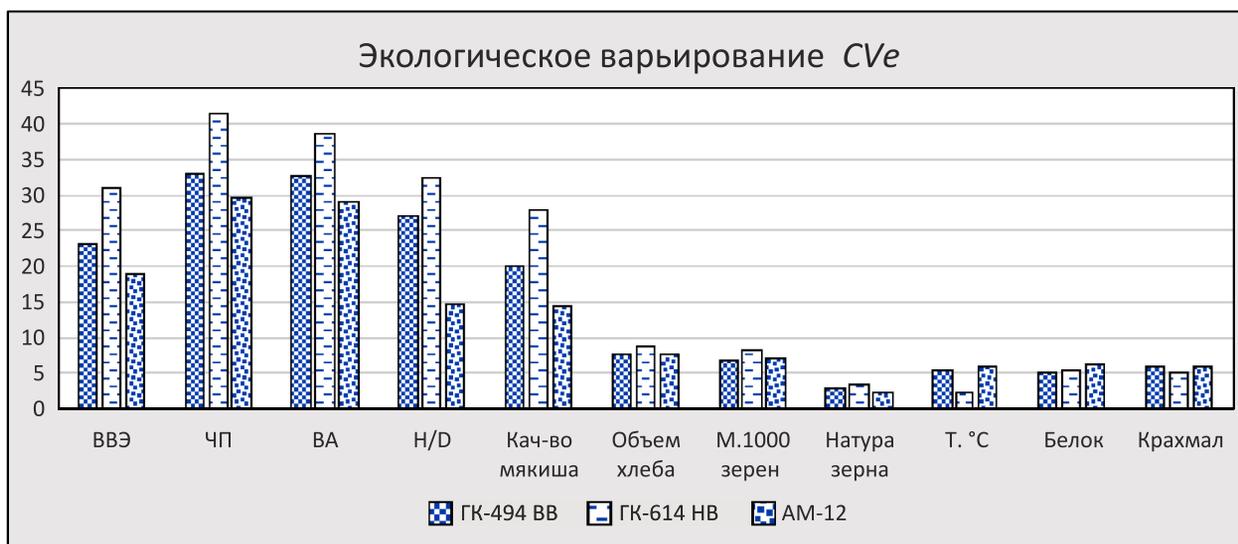
только между коэффициентом CVe и тремя признаками: числом падения ($r=-0,48$), качеством мякиша формового хлеба ($r=-0,74$) и содержанием крахмала в зерне ($r=-0,57$). Это значит, что селекция на высокое проявление этих признаков будет способствовать снижению их экологического варьирования. Показатель фенотипической стабильности SF коррелировал с изучаемыми признаками в большинстве случаев также отрицательно, но достоверная связь отмечена лишь по натуре зерна ($r=-0,50$) и содержанию крахмала ($r=-0,48$), что закономерно, так как признаки тесно сопряжены друг с другом ($r=0,59$, табл. 2). Коэффициент экологической пластичности b_i в большинстве случаев положительно коррелировал с экспрессией изучаемых признаков, то есть отзывчивость сортов на изменяющиеся погодные условия года возрастала, что не совпадает с задачей селекции на экологическую устойчивость. Причина этого заключается в генетической детерминированности нормы реакции, проявление которой сильно зависит от взаимодействия генотип x среда [21], поэтому обосновано считается, что в селекции на адаптивность предпочтение следует отдавать сортам с узкой, а не с широкой нормой реакции [22].

Большой интерес представляет выяснение возможной динамики тренда параметров CVe , SF и b_i под влиянием целенаправленной селекции. С этой целью провели сравнение популяций ГК-494ВВ и ГК-614НВ, полученных в результате 10-кратного отбора высоковязких (ВВ) и низковязких (НВ) генотипов из сортов Альфа и Московская 12 и последующего положительного ассортативного скрещивания популяций от плюс- и минус-отбора (табл. 4). Разнонаправленный отбор по ВВЭ коррелятивно повлиял на многие другие признаки качества. Характерной особенностью высоковязкой популяции ГК-494ВВ было высокое число падения, высота амилограммы и натура зерна. При выпечке эта популяция давала устойчивый к расплыванию хлеб с плотным, упругим и мелкопористым мякишем, но с более низким объемным выходом. Низковязкая популяция ГК-614НВ характеризовалась самым низким числом падения и высотой амилограммы, имела относительно мелкое, низконатурное и низкокрахмалистое зерно и давала сильно расплывающийся хлеб с повышенным объемным выходом, но с крупнопористым и липким мякишем. Как видно, отбор по ВВЭ привел к изменению других признаков, не подвергавшихся действию прямого отбора.

Графическая оценка популяций ГК-494ВВ и ГК-614НВ в сравнении с исходной родительской формой АМ-12 (среднее значение параметров CVe , SF и b_i по сортам Альфа и Московская 12) представлена на рисунке. Сравнимые популяции заметно различались по всем параметрам. Однако эти различия были особенно четкими только у плеяды тесно коррелируемых признаков: ВВЭ, ЧП, ВА, H/D, качества хлебного мякиша.

Табл. 4. Результаты сравнительной оценки технологических и хлебопекарных свойств зерна сортов Альфа, Московская 12, ГК-494ВВ и ГК-614НВ (среднее за 2014-2019 гг.)

Сорт	ВВЭ, сП	ЧП, с	ВА, е.а.	H/D	Масса 1000 зерен, г	Качество мякиша, балл	Объем хлеба, см ³	Температура, °С	Натура зерна, г/л	Белок, %	Крахмал, %
Альфа	4,9	220	266	0,256	32,1	4,2	296	63,2	726	12,0	53,6
Московская 12	4,8	176	260	0,228	32,2	3,8	312	59,8	720	11,9	55,3
ГК-494ВВ	10,7	206	268	0,315	30,8	3,9	292	60,6	719	11,4	53,7
ГК-614НВ	2,7	129	142	0,184	30,0	2,8	298	57,6	694	12,6	52,7



Сравнение параметров адаптивности CVe , SF и b_i у контрастных по ВВЭ популяций озимой ржи: ГК-494ВВ, ГК-614НВ и АМ-12.

По другим признакам популяции различались незначительно. Специфика проявилась в том, что высоковязкая популяция ГК-494ВВ имела более низкие значения параметров CV_e и SF , но более высокие оценки по параметру b_r . У низковязкой популяции ГК-614НВ отмечены относительно высокие оценки параметров CV_e и SF , но более низкие по коэффициенту b_r , то есть она характеризовалась более низкой нормой реакции.

Сопоставление этих двух популяций показывает, что многократный дивергентный отбор по ВВЭ существенно отразился на потенциале их адаптивности. Обе популяции оказались экологически менее устойчивыми, чем исходная форма АМ-12, так как более сильно варьировали и изменяли фенотип под влиянием внешних условий. В то же время высоковязкая популяция ГК-494ВВ на фоне низковязкой ГК-614НВ выделялась лучшими хлебопекарными качествами зерна в различные по погодным условиям годы. С селекционной точки зрения низкие оценки по CV_e и SF , характерные для популяции ГК-494ВВ, имеют более важное адаптивное значение, чем высокая экологическая пластичность (высокая норма реакции по b_r). Причина в том, что свойство экологической пластичности можно эффективно использовать лишь в благоприятные годы. В наших опытах высокая экологическая устойчивость и фенотипическая стабильность популяции ГК-494ВВ сочеталась с повышенной отзывчивостью на изменяющиеся условия среды. Это не всегда желательно, так как высокая пластичность снижает фенотипическую стабильность признаков. Такие «прямолинейные» генотипы могут представлять интерес для селекции в конкретных, сугубо специфических условиях. Этот тезис соответствует заключению А.А. Жученко [12] о том, что широкая норма реакции в адаптивном потенциале сорта не должна доминировать над экологической устойчивостью. Сорта с высокой отзывчивостью на перепад средовых факторов экологически неустойчивые. В селекционном отношении такие генотипы менее ценные, поскольку проявляют чувствительность не только к благоприятным, но и к неблагоприятным условиям среды.

Таким образом, многократный отбор на высокую ВВЭ коррелятивно улучшил формоустойчивость подового хлеба, высоту амилограммы, число падения и другие хлебопекарные свойства зерна ржи. Характерная черта такого отбора – тренд в сторону снижения экологической устойчивости и фенотипической стабильности признаков при одновременном повышении их экологической пластичности. При отборе форм с низкой ВВЭ экологическая устойчивость и стабильность признаков снижались сильнее, чем при плюс-отборе, но при этом сильнее проявлялась экологическая отзывчивость на перепад средовых факторов. Поэтому для создания экологически устойчивых по качеству зерна сортов ржи вектор селекции должен быть направлен на адаптацию к таким стрессовым условиям, которые наиболее часто выходят за пределы биологического оптимума в данном регионе. Для ускорения такой оценки селекционируемые генотипы следует испытывать в разных экологических точках.

Литература.

1. Drews E. Results of multiyear research on the quality of rye used for bread production in the German Federal Republic // *Hod.rosł., klimat. i nasienn.* – 1975. – 19. – N 5-6. – P. 633-639.

2. Дреус Э., Зайбель В. Хлебопечение и другое использование ржи в мире // В кн. *Рожь: производство, химия, технология.* – М: Колос, 1980. – С. 173-239.

3. Brummer J.M. Rye Flour // *Future of Flour – a Compendium of Flour Improvement.* Verlagrimedia, 2006. – 480 p.

4. Delcour J.A., Vahnamel S., Hosenev R.C. Physico-chemical and functional properties of rye non-starch polysaccharides // *Cereal chemistry.* – 1991. – N 1. – P. 72-76.

5. Исмагилов Р.Р. Изменчивость содержания водорастворимых пентозанов в зерне озимой ржи // *Достижения науки и техники АПК* – 2012. – N 6. – С. 35-36.

6. Исмагилов Р.Р., Гайсина Л.Ф. Хлебопекарные качества зерна гибридов F1 озимой ржи // *Достижения науки и техники АПК.* – 2015. – Т. 29. – N 1. – С. 24-26.

7. Пономарева М.Л., Пономарев С.Н., Гильмуллина Л.Ф., Маннапова Г.С. Фенотипическая оценка содержания пентозанов в ржаном широте методом определения вязкости водного экстракта // *Достижения науки и техники АПК.* – 2015. – Т. 29. – N 11. – С. 32-35.

8. Шакирзянов А.Х., Леценко Н.И., Никонорова И.М., Агафонова В.А. Перспективные образцы озимой ржи для селекции кормовой ржи в условиях юго-западного Предуралья // *Достижения науки и техники АПК.* – 2019. – Т. 33. – N 8. – С. 38-42.

9. Тимоценко А.С., Гончаренко А.А., Лазарева Е.Н. Адаптация роторного вискозиметра VT5L/R к определению относительной вязкости водного экстракта зернового широта озимой ржи // *Сельскохозяйственная биология.* – 2008. – N 5. – С. 110-115.

10. Гончаренко А.А. Новые направления в селекции озимой ржи на целевое использование // *Зернобобовые и крупяные культуры.* – 2016. – N 2 (18). – С. 25-32.

11. Жученко А.А. Экологическая генетика культурных растений и проблемы агроэкологии (теория и практика). Т.1. – М., 2004. – 688 с.

12. Жученко А.А. Эколого-генетические проблемы селекции растений // *Сельскохозяйственная биология.* – 1990. – N 3. – С. 3-23.

13. Жученко А.А. Экологическая генетика культурных растений как самостоятельная научная дисциплина. – Краснодар: Просвещение-Юг, 2010. – 485 с.

14. Geiger H.H., Miedaner T. Rye Breeding // *In Handbook Cereals.* By Editor Marcelo J. Carena, Springer Science + Business Media. LL, 2009. – P. 157-182.

15. Комаров В.И., Ракитина А.Н. Методика определения хлебопекарных свойств ржи на ранних этапах селекции // *Селекция и семеноводство.* – 1985. – N 3. – С. 25-27.

16. Смирязев А.В., Мартынов С.П., Кильчевский А.В. Биометрия в генетике и селекции растений. – М.: Издательство МСХА, 1992. – 268 с.

17. Lewis D. Gene-environment interaction: A relationship between dominance, heterosis, phenotypic stability and variability // *Heredity.* – 1954. – 8. – P. 333-356.

18. Eberhart S.A., Russell W.A. Stability parameters for comparing varieties // *Crop Sci.* – 1966. – N 6. – P. 36-40.

19. Boros D., Marquardt R.R., Slominski B.A., Guenter W. Extract viscosity as an Indirect Assay for water-soluble Pentosan Content in Rye // *Cereal Chem.* – 1993. – V. 70 (5). – P. 575-580.

20. Гончаренко А.А., Ермаков С.А., Семенова Т.В., Беркутова Н.С., Амфилогова Л.Ф. Селекция озимой ржи на качество зерна // *Доклады Россельхозакадемии.* – 1995. – N 5. – С. 9-11.

21. Wehmann F., Geiger H.H., Lock A. Quantitative-genetic basis of sprouting resistance in rye // *Plant Breeding.* – 1991. – 106. – P. 196-203.

22. Жученко А.А. Экологическая генетика культурных растений и проблемы агроэкологии (теория и практика). Т.2. – М., 2004. – 1153 с.

Поступила в редакцию 20.01.20
После доработки 05.03.20
Принята к публикации 15.03.20

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ГЕНПУЛА ТВЕРДОЙ ПШЕНИЦЫ В СЕЛЕКЦИИ ЯРОВОЙ МЯГКОЙ ПШЕНИЦЫ*

С.Н. Сибикеев,¹ доктор биологических наук, А.Е. Дружин,¹ кандидат сельскохозяйственных наук,
Е.И. Гуляева,² доктор биологических наук, А.А. Янковская,³ кандидат биологических наук

¹Научно-исследовательский институт сельского хозяйства Юго-Востока,
410010, Саратов, ул. Тулайкова, 7
E-mail: sibikeev_sergey@mail.ru

²Всероссийский научно-исследовательский институт защиты растений,
196608, Санкт-Петербург – Пушкин, ш. Подбельского, 3

³Институт общей генетики имени Н.И. Вавилова Российской академии наук,
119991, Москва, ул. Губкина, 3

Проанализированы устойчивые к возбудителю листовой ржавчины интрогрессивные линии яровой мягкой пшеницы L679 и L299. Они получены в результате межвидовой гибридизации сорта яровой мягкой пшеницы Добрыня и сорта твердой пшеницы Золотая волна. Оценка эффективности устойчивости этих линий против саратовской популяции патогена в полевых условиях, а также к трем тест-клонам, вирулентным к генам устойчивости Lr9, Lr19 и Lr26, показала их высокую устойчивость в стадии проростков и взрослых растений. Исследования на наличие известных Lr-генов с помощью 17 ДНК-маркеров выявили наличие гена Lr19 и не идентифицированного гена. Гибридологический анализ подтвердил комплементарное взаимодействие двух генов. Пребридинговые исследования линий L679 и L299 проведены в 2015-2019 гг. Экспериментальный материал высевали на делянки 7 м² рандомизировано в 4-кратной повторности. Определяли продуктивность и качество зерна, которое оценивали по содержанию сырой клейковины, показателям прибора ИДК-1, а физические свойства теста – на альвеографе Шопена. Результаты экспериментов подвергли дисперсионному анализу. Пребридинговые исследования показали, что агрономические показатели у L679 и L299 по продуктивности зерна и качеству муки хлеба не ухудшаются, как в годы с эпифитотиями патогенов, так и в условиях острых засух.

USE OF DURUM WHEAT GENE POOL IN BREEDING OF SPRING BREAD WHEAT

Sibikeev S.N.¹, Druzhin A.E.¹, Gulyaeva E.I.², Yankovskaya A.A.³

¹Agricultural Research Institute for South-East Regions,
410010, Saratov, ul. Tulaykova, 7
E-mail: sibikeev_sergey@mail.ru

²All-Russian Institute of Plant Protection, Sankt-Peterburg – Pushkin,
196608, sh. Podbelskogo, 3

³Vavilov Institute of General Genetics, Russian Academy of Sciences, 119991, Moskva, ul. Gubkina, 3

In the article analyzes introgressive lines of spring bread wheat L679 and L299 resistant to leaf rust pathogen. These lines were obtained as a result of interspecific hybridization of the spring bread wheat cultivar Dobrynya and the durum wheat cultivar Zolotaya volna. The effectiveness of resistance in the L679 and L299 was evaluated against the Saratov population of the pathogen in the field, as well as for three test clones with virulence to the Lr9, Lr19 and Lr26- resistance genes. The high resistance was determined both in the stage of seedlings and in the stage of adult plants. Studies on the presence of known Lr- resistance genes using seventeen DNA markers have shown the presence of the Lr19 gene and an unidentified gene. By the hybridological analysis was confirmed the presence of a complementary interaction of the two genes. The prebreeding studies of lines L679 and L299 were conducted during 2015-2019 years. The experimental material was randomized sown in 7 m² plots in 4-fold repetition. In the research were determined the productivity and quality of grain, which was detected by the content of crude gluten, indicators of the IDK-1, and the physical properties of the dough were evaluated on the alveograph Chopin. The obtained data were subjected to ANOVA analysis. The prebreeding studies have shown that the agronomic traits in L679 and L299 for grain productivity and the quality of bread flour did not deteriorate, both in years with epiphytotic pathogens, and in the hard droughts.

Ключевые слова: яровая мягкая пшеница, генпул твердой пшеницы, интрогрессивные линии, *Puccinia triticina*, Lr-гены, пребридинговые исследования

Key words: spring bread wheat, durum wheat gene pool, introgressive lines, *Puccinia triticina*, Lr-genes, prebreeding studies

Для интрогрессии ценных хозяйственно-полезных генов из родственных видов мягкой пшеницы используют первичный, вторичный и третичный генетические пулы. Генпулы диких родственников мягкой пшеницы классифицированы на основе их геномного состава. Наиболее приближен к мягкой пшенице первичный генпул, который содержит гексаплоидные виды пшеницы с ABD-геномами, тетраплоидные виды с AB-геномами, диплоидные виды с A-геном и D-геном. Гены из первичного пула могут быть перенесены в мягкую пшеницу прямой гибридизацией, гомологичной рекомбинацией хромосом, обычным бекроссированием и отбором [1].

Из первичного пула к настоящему времени перенесены следующие идентифицированные гены устойчивости к *Puccinia triticina* Erikss: Lr63 (*T.monococcum*), Lr14a (*T.dicoccum*), Lr53, 64 (*T.dicoccoides*) 23, 61, 79 (*T.durum*), 21, 22a, 32, 39, 42 (*Ae.tauschi*), 44, 65, 71 (*T.spelta*) [2, 3]. Широкое распространение в практической селекции и коммерческих сортах получили гены Lr14a – сорта Hope, Selkirk, Inia66 и их производные; Lr23 – большое количество сортов как яровой, так и озимой мягкой пшеницы – Timstein, Gabo, PV18 и их производные [2]. Таким образом, в коммерческих сортах распространены Lr-гены, перенесенные из тетраплоидных видов, содер-

* Работа выполнена при частичной поддержке гранта РФФИ № 18-016-00170 а.

жащих *AB*-геномы. Кроме того, дикие и культурные эмеры широко используют в странах Европы и Израиле для переноса генов, повышающих содержание белка в зерне [4]. Для улучшения мягкой пшеницы наиболее подходит генетический материал твердой пшеницы, но пока его мало используют. Перенос гена *Lr23* из сорта твердой пшеницы Газа в мягкую пшеницу – один из удачных примеров интрогрессии от *T. durum* [5]. Несмотря на его преодоление патогеном, он хорошо проявил себя в комбинациях с *Lr26* [6, 7] и *Lr19* [8]. До сих пор в саратовской популяции *P. triticina* количество авирулентных патотипов к *Lr23* составляет 0-100%, и степень поражения сортов с этим геном не превышает 20% [9]. К сожалению, это единственный пример широкого применения гена устойчивости к *P. triticina*, интрогрессированного от твердой пшеницы. В лаборатории генетики и цитологии НИИ сельского хозяйства (НИИСХ) Юго-Востока в ходе программы по расширению генофонда мягкой пшеницы были перенесены гены устойчивости от твердой пшеницы к *P. triticina*. С этой целью были привлечены сорта яровой твердой пшеницы Саратовская золотистая, Золотая волна, НИК, Саратовская 57. В настоящей работе приведены результаты изучения устойчивых к листовой ржавчине линий яровой мягкой пшеницы с участием сорта твердой пшеницы Золотая волна.

Методика. Используемый материал включал следующие генотипы. Сорта яровой мягкой пшеницы: Добрыня содержит 7DS-7DL-7Ae#1L транслокацию с геном *Lr19* от *Agropyron elongatum* (Host) Beauv [2], Фаворит – замещение 6D(6Agi) от *Agropyron intermedium* (Host) Beauv [10], служит стандартом для Саратовской области. Сорт яровой твердой пшеницы Золотая волна=Саратовская золотистая/Алтайская нива [11]. Линии Л679=Добрыня /Золотая волна//Добрыня/3/Добрыня и Л299=Добрыня/Золотая волна//Добрыня/Lr24/3/Добрыня, где Добрыня *Lr24* = Добрыня *4 // Thatcher *Lr24*.

Исследования проходили в три этапа. На первом оценивали линии на устойчивость к *P. triticina* в полевых условиях в фазе молочно-восковой спелости (селекционный посев НИИСХ Юго-Востока, Саратов, условия средней эпифитотии патогена в 2016 и сильной – в 2017 г.) и в лабораторных условиях в фазе проростков (первого листа) во Всероссийском научно-исследовательском институте защиты растений (Санкт-Петербург). Инокуляцию растений в фазе проростков проводили с использованием саратовской популяции *P. triticina*, собранной в 2018 г., и трех тест-клонов с вирулентностью к *Lr9*, *Lr19* и *Lr26*. Саратовская популяция *P. triticina* характеризовалась вирулентностью к 20 Lr-генам, включая *Lr19*, и авирулентностью к *Lr9*, 24, 28, 29, 44. Результаты учитывали на 10-е сутки по шкале E.V. Mains и H.S. Jackson [12]. Растения с типом реакции 0, 0₁, 1, 2 считали устойчивыми, а 3, 4 и X – восприимчивыми.

На втором этапе проводили идентификацию Lr-генов устойчивости к *P. triticina* у линий Л679 и Л299 с использованием молекулярных маркеров: SCS5 гена *Lr9*, Gb SCS265 гена *Lr19*, Sr24#50, Sr24#12 гена *Lr24*, Lr29F24 гена *Lr29*, GDM35 гена *Lr41* (=39), PS10 гена *Lr47*, WR003 F/R гена *Lr1*, F1.2245/Lr10-6/r2 гена *Lr10*, STS638 гена *Lr20*, SCM9, iag 95 гена *Lr26*, csLV34, L34DINT9F: L34MINUSL34PLUS гена *Lr34*, Ventriup/LN2 гена *Lr37*, SCS421 гена *Lr28*; Sr39#22r гена *Lr35*; S13-R16 гена *Lr66*. ПЦР-анализ был выполнен по ранее опубликованной методике [13]. Выделение ДНК проводили из листьев 7-10-дневных проростков по методике Д.Б. Дорохова и Э. Клоке [14]. Продукты амплификации выявляли в ультрафиолетовом свете в 1,5%-ном агароз-

ном геле, содержащем этидиум бромид. С учетом родословной Л299 у этой линии возможно присутствие 3DS-3DL-3Ae#1L транслокации с геном *Lr24* от *A. elongatum*. С целью проверки ее наличия проведена С-дифференциальная окраска хромосом этой линии по ранее опубликованной методике [15].

На третьем этапе в 2015-2019 гг. проводили оценку у Л679 и Л299 продуктивности зерна, физических свойств теста и хлебопекарных показателей в сравнении с сортом-реципиентом Добрыня и сортом-стандартом Фаворит (пребридинговые исследования). Наиболее благоприятными были 2016 и 2017 гг., 2016 г. выделялся повышенным количеством осадков и сильной эпифитотией стеблевой ржавчины, в 2017 г. отмечали избыток осадков и сильную эпифитотию листовой ржавчины, 2015 г. характеризовался средней, 2018 и 2019 гг. – сильной засухой. Экспериментальный материал рендомизировано высевали на делянки 7 м² в 4-кратной повторности. Нормы высева составляла 400 зерен/м². Качество зерна и теста оценивали по содержанию сырой клейковины и показателям прибора ИДК-1 и альвеографа Шопена с выпечкой опытных образцов хлебцев. Полученные данные подвергали статистическому анализу с использованием программ «Agros-2.10».

Результаты и обсуждение. Анализ устойчивости к возбудителю листовой ржавчины. В 2016 и 2017 гг. в условиях естественных эпифитотий тип реакции (IT) на патоген у сорта Добрыня составил 3⁻ при степени поражения соответственно 5 и 20%, у сорта Фаворит – 0, у линий Л679 и Л299 – 0, у сорта твердой пшеницы Золотая волна – 2⁺³ при степени поражения 1 и 5%. Оценка устойчивости проростков исследуемых линий и сортов к *P. triticina* с использованием тест-клонов и саратовской популяции патогена 2018 г. показала IT=0 у линий Л679 и Л299, а также сорта Фаворит, у сорта Добрыня – IT=3 к тест-клону 2 и IT=0 ко всем остальным. По результатам полевой и лабораторной оценки на устойчивость к *P. triticina*, линии Л679 и Л299 относятся к высокоустойчивым; Lr-гены этих линий защищают в стадии и проростков, и взрослых растений, то есть они ювенильные. Основное отличие IT линий от сорта-реципиента Добрыня было в IT к тест-клону 2, вирулентному к *Lr19*.

Анализ типа реакции у гибридов F₁ Добрыня/Золотая волна показал IT=2,2, у Добрыни – IT=3⁻,3, у Золотой волны – IT=2⁺³, при этом в комбинации F₁ Саратовская 68/Золотая волна IT=3, где Саратовская 68 – сорт яровой мягкой пшеницы, восприимчивый к *P. triticina*, содержит не эффективный ген *Lr10*. Таким образом, у первой комбинации наблюдали аддитивный эффект, так называемую запретную комбинацию. Поскольку в дальнейшем в F₂ Добрыня/Золотая волна выщеплялись растения с IT=0, можно говорить о дозовом эффекте генов устойчивости у гибридов F₁. При дальнейшем беккроссировании сортом яровой мягкой пшеницы Добрыня у гибридов F₂ Добрыня/Золотая волна//Добрыня/3/Добрыня расщепление по устойчивости к *P. triticina* соответствовало 9R:7S, критерий соответствия теоретически ожидаемых результатов и фактических данных $\chi^2 = 0,9$, при этом табличное значение χ^2 для df=1 – 3,84. Это свидетельствует о комплексном взаимодействии двух доминантных генов, один из которых *Lr19* от сорта мягкой пшеницы Добрыня и другой – не идентифицированный ген устойчивости от сорта твердой пшеницы Золотая волна.

Идентификация генов устойчивости. При использовании 17 ДНК-маркеров Lr-генов ПЦР-анализ позволил идентифицировать в Л679 и Л299 ген *Lr19* от сорта

Добрыня. Этот ген преодолён *P. triticina* в Саратовской области с 1994 г. [16]. В настоящее время процент присутствия патотипа *pp19* в популяции патогена составляет 0-20 [17]. Не исключено, что второй ген устойчивости у этих линий может быть одним из *Lr23*, *Lr61*, *Lr79* (гены, идентифицированные в твердой пшенице), так как ДНК-маркеры для этих генов не использовали.

У Л299 ДНК-маркеры на *Lr24* – Sr24#50, Sr24#12 не показали его наличия. С-дифференциальная окраска хромосом этой линии (рис.) выявила отсутствие 3DS-3Dl-3Ae#1L транслокации с геном *Lr24*, но присутствие 7DS-7DL-7Ae#1L с геном *Lr19*. Таким образом, Л299 и Л679 очень близки по содержанию генов: они несут ген *Lr19* с не идентифицированным *Lr*-геном от сорта твердой пшеницы Золотая волна.

Пребридинговые исследования линий Л679 и Л299. К основным признакам, на которые влияют межвидовые интрогрессии, относятся продолжительность периода всходы – колошение, высота растений и, как следствие, устойчивость к полеганию. Средний период (сут) всходы – колошение у растений Л679 составил 46, Л299 – 47, Добрыня – 45 и Фаворит – 48. Обе линии незначительно отличались и от сорта Добрыня, и от сорта Фаворит. Однако у Л679 этот период больше на 1 сутки, Л299 – на 2 суток, чем у сорта-реципиента Добрыня. По высоте растений наблюдали значительные колебания по годам. Она была минимальной в 2015 г. у Л679 – 63 см, Л299 – 70 см, максимальной – в 2017 г. у Л679 – 101 см, Л299 – 95 см; в среднем за 2015-2019 гг. – соответственно 77 и 76 см, при этом у Добрыни – 73 см и Фаворита – 76 см. Различия были значимыми только между исследуемыми линиями и сортом-реципиентом Добрыня, с сортом Фаворит они отсутствовали. Устойчивость к полеганию отмечена во влажный 2017 г. при наибольшей высоте растений. В этом году Л679 имела оценку 4,1 балла, Л299 – 4,2, сорт Добрыня – 4,5, Фаворит – 4,1 балла. Различия оказались значимыми также только между линиями и сортом Добрыня. Таким образом, интрогрессия генетического материала от сорта твердой пшеницы Золотая волна в Л679 и Л299 значительно повысила высоту растений и снизила устойчивость к полеганию по сравнению с

сортом-реципиентом Добрыня, но эти показатели были на уровне сорта-стандарта Фаворит. Урожайность зерна линий Л679 и Л299, а также сортов Добрыня и Фаворит показана в табл. 1.

В среднем за пять вегетационных сезонов линии Л679 и Л299 по продуктивности зерна не отличались от сорта-реципиента Добрыня и от сорта-стандарта Фаворит. Однако Л679 значимо превзошла по продуктивности зерна Добрыню в 2016 г. (эпифитотия стеблевой ржавчины), но уступила ему в 2019 г. (острая засуха), а Л299 превысила по урожайности зерна Добрыню в 2017 г. (эпифитотия листовой ржавчины), но уступила в 2018 г. (острая засуха). У обеих линий можно отметить тренд к увеличению (по сравнению с сортом-реципиентом Добрыня) продуктивности зерна в годы эпифитотиями листовой и стеблевой ржавчин и снижение ее в годы острых засух, однако эти различия были в пределах сорта-стандарта. Таким образом, эти линии с интрогрессиями от сорта твердой пшеницы Золотая волна обладают достаточной засухоустойчивостью при высокой устойчивости к листовой ржавчине.

Важный этап в создании сортов мягкой пшеницы – качество конечной продукции – муки и хлеба. К сожалению, нередко вовлечение чужеродной генетической изменчивости в генофонд мягкой пшеницы ухудшает эти показатели. По количеству клейковины обе линии не отличались от сортов Добрыня и Фаворит. По качеству клейковины (по показаниям прибора ИДК-1) были сходны с сортом-реципиентом Добрыня, но имели более крепкую клейковину, чем сорт Фаворит (табл. 2). По упругости (P) и отношению упругости к растяжимости

Табл. 1. Продуктивность зерна линий Л679 и Л299 и сортов Добрыня и Фаворит в вегетационные сезоны 2015-2019 гг.

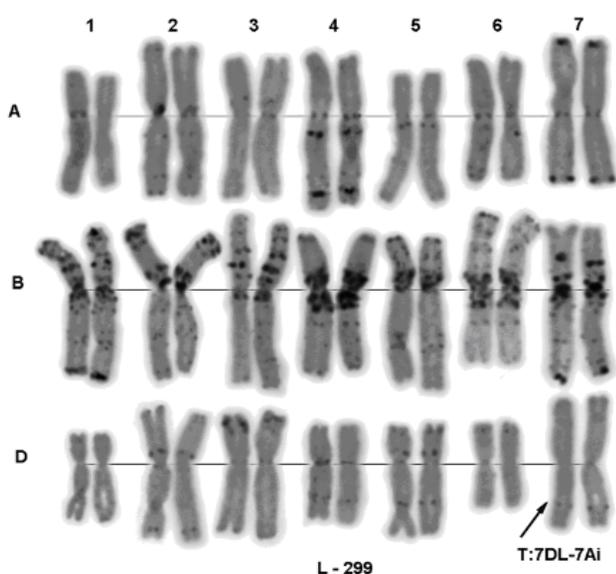
Сорт, линия	Продуктивность зерна, кг/га					
	2015	2016	2017	2018	2019	среднее
Л679	2960 ab*	2375 b	4474 a	782 ab	1410 a	2400 ns
Л299	3000 ab	2330 ab	4776 b	678 a	1625 b	2481 ns
Добрыня	2803 a	2226 a	4426 a	861 b	1652 b	2394 ns
Фаворит	3061b	2326 ab	4773 b	931 b	1343 a	2487 ns

*Числа в колонках, сопровождаемые различными буквами, значимо различаются при уровне P₀₀₅.

Табл. 2. Показатели качества муки и хлеба у линий Л679 и Л299, сортов Добрыня и Фаворит, в среднем за 2017 и 2019 гг.

Сорт, линия	Клейковина		P*, мм	P/L*	W*, е.а.	V*, см ³	Пористость, балл
	%	ИДК-1					
Л679	29,6	64 a**	125 b	2,4 ab	278 c	703 a	4,8
Л299	30,2	64 a	122 b	2,6 b	262 b	812 c	4,9
Добрыня	31,8	67 a	129 b	3,0 b	239 a	790 c	4,9
Фаворит	29,9	72 b	106 a	1,8 a	255 b	765 b	4,8

*P – упругость теста, P/L – отношение упругости теста к растяжимости, W – сила муки, V – объем хлеба. **Числа в колонках, сопровождаемые различными буквами, значимо различаются при уровне P₀₀₅.



Кариотип линии

Л299=Добрыня/Золотая волна//Добрыня Lr24/3/Добрыня.

(P/L) линии не отличались от сорта Добрыня, который относится к группе сильных пшениц [18], но не походили на сорт Фаворит. По силе муки наблюдали значимые различия между линиями и сортом-реципиентом. У линии Л679 этот показатель был самый высокий – 278 е.а., у Л299 – на уровне сорта-стандарта Фаворит, у сорта-реципиента Добрыня составил 239 е.а. Таким образом, введение генетического материала от сорта твердой пшеницы Золотая волна линиями Л679 и Л299 улучшило силу муки. По объему пробных хлебцев Л679 уступила сортам Добрыня и Фаворит и имела наименьший показатель – 703 см³. Однако максимальным – 812 см³ он был у линии Л299, что на уровне сорта-реципиента Добрыня и значимо выше, чем у сорта Фаворит. Следует отметить неоднозначную реакцию по этому показателю линий и сортов на введение генетического материала от сорта твердой пшеницы Золотая волна. По пористости хлебцев различий между сортами и линиями не наблюдали – все они были на высоком уровне. В целом линии имели показатели муки и хлеба не ниже, чем у сорта-реципиента Добрыня, за исключением снижения объема хлеба у Л679.

При улучшении сорта мягкой пшеницы Добрыня по устойчивости к *P. triticina* за счет генетического материала от сорта твердой пшеницы Золотая волна агрономические показатели у Л679 и Л299 по продуктивности зерна и по качеству муки хлеба не ухудшились как в годы с эпифитотиями патогенов, так и в условиях острых засух.

В целом генпул твердой пшеницы – большой генетический резерв для переноса генов устойчивости к патогенам в мягкую пшеницу, при этом, как показали наши исследования, не ухудшаются продуктивность зерна и его качество. Опасение быстрого преодоления интрогрессированных генов устойчивости к *P. triticina* от *T. durum* значительно снижается вследствие использования комбинации генов резистентности как в Л679 и Л299.

Литература

- Jiang J., Friebe B., Gill B.S. Recent advances in alien gene transfer in wheat // *Euphytica*. – 1993. – V. 73. – P. 199-212
- McIntosh R.A., Yamazaki Y., Dubcovsky J., Rogers W.J., Morris C., Appels R., Xia X.C. *Xia Catalogue of Gene Symbols for Wheat. Proceedings of the 12th International Wheat Genetics Symposium (Yokohama, September 8-13, 2013)*, 2013. – P. 123.
- McIntosh R.A., Dubcovsky J., Rogers W.J., Xia X.C., Raupp W.J. *Catalogue of Gene Symbols for Wheat: Supplement 2018 // Annual Wheat Newsletter*. – 2018. – V. 64. – P. 84-86.
- Elouafi I., Martin A., Martin L.M., Nachit M.H. Association of introgressed *T. dicoccoides* seed storage protein subunits with gluten strength and protein content in durum (*T. turgidum* L. var. durum) // *Proceeding 9th Wheat Genetics Symp. Saskatoon, Saskatchewan, Canada, 1998*. – V. 4. – P. 145-147.
- Wheat rusts. An atlas of resistance genes. R.A. McIntosh., C.R. Wellings, R.F. Park (eds.). CSIRO Publications, Australia, 1995.
- Singh R.P., Rajaram S. Resistance to *Puccinia recondita* f. sp. tritici in 50 Mexican bread wheat cultivars // *Crop Science*. – 1991. – V. 31. – P. 1472-1479.
- Singh R.P. Resistance to leaf rust in 26 Mexican wheat cultivars // *Crop Science*. – 1993. – V. 33. – P. 633-637
- Сибикеев С.Н. Чужеродные гены в селекции яровой мягкой пшеницы на устойчивость к листовой ржавчине. Автореф. дис... доктор биол. наук. – Саратов, 2002. – 42 с.
- Конькова Э.А. Структура популяции *Puccinia triticina* Erics на посевах озимой и яровой мягкой пшеницы в Саратовской области // *Вестник защиты растений*. – 2018. – N 4. – С. 44-49
- Сибикеев С.Н., Бадаева Е.Д., Гульмяева Е.И., Дружин Л.Е., Шишкина А.А., Драгович А.Ю., Крупин П.Ю., Карлов Г.И., Тхи Май Кхуат, Дивашук М.Г. Сравнительный анализ 6Agi и 6Agi2 хромосом *Agropyron intermedium* (Host) Beauv. у сортов и линий мягкой пшеницы с пшенично-пырейными замещениями // *Генетика*. – 2017. – Т. 53. – N 3. – С. 298-310
- Васильчук Н.С., Гапонов С.Н., Еременко Л.В., Паршикова Т.М., Попова В.М., Цетва Н.М., Шутарева Г.И. Итоги селекции яровой твердой пшеницы на высокое качество зерна в Саратове. // *Достижения науки и техники АПК*. – 2010. – N 5. – С. 22-24.
- Mains E.B., Jackson H.S. Physiologic specialization in the leaf rust of wheat; *Puccinia triticina* Erikss. // *Phytopathology*. – 1926. – N 16. – P. 89-120.
- Гульмяева Е.И. Методы идентификации генов устойчивости к бурой ржавчине с использованием ДНК- маркеров и характеристики эффективности Lr-генов. – С-Пб.: ВИЗР, 2012. – 72 с.
- Дорохов Д.Б., Клоке Э. Быстрая и экономичная технология RAPD анализа растительных геномов // *Генетика*. – 1997. – Т. 33. – N 4. – С. 443-450.
- Badaeva E.D., Badaev N.S., Gill B.S., Fillatenko A.A. Intraspecific karyotype divergence in *Triticum araraticum* // *Plant Syst Evol*. – 1994. – 192. – P. 117-145.
- Sibikeev S.N., Krupnov V.A., Voronina S.A., Elesin V.A. First report of leaf rust pathotypes virulent to highly effective Lr- genes transferred from *Agropyron* species to bread wheat // *Plant Breeding*. – 1996. – V. 115. – P. 276-278.
- Гульмяева Е.И., Сибикеев С.Н., Дружин А.Е., Шайдаюк Е.Л. Расширение генетического разнообразия сортов яровой мягкой пшеницы по устойчивости к бурой ржавчине (*Puccinia triticina* Eriks.) в Нижнем Поволжье // *Сельскохозяйственная биология*. – 2020. – Т. 55. – N 1. – С. 27-44.
- Государственный реестр селекционных достижений, допущенных к использованию. Т. 1. Сорта растений. – М., 2020. – С. 12.

Поступила в редакцию 27.03.20

После доработки 24.04.20

Принята к публикации 30.04.20

ОЦЕНКА СОВРЕМЕННОГО ГЕНОФОНДА ЛЬНА-ДОЛГУНЦА ПО ОСНОВНЫМ ХОЗЯЙСТВЕННО ЦЕННЫМ ПРИЗНАКАМ В УСЛОВИЯХ КИРОВСКОЙ ОБЛАСТИ

Н.С. Кошчева¹, Г.А. Баталова², академик РАН,
И.В. Лыскова¹, кандидат сельскохозяйственных наук, С.Н. Краева¹

¹Фаленская селекционная станция – филиал Федерального аграрного научного центра Северо-Востока имени Н.В. Рудницкого, 612500, Кировская область, п. Фаленки, ул. Тимирязева, 3
E-mail: jss.nauka@mail.ru

²Федеральный аграрный научный центр Северо-Востока имени Н.В. Рудницкого, 610007, Киров, ул. Ленина, 166а
E-mail: g.batalova@mail.ru

Сорта льна-долгунца должны быть хорошо приспособлены к природно-климатическим условиям региона возделывания, устойчивы к полеганию, болезням, другим стрессовым факторам. Приведены результаты изучения коллекционных сортообразцов льна-долгунца различного эколого-географического происхождения в почвенно-климатических условиях Кировской области (Фаленская селекционная станция – филиал ФАНЦ Северо-Востока). Коллекция представлена сортообразцами из России – 44%, Беларуси – 13%, Франции – 9%, Китая – 8%, Литвы – 7%, Канады – 4%, Украины – 3%, Нидерландов – 3%, других стран. Целью исследований было оценить генетические источники льна-долгунца по основным хозяйственно ценным признакам, выделить лучшие для дальнейшей селекционной работы. Метеорологические условия в годы исследований (2000-2018) существенно различались как по количеству осадков и сумме температур, так и по характеру их распределения в течение всего вегетационного периода. Это позволило оценить генетический потенциал коллекционных сортообразцов по продуктивности и устойчивости к неблагоприятным факторам внешней среды и выделить источники для использования в селекции. Максимальная урожайность соломы на 70-182 г/м² больше стандарта – сорта Тверца была получена в 2009 г. у сортообразцов Согласие, Старт, Строитель, Дашковский 2 (Беларусь). Значительно превосходили стандарт по содержанию волокна (на 4,7-10,1%) сортообразцы Пересвет, Норд, Добрыня (Псковский НИИ сельского хозяйства), по комплексу хозяйственно ценных признаков выделены Юбилейный 87, Александрит, Мираж, AP₁, AP₂, AP₃ (ВНИИ льна); ТОСТ 3, ТОСТ 4 (Сибирский НИИ сельского хозяйства и торфа); Дашковский 2, Сигнал, Старт, Ива, Василек, Пралеска, Яроч (Беларусь); Рушничок (Украина); Агата (Нидерланды); Drakkar (Франция); Flax of Heilonjiang №10, Yuan 2003-43 (Китай).

EVALUATION OF THE MODERN GENE POOL OF LONG-FIBER FLAX ON THE MAIN ECONOMIC AND VALUABLE CHARACTERISTICS IN THE CONDITIONS OF THE KIROV REGION

Koshcheeva N.S.¹, Batalova G.A.², Lyskova I.V.¹, Kraeva S.N.¹

¹Falinki Breeding Station - Branch of the Federal Agricultural Scientific Center of the North-East named N.V. Rudnitsky, 612500, Kirovskaya oblast, p. Falenki, ul. Timiryazeva, 3
E-mail: jss.nauka@mail.ru

²Federal Agricultural Scientific Center of the North-East named N.V. Rudnitsky, 610007, Kirov, ul. Lenina, 166a
E-mail: g.batalova@mail.

Unfavourable climatic and soil factors of the European north-east of Russia indicate the relevance of creating varieties that ensure the formation of year-stable yield and quality of products. The research was carried out in the conditions of the Kirov region in 2000-2018. The purpose of the research is to study genetic sources of long-fiber flax on the main economic and valuable characteristics, to select the best of them for use in breeding. Twenty sources were selected on the complex of economic-valuable traits: Yubileyny 87, Alexandrit (VNI flax), TOST 3, TOST 4 (Siberian NIISH and peat), Pralaska, Jarok (Belarus), Rushnichok (Ukraine), Agata (Netherlands), Drakkar (France), Flax of Heilonjiang No. 10, 2003-43. (China), high-yield varieties Soglasie, Start, Stroitel', Dashkovsky 2 (Belarus); high fiber content varieties Peresvet, Nord, Dobrynya (Pskovskiy NIISH); 29 varieties for selection on drought resistance - Neptune, Sinel (FASC of the North-East), Snezhok (VGSHA), Visit, Vympel, Mirage (VNI flax), Priboy, Antey (Pskov NIISH), Vesna, Prizyv 81 (Belarus), Merelin, АБВ-7005-1 (Netherlands), Banga 2 (Lithuania), K-6783 (Canada), SV-60066 (Sweden); 14 varieties with lodging resistance – Lira (Belarus), Evelyn (Netherlands), B-71 (Lithuania), etc.

Ключевые слова: лен-долгунец, сортообразец, урожайность, содержание волокна, прочность, гибкость

Key words: long-fiber flax, variety, yield, fiber content, strength, flexibility

В условиях европейского Северо-Востока России на продуктивность и качество продукции льна-долгунца негативно влияют экстремальные погодные факторы, такие как участвовавшие в июне (фаза быстрого роста) засуха и жара в июле, значительный перепад температур, неравномерные и интенсивные осадки, почвенные условия. Это указывает на необходимость развития адаптивной селекции. Актуально получение селекционным путем генотипов, сочетающих высокую потенциальную продуктивность со способностью формировать стабильные, экономически значимые урожаи

льнопродукции по годам [1]. Селекционный процесс начинается с изучения исходного материала, поскольку его эффективность и результативность зависят от богатства и разнообразия доноров и источников хозяйственно ценных признаков [2-4]. При подборе пар для скрещивания необходимо использовать в качестве одной из родительских форм сорта, которые хорошо приспособлены к конкретным условиям возделывания [5, 6].

Лен-долгунец – влаголюбивая культура, поэтому участвовавшая в последние годы засуха в период быстрого роста – бутонизации, когда происходят закладка и фор-

Табл. 1. Температурный режим и распределение осадков по месяцам по данным метеостанции п. Фаленки (Кировская область)

Год	°С				мм			
	май	июнь	июль	август	май	июнь	июль	август
Среднее многолетнее	10,3	16,0	17,8	14,7	46	66	77	66
2000	8,2	17,5	21,1	14,5	49	64	69	56
2001	11,0	14,9	19,0	14,2	100	50	23	146
2002	7,5	14,9	19,6	11,5	46	52	47	38
2003	12,0	12,8	19,4	18,1	37	130	42	85
2004	12,2	15,0	20,4	15,8	25	65	45	112
2005	14,4	14,4	17,4	16,2	45	90	65	65
2006	11,3	18,9	16,0	15,4	52	38	48	63
2007	12,1	13,1	18,9	18,5	51	72	136	39
2008	10,2	15,0	19,0	16,3	56	82	32	57
2009	11,8	16,3	16,6	14,9	24	104	57	45
2010	14,8	16,6	21,7	18,2	20	74	10	99
2011	12,1	16,0	20,5	14,9	40	72	72	52
2012	12,2	17,3	19,1	16,3	64	95	66	121
2013	11,9	18,4	19,5	13,0	26	50	48	15
2014	14,4	14,8	15,5	17,3	9	108	49	83
2015	13,9	18,0	14,9	13,4	31	75	80	132
2016	13,1	15,9	20,3	20,9	11	47	51	32
2017	7,5	14,0	17,3	16,6	59	59	159	25
2018	10,6	14,1	20,3	16,0	58	77	74	44
Среднее за годы оценки	11,6	15,7	18,8	16,0	42	74	62	69
Отклонение от средних многолетних	1,3	-0,3	1,0	1,3	-4	8	-15	3

мирование волокнистых пучков, негативно влияет на величину и качество урожая льнопродукции [7, 8]. Эта культура относится к растениям длинного светового дня. Ее развитию благоприятствует большое число пасмурных, облачных и нежарких дней с температурой воздуха 16-18 °С. В этих условиях выход волокна и его качество повышаются. Оптимальные условия складываются при ГТК 1,2-1,8, более увлажненные предпочтительны для льна в стадиях елочки и быстрого роста (ГТК=1,6-1,8), более сухие – в фазе цветения (ГТК=1,16) [9].

Культивируют лен-долгунец в основном в ареале дерново-подзолистых почв. Наиболее благоприятны (льняные почвы) слабокислые (рН 5,1-5,5) средне- и легкопылеватые суглинки с преобладанием крупнопылеватой фракции почвы [6]. Лен чувствителен к содержанию в почве микроэлементов, особенно бора, недостаток которого отрицательно сказывается на урожае волокна и семян. Если за центр зоны распространения льна условно принять восточные исконно льносеющие районы Тверской области, то в направлении на запад улучшаются условия увлажнения в критический период его роста и постепенно ухудшаются в восточном направлении, где распространены дерново-подзолистые почвы.

Цель настоящей работы – оценить генетические источники льна-долгунца по основным хозяйственно ценным признакам, выделить лучшие для дальнейшей селекционной работы.

Методика. Исследования проведены в 2000-2018 гг. в лаборатории селекции и первичного семеноводства льна-долгунца на опытном поле Фаленской селекционной станции – филиала ФАНЦ Северо-Востока (восточный агропочвенный район центральной агроклиматической зоны Кировской области). Ежегодно в коллекционном питомнике изучали 140-210 сортообразцов льна-долгунца мирового генофонда из коллекции

Всероссийского НИИ льна, Федерального исследовательского центра Всероссийский институт растениеводства, других научных учреждений страны, а также 17-23 перспективные линии селекции Фаленской селекционной станции. В качестве стандарта использовали сорт Тверца (ВНИИ льна). Исследования проведены согласно методическим указаниям [10, 11], при оценке содержания и качества волокна использовали методику [12]. Почва опытного участка – дерново-подзолистая среднесуглинистая, сформированная на покровных суглинках со слабокислой реакцией (рН_{KCl} 5,1-5,4). Содержание подвижного фосфора и обменного калия (по Кирсанову) – 245-330 (очень высокое) и 186-314 (высокое и очень высокое) мг/кг соответственно, содержание гумуса – 2,0-2,4%, бора – 0,45-0,9 мг/кг почвы (от среднего до высокого). Предшественник – яровые зерновые культуры. Под предпосевную культивацию вносили нитроаммофоску (НРК)₁₆ в дозе 2,0 ц/га. Площадь делянок – 1 м², норма высева – 2000 семян/м². Посев и уборку проводили вручную.

По данным Фаленской метеостанции, погодные условия в годы исследований различались по температурному режиму и увлажнению. Благоприятными для льна-долгунца они были в 2000, 2003, 2005, 2007, 2009, 2011, 2012, 2014, 2015, 2017 гг. (ГТК=1,3-1,8), засушливыми – в 2001, 2002, 2004, 2006, 2008, 2010, 2013, 2016, 2018 гг. (ГТК=0,7-1,1). Статистическая обработка данных проведена с использованием пакета программ AGROS – версия 2.07.

Результаты и обсуждение. Коллекционный питомник представлен сортообразцами из России – 44%, Беларуси – 13%, Франции – 9%, Китая – 8%, Литвы – 7%, Канады – 4%, Украины – 3%, Нидерландов – 3%, и других стран. Дата посева льна-долгунца зависела от погодных условий и физической спелости почвы. Наиболее ран-

Табл. 2. Коэффициенты корреляции между гидротермическим коэффициентом июня и основными хозяйственно ценными признаками льна-долгунца

Признак	Коэффициент корреляции
Вегетационный период	0,55*
Техническая длина стебля	0,78*
Урожайность: соломы	0,71*
волокна	0,75*
семян	0,40
Число семян на 1 растении	0,12
Содержание волокна	0,56
Гибкость волокна	-0,16
Прочность волокна	0,55*

*Достоверно при 5%-ном уровне значимости.

ний срок сева 7 мая был в 2008, 2016 гг., поздний – 29 мая в 2007 г. В течение 19 лет наблюдали тенденцию к повышению температурного режима (на 1,3 °С от среднемноголетней нормы) и снижению количества осадков (91%) в мае, в период от посева до полных всходов, что в отдельные годы увеличивало его продолжительность (табл. 1). В фазе елочка растения достигали высоты 5-10 см и имели 5-6 пар настоящих листьев. Общая продолжительность фаз всходы и елочка составила 15-18 дней. Эти фазы характеризуются медленным ростом стеблей в высоту и быстрым ростом корневой системы.

После фазы елочка у растений наступал период быстрого роста, который продолжался и в фазе бутонизации. Прирост растений достигал в высоту 3-5 см в сутки. В этот период (12-20 дней) в стеблях происходило формирование волокна и генеративных органов, обеспечивающих получение семян. В фазе цветения (5-10 дней) рост растений в высоту ослабевал, росло только соцветие. Затем через 25-35 дней после массового цветения наблюдали раннюю желтую спелость.

В условиях изучаемого региона урожайность соломы и волокна льна-долгунца значительно снижает кратковременная засуха, если она совпадает с быстрым ростом растений, который в условиях Фаленской селекционной станции календарно приходится на июнь. Кировская область относится к зоне достаточного увлажнения, однако продолжительная июньская и июльская засуха (более 20 дней) повторяются 2-3 раза в 10 лет [13]. Недостаток влаги в июне выявлен практически для половины (42,1%) лет исследований (2000-2002, 2004, 2006, 2013, 2016, 2017 – от 38 до 65 мм). В годы с достаточным увлажнением количество осадков в июне составило 72-130 мм при норме 66 мм. В среднем за 19 лет в июне выпало 112% осадков от среднемноголетней нормы.

Установлены существенные корреляции показателей урожайности соломы и волокна образцов льна-долгунца с гидротермическим коэффициентом июня (табл. 2). От метеоусловий в период быстрого роста зависела техническая длина стебля ($r=0,78$), продолжительность вегетационного периода ($r=0,55$) и прочность волокна ($r=0,55$).

В 47% лет исследований (2001, 2002, 2004, 2006, 2007, 2010, 2013) на фоне недостатка осадков и температур выше 18-22 °С наблюдали снижение урожайности семян и продуктивности растений. В сложившихся условиях пыльца цветков льна быстро высыхала, что

Табл. 3. Зависимость основных хозяйственно ценных признаков льна-долгунца от метеоусловий

Признак	Значение признака		Характеристика вегетационного периода в год максимального проявления признака		
	среднее	максимальное	год	сумма эффективных температур, °С	ГТК
Общая высота растений, см	84+1,70	102	2003	1049	1,34
Урожайность (г/м ²):					
соломы	690+46,22	1176	2009	1205	1,44
волокна	195+15,09	364	2009	1205	1,44
Содержание волокна, %	29,1+0,74	41,9	2003	1049	1,34
Гибкость волокна, мм	67,8+1,85	98,5	2006	874	0,83
Прочность волокна, кгс	31,8+1,16	44,8	2008	945	1,03
Число коробочек на 1 растении, шт.	6,1+0,25	9,2	2010	1224	0,72
Число семян на растении, шт.	43,4+2,30	69,0	2010	1224	0,72
Урожайность семян, г/м ²	156+6,45	234	2018	1150	1,09

препятствовало завязыванию семян и негативно отразилось на их количестве в коробочке. Изучение коллекции льна-долгунца показало, что образцов с повышенной засухоустойчивостью в их составе немного – 25-31. Среди них Нептун, Синель (Фаленская селекционная станция), Визит, Г-3996, AP₅, AP₆, Вымпел, Тверской, Мираж, Огонек, Л-00-187-60, Г-4254, Победный, Р-260 (ВНИИ льна), Прибой, К-6, Антей, Псковский 83, Стрела (Псковский НИИ сельского хозяйства), Импульс, Лидер (Смоленская государственная сельскохозяйственная опытная станция), Т-18, ТОСТ 2 (Сибирский НИИ сельского хозяйства и торфа), Весна, Призыв 81 (Беларусь); Мерелин, АБВ-7005-1 (Нидерланды); Шокинский, Рушничок, Прометей 95 (Украина); Б-140, Банга 2 (Литва); К-6783 (Канада); SV-60066 (Швеция).

Урожайность соломы стандартного сорта Тверца варьировала от 244 г/м² (в засушливом 2006 г.) до 840 г/м² (в благоприятном 2009 г.), в среднем за годы изучения составила 526 г/м². Максимальная урожайность соломы у сортообразцов отмечена в наиболее благоприятных условиях вегетации 2009 и 2017 гг. По данным 2009 г. выделены урожайные по соломе источники: К-6 – 1060 г/м² и Антей – 930 г/м² (Псковский НИИ сельского хозяйства), AP₄ – 954 г/м², AP₆ – 930 г/м², Л-00-187-60 – 942 г/м² (ВНИИ льна), ТОСТ 4 – 940 г/м² (Сибирский НИИ сельского хозяйства и торфа), Старт – 1018 г/м² и Согласие – 1012 г/м² (Беларусь), Рушничок (Украина) – 936 г/м², Виола – 1176 г/м² (Нидерланды); в 2017 г. – сорта Ива – 980 г/м², Старт 2 – 936 г/м², Василек – 888 г/м² (Беларусь), Drakkar – 1168 г/м², Lauga – 972 г/м², Alizee – 860 г/м² (Франция). В засушливом 2006 г. наибольшая урожайность соломы получена у сортообразцов Импульс – 367 г/м² (Смоленская государственная сельскохозяйственная опытная станция), Устьенский 10 – 435 г/м² (Беларусь), Natasja – 420 г/м² (Франция), Виола – 540 г/м² (Нидерланды).

На гибкость и прочность волокна негативно влияла сумма эффективных температур ($r=-0,60$; $r=-0,36$ соответственно). Максимальное проявление этих признаков,

как и содержания волокна, отмечали в более прохладные и сухие годы. Волокно – основная продукция льна-долгунца. По результатам сравнительной оценки выделены сортообразцы – источники с высоким его содержанием: AP₄ – 34,3%, AP₆ – 34,2%, AP₅ – 33,9%, Тверской – 33,5%, Александрит – 32,2%, Л-00-187-60 – 31,4% (ВНИИ льна), Пересвет – 35,0%, Норд – 31,1%, Добрыня – 29,6% (Псковский НИИ сельского хозяйства), ГОСТ 2 – 29,6% (Сибирский НИИ сельского хозяйства и торфа), Мерелин – 31,0%, Агата – 30,8% (Нидерланды), Меуна – 30,6%, Drakkar – 29,4% (Франция).

Наиболее ценными являются источники, сочетающие высокое содержание волокна и его качество, поэтому важно, чтобы волокно обладало хорошими показателями одновременно прочности и гибкости. На качество волокна значительно влияли условия вегетации в подфазе ранней желтой спелости. Установлена положительная корреляционная зависимость между гибкостью волокна и температурой третьей декады июля ($r=0,57$). Гибкость волокна отрицательно коррелировала с его содержанием ($r=-0,27 \dots -0,50$). Аналогичные данные получены другими исследователями [14]. По качеству волокна за годы исследования выделены селекционно-ценные источники: Т-10 х к-6915, ГОСТ 4 х Зарянка, (ВНИИ льна), К-6 (Псковский НИИ сельского хозяйства), Снежок, Синичка (Вятская государственная сельскохозяйственная академия), Т-18 (Сибирский НИИ сельского хозяйства и торфа), Каменяр (Украина), N-370 (Китай).

Одна из задач селекционной работы – выведение сортов льна-долгунца, устойчивых к полеганию. Избыточное количество осадков (ливни) при сильном ветре приводит к полеганию культуры, образованию стеблей с рыхлыми тканями, не способных противостоять внешним механическим воздействиям. Полегание снижает урожай и качество продукции, сдерживает применение средств механизации [15]. В период исследований ливневые дожди при порывистом ветре (за сутки выпадало более 20 мм осадков) наблюдали в 2004, 2005, 2007 гг., тогда же отмечено сильное полегание растений. Коллекционные образцы отличались друг от друга способностью стеблей вновь принимать вертикальное положение. Устойчивость к полеганию от 4,5 до 5,0 баллов имели образцы А-49, Ленук, Вымпел, Тверской, AP6 (ВНИИ льна), Стрела, Русич, Псковский 93 (Псковский НИИ сельского хозяйства), ГОСТ 4, ГОСТ 3 (Сибирский НИИ сельского хозяйства и торфа), Лира (Беларусь), Nike (Польша), Б-71 (Литва), Эвелин (Нидерланды).

Для определения оптимальных условий развития хозяйственно ценных признаков льна-долгунца выделены годы максимального их проявления. Наиболее благоприятные условия по сумме эффективных температур и показателю ГТК для формирования урожайности соломы и волокна сложились в 2009 г. (табл. 3). Сумма эффективных температур за вегетационный период составила 1205 °С, ГТК – 1,44 при средних многолетних значениях 1103 °С и 1,22 соответственно.

В результате исследований 2000-2018 гг. выделены источники для селекции льна-долгунца с комплексом хозяйственно ценных признаков: Юбилейный 87, Александрит, Мираж, AP₄, AP₅, AP₆ (ВНИИ льна), Пересвет, Добрыня, Антей (Псковский НИИ сельского хозяйства), ГОСТ 3, ГОСТ 4 (Сибирский НИИ сельского хозяйства и торфа), Дашковский 2, Сигнал, Старт, Ива, Василек, Пралеска, Яроч (Беларусь), Рушничок (Украина), Агата (Нидерланды), Drakkar (Франция), Flax of Heilonjiang №

10, Yuan 2003-43 (Китай). В селекции на засухоустойчивость актуально использование источников: Нептун, Синель (Фаленская селекционная станция), Снежок (Вятская государственная сельскохозяйственная академия), Визит, Г-3996, AP₅, AP₆, Вымпел, Тверской, Мираж (ВНИИ льна), Прибой, К-6, Антей, Псковский 83, Стрела (Псковский НИИ сельского хозяйства), Импульс, Лидер (Смоленская государственная сельскохозяйственная опытная станция), Т-18, ГОСТ 2 (Сибирский НИИ сельского хозяйства и торфа), Весна, Призыв 81 (Беларусь), Мерелин, АБВ-7005-1 (Нидерланды), Шокинский, Прометей, Рушничок (Украина), Б-140, Банга 2 (Литва), К-6783 (Канада), SV-60066 (Швеция), на устойчивости к полеганию: А-49, Ленук, Вымпел, Тверской, AP₆ (ВНИИ льна), Стрела, Русич, Псковский 93 (Псковский НИИ сельского хозяйства), ГОСТ 4, ГОСТ 3 (Сибирский НИИ сельского хозяйства и торфа), Лира (Беларусь), Эвелин (Нидерланды), Nike (Польша), Б-71 (Литва).

Литература

1. Голуб И.А. Лен Беларуси: монография. – Минск: ЧУП «Орех». 2003. – 245 с.
2. Воронов С.И., Медведев А.М., Осипов В.В. и др. Селекционно-генетическая ценность выделенных из коллекции сортообразцов озимой тритикале для селекции культуры в Центральном Нечерноземье // Российская сельскохозяйственная наука. – 2019. – Т. 1. – N 1. – С. 3-8. doi: 10.31857/S2500-2627201913-8
3. Jankauskiene Z., Bacelis K. Evaluation of long fibre quality of fiber flax varieties and breeding lines by different methods // Agriculture. – 2008. – V. 95. – 1. – P. 93-106.
4. Bacelis K., Jankauskiene Z. Investigation and use of the Lithuanian flax genetic resources in the breeding programs *lietuvias linu genetisko resursu izpete un izmantosana audzesana* // Environment. Technology. Resources, 2005. – P. 85-92. DOI: 10.17770/etr2005vol1.2118
5. Щенникова И.Н. Влияние погодных условий на рост и развитие растений ячменя в Кировской области // Аграрная наука Евро-Северо-Востока. – 2014. – N 4. – С. 9-13.
6. Koshcheeva N.S., Lyskova I.V., Batalova G.A., Kraeva S.N. Initial Material for Breeding of Fiber Flax under Conditions of the Volga-Vyatka Region // Russian Agricultural Sciences. – 2017. – V. 43. – N 4. – P. 285-288.
7. Stafacka I., Stramkalel V., Grauda D. Estimation of yield stability for flax genetic resource using regression and cluster analysis // Research for Rural Development. – 2016. – V. 1. – P. 15-19.
8. Diederichsen A., Rozhmina T., Zhuchenko A.J. etc. Screening for adaptation in flax (*Linum usitatissimum* L.) germoplasm accessions based on field trials in Canada and Russia // IPGRI/FAO. Plant Genetic Resources Newsletter. – 2006. – N 146. – P. 9-16.
9. Кортунин Б.Ф., Улицановский И.В. Адаптивные реакции льна-долгунца на изменение климатических условий в период вегетации. // Земледелие. – 2015. – N 6. – С. 36-39
10. Методические указания по селекции льна-долгунца. – М., 2004. – 43 с.
11. Методические указания по проведению полевых опытов со льном-долгунцом. – Торжок, 1978. – 72 с.
12. Методики технологической оценки продукции льна и конопли. – М., 1961. – 184 с.
13. Агроклиматические ресурсы Кировской области. – Л.: Гидрометиздат, 1974. – 112 с.
14. Доронин С.В., Тихвинский С.Ф. Лен-долгунец. Технология возделывания и селекция. – Киров: ВГСХА, 2003. – 112 с.
15. Павлова Л.Н., Герасимова Е.Г., Румянцев В.Н. Современное состояние, направления и перспективы развития селекции льна-долгунца во ВНИИЛ // Лен – стратегическая культура XXI века (Состояние, проблемы и перспективы развития АПК). – Псков: Псковский НИИ-ИСХ, 2015. – С. 15-19.

Поступила в редакцию 27.01.20
Принята к публикации 20.02.20

ДИФФЕРЕНЦИАЦИЯ СОРТООБРАЗЦОВ САХАРНОЙ СВЕКЛЫ ПО SSR-МАРКЕРАМ ДЛЯ СОЗДАНИЯ ПЕРСПЕКТИВНЫХ ГИБРИДОВ

А.А. Налбандян, А.С. Хуссейн, кандидаты биологических наук,
Т.П. Федулова, доктор биологических наук, И.В. Черепухина, кандидат биологических наук,
Т.И. Крюкова, кандидат сельскохозяйственных наук,
Т.С. Руденко, Н.Р. Михеева, А.В. Моисеенко

Всероссийский научно-исследовательский институт сахарной свеклы и сахара имени А.Л. Мазлумова,
396030, Воронежская область, Рамонский район, п. ВНИСС, 86
E-mail: arpnal@rambler.ru

Целью исследований было проведение молекулярно-генетической паспортизации исходного материала сахарной свеклы: на стерильной основе, сростноцветковых опылителей и их гибридного потомства. Использованы праймеры к микросателлитным локусам генома: Unigene 24552, Unigene 2305, Unigene 17623, Unigene 14805, Unigene 62524. Установлено, что диапазон длин полученных ДНК-фрагментов составляет от 100 до 3000 пар нуклеотидов. Наибольший уровень полиморфного обеспечения (PIC) выявлен для локусов Unigene 17623 (PIC = 0,88), Unigene 2305 (PIC = 0,84), Unigene 14805 (PIC = 0,85), что дало возможность дифференцировать селекционный материал сахарной свеклы. Данные праймеры позволили амплифицировать до 11 полиморфных полос на генотип. Проведена молекулярно-генетическая паспортизация 26 генотипов селекционно-ценных образцов этой культуры по 5-ти SSR-маркерам для дальнейшего использования в маркер-ориентированной селекции. Рассчитаны генетические расстояния между MC-формами и сростноплодными опылителями, которые варьировали от 2,236 до 4,796. Родительские образцы, находящиеся на значительном генетическом удалении друг от друга, предложены для использования при создании гетерозисных гибридов.

DIFFERENTIATION OF SUGAR BEET CULTIVARS BY SSR MARKERS TO CREATE PROMISING HYBRIDS

Nalbandyan A.A., Hussein A.S., Fedulova T.P., Cherepukhina I.V.,
Kryukova T.I., Rudenko T.S., Mikheeva N.R., Moiseenko A.V.

A. Mazlumov All-Russian Research Institute of Sugar Beet and Sugar,
396030, Voronezhskaya oblast, Ramonskiy rayon, p. VNISS, 86
E-mail: arpnal@rambler.ru

The goal of this work was to conduct the molecular genetic fingerprinting of sugar beet initial breeding materials (male sterile lines, fertile pollinators and there Hybrids). Primers for microsatellite loci of the unique genes 24552, 2305, 17623, 14805, 62524 were used. Length ranges of the obtained fragments were determined from 100 to 3000bp and up to 11 polymorphic bands per genotype were amplified. Polymorphic Information Content Value (PIC) was found for the loci of Unigene 17623 (PIC = 0.88), Unigene 2305 (PIC = 0.84), Unigene 14805 (PIC = 0.85), which made it possible to differentiate the breeding material of sugar beets. A molecular genetic assessment of 26 genotypes of breeding-valuable sugar beet cultivars was carried out using five SSR markers, which allowed their identification and certification for further use in marker-oriented breeding selection. The genetic distances between male sterile forms and fertile pollinators were calculated and it was varied from 2, 236 to 4,796. Parent samples located at a considerable genetic distance from each other, are recommended for use in creating Heterosis Hybrids.

Ключевые слова: сахарная свекла, ПЦР-анализ, ДНК-амплексон, SSR-маркеры, генетические расстояния

Key words: sugar beet, PCR analysis, SS-markers, genetic distance, breeding

Одним из методических подходов для оптимизации селекции служит применение молекулярных маркеров. В последнее время их используют для оценки генетического разнообразия, так как они потенциально не ограничены во времени и не подвержены воздействию окружающей среды. Наиболее широкое применение в селекции сельскохозяйственных культур нашло молекулярное маркирование. Это позволило сократить время создания новых гибридов, более эффективно вести отбор и изучать изменчивость исходных материалов, определять отдаленность скрещиваемых компонентов [1-3]. Сахарная свекла – генетически «бедная» культура, поэтому необходимо создать отечественную базу данных перспективных генотипов свеклы корнеплодной, используемых в селекции. Их идентификация в значительной степени экономит человеческие и временные ресурсы, а молекулярная паспортизация позволит защитить авторские права селекционеров, контролировать однородность посевного материала.

Молекулярные маркеры широко используют в селекционных программах во многих странах мира [4, 5]. Так, О.М. Щербиной с группой авторов [6] оценено аллельное многообразие в микросателлитных локусах у ДН линий сахарной свеклы, что позволило вследствие установленной изменчивости микросателлитных локусов дифференцировать все изученные линии. Эффективность использования 12 RAPD и 12 ISSR локусов выявлена при оценке генетического разнообразия 42 образцов свеклы [7]. Высокие значения индекса генетического разнообразия для обоих типов маркеров показали, что эти методы одинаково эффективны при определении генетической изменчивости образцов сахарной свеклы. Сербские ученые использовали 26 полиморфных SSR-праймеров для изучения генетического разнообразия 140 образцов сахарной свеклы происхождения из США [8]. Профилирование генотипов этой культуры по агрономическим, технологическим качествам, кормовым признакам и анализ их генетического разнообра-

зия осуществлены с использованием 14 полиморфных SSR-маркеров [9]. С. Broccanello [10] с коллегами проведено сравнение точности, чувствительности и стоимости методов генотипирования (TagMan, rhAmp SNP, KASP). Правильное понимание компромисса между различными подходами к генотипированию важно, чтобы селекционеры принимали оптимальные решения для эффективного улучшения продуктивности культуры. I. Simko et al. [11] исследовали DArT, SNP и SSR-маркерные системы для оценки генотипического разнообразия и кластеризации разновидностей сахарной свеклы в популяции и обнаружили эффективность SSRs в разных типах анализов. Генетическое разнообразие 13 генотипов сахарной свеклы изучено индийскими учеными с использованием 14 микросателлитных праймеров [12]. Праймеры SB-11, SB-09, SB-GCC1, SB-CAA1 и SB-04 были наиболее информативными и генерировали индекс полиморфизма на уровне 0,833-0,851.

В связи с этим выявление специфических ДНК-маркеров для генотипирования, установления генетического полиморфизма генотипов сахарной свеклы, подбора родительских пар для скрещивания – актуальное направление исследований. Целью настоящей работы было проведение молекулярно-генетического маркирования исходного родительского материала сахарной свеклы и отбор перспективных форм для гибридизации.

Методика. Материалом для молекулярно-генетических исследований служили проростки мужско-стерильных (МС) линий сахарной свеклы, сростноцветковые опылители и гибриды, предоставленные селекционерами Всероссийского НИИ сахарной свеклы и сахара имени А.Л. Мазлумова В.П. Ошевневым и Н.П. Грибановой.

Экстракцию тотальной ДНК из растительного материала проводили ацетатным методом [13, 14], полимеразно-цепную реакцию – на амплификаторе «Genius» (Великобритания). Для изучения генетической изменчивости селекционного материала использовали олигонуклеотидные последовательности к микросателлитным локусам генома Unigene 24552, Unigene 2305, Unigene 17623, Unigene 14805, Unigene 62524 с соответствующими названиями [15] (табл. 1).

На основе полученных молекулярных данных был рассчитан индекс информационного полиморфизма (*polymorphism information content* — PIC) [16, 17]. Расчет генетических расстояний между генотипами сахарной свеклы и проведение кластерного анализа осуществляли в программе *SPSS Statistics*.

Результаты и обсуждение. На основе транскриптома сахарной свеклы, полученного от экспрессии генов листовой и корневой ткани, американские ученые создали 43 пары SSR-маркеров для Unigene, которые выявляли полиморфизм и эффективно различали генетическое разнообразие среди генотипов культуры [10]. Данные локусы охарактеризованы как связанные с различными метаболическими процессами и вносящие потенциальный вклад в защитные механизмы растений. С учетом этих данных мы использовали 5 полиморфных Unigene-маркеров для тестирования 26 перспективных генотипов лаборатории селекции сахарной свеклы на стерильной основе. В результате ПЦР-анализа исходных родительских линий сахарной свеклы (МС-форм, сростноплодных опылителей) и их гибридов выявлены генетическое разнообразие и высокий полиморфизм. Диапазон длин полученных ДНК-фрагментов составляет от 100 до 3000 пар нуклеотидов (п. н.) Каждый праймер обеспечил стабильную амплификацию полиморфных фрагментов ДНК. Наибольший уровень полиморфного

Табл. 1. Нуклеотидная последовательность праймеров для SSR-локусов

SSR-локус	Сиквенс	T° отжига, °C
Unigene 26753	F: GAGATACAAATTCACCCATC R: GTAGAGGAAGTAAAAGCACCA	56-56,5
Unigene 24552	F: AACAACTCACTCATCCTTCTTC R: ATGAAAGCAAACGACTAGCAG	56-56,5
Unigene 2305	F: TACTTAAACCCTACGAACTCCA R: TACAGCTGTGATTGTCAGAAGA	56-56,5
Unigene 17623	F: ATTACACCTCAATCTTCCAGC R: AATATTGGCAATCTACCAGC	56-56,5
Unigene 14805	F: ACATGTCAACTCTCAACAATCC R: TCACTAGGAGAAACCTTC	56-56,5
Unigene 62524	F: GAGAATCATTCACCTTGCAC R: GGGACATGCTTAGTTTTGTTAG	56-56,5

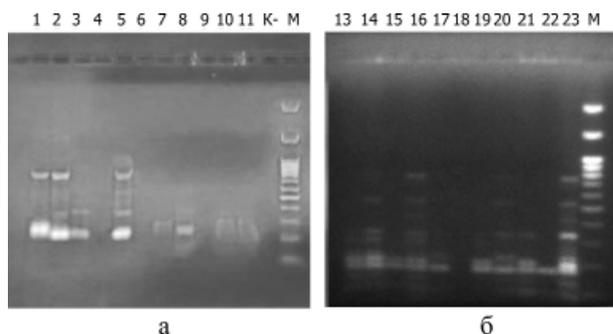


Рис. 1. ДНК-ампликоны, полученные с праймерами к SSR-локусу Unigene 24552; а: 1 – 18084 F, 2 – On 18085, 3 – MC-17070, 4 – 18082 F, 5 – On 18094, 6 – 18093 F, 7 – MC 16058, 8 – 18103 F, 9 – On 18105, 10 – 18104 F, 11 – MC-18002, К – (ПЦР-смесь без ДНК), М – маркер молекулярных масс ДНК GeneRuler™ (ThermoScientific, США); б: 12 – F, 18106, 13 – On 18108, 14 – MC 18039, 15 – F, 18107, 16 – MC 18017, 17 – F, 18073, 18 – On 18111, 19 – MC 18007, 20 – F, 18074, 21 – MC 18053, 22 – F, 18109, 23 – F, 18110, М – маркер молекулярных масс ДНК GeneRuler™ (ThermoScientific, США).

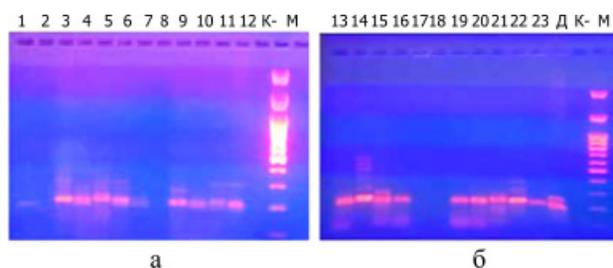


Рис. 2. Результаты ДНК-амплификации, полученные с праймерами к SSR-локусу Unigene 2305; а: 1 – 18084 F, 2 – On 18085, 3 – MC-17070, 4 – 18082 F, 5 – On 18094, 6 – 18093 F, 7 – MC 16058, 8 – 18103 F, 9 – On 18105, 10 – 18104 F, 11 – MC-18002, 12 – F, 18106, К – (ПЦР-смесь без ДНК), М – маркер молекулярных масс ДНК GeneRuler™ (ThermoScientific, США); б: 13 – On 18108, 14 – MC 18039, 15 – F, 18107, 16 – MC 18017, 17 – F, 18073, 18 – On 18111, 19 – MC 18007, 20 – F, 18074, 21 – MC 18053, 22 – F, 18109, 23 – F, 18110, Д – дикая свекла Beta corolliflora L., К – (ПЦР-смесь без ДНК), М – маркер молекулярных масс ДНК GeneRuler™ (ThermoScientific, США).

обеспечения (PIC) установлен для локусов, определенных с использованием праймеров: Unigene 17623 (PIC =0,88), Unigene 2305 (PIC =0,84), Unigene 14805 (PIC =0,85), что дало возможность дифференцировать селекционный материал культуры. Эти праймеры позволили амплифицировать до 11 полиморфных полос на генотип. По SSR-локусу Unigene 17623 выявлено от 2 до 11 ПЦР-продуктов длиной 150-3000 п. н. и всего – 94 ДНК-ампликона. Величина информационного полиморфизма (PIC) составила 0,88.

С использованием SSR-маркера Unigene 24552 в изученных образцах выявлено от 1 до 5 ДНК-ампликонов размером 200-600 п. н. Полиморфизм по данному SSR локусу составил 0,62 (рис. 1).

При использовании праймеров для SSR-маркера Unigene 2305 отмечено формирование от 2 до 8 ДНК-фрагментов длиной 100-750 п. н. (рис. 2). Полиморфизм составил 0,84.

По праймерам для SSR-маркера Unigene 62524 в изученных селекционных образцах выявлено от 1 до 7 ПЦР-продуктов длиной 250-1000 п. н. (рис. 3). Полиморфизм составил 0,78.

При использовании праймеров для SSR-локуса Unigene 14805 обнаружено от 1 до 9 ампликонов длиной 200-1300 п. н. Уровень полиморфизма составил 0,85.

На основе выявленных аллелей изученных микросателлитных локусов рассчитана матрица генетической близости образцов сахарной свеклы 5-ти сростноплодных опылителей и 9-ти МС-форм. Наибольшее генетическое расстояние отмечено для генотипов 1 – ОП 18085 и 12 – МС 18053 ($D_N=4,796$). На основе рассчитанных генетических расстояний Минковского осуществлена дифференциация исходных родительских линий сахарной свеклы методом кластерного анализа (рис. 4).

Результаты молекулярного анализа с данными праймерами к микросателлитным локусам генома позволили разграничить изученные генотипы на кластеры в соответствии с алгоритмом *SPSS Statistics*. Образцы, имеющие сходную генетическую структуру по изученным микросателлитным локусам ядерной ДНК, находятся в непосредственной близости друг от друга.

Селекционные образцы, находящиеся на значительном генетическом удалении друг от друга, такие как 1 –

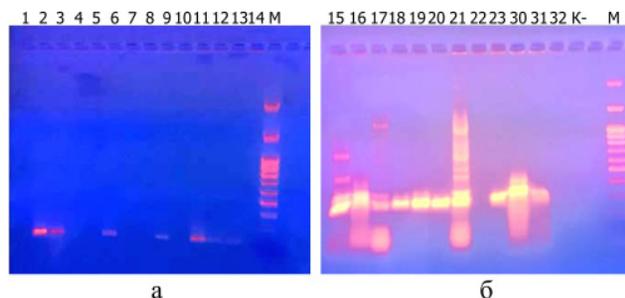


Рис. 3. Паттерны, полученные с праймерами к SSR-локусу Unigene 62524; а: 1 – 18084 F_p, 2 – On 18085, 3 – МС-17070, 4 – 18082 F_p, 5 – On 18094, 6 – 18093 F_p, 7 – МС 16058, 8 – 18103 F_p, 9 – On 18105, 10 – 18104 F_p, 11 – МС-18002, 12 – F₁ 18106, 13 – On 18108, 14 – МС 18039, М – маркер молекулярных масс ДНК GeneRuler™ (ThermoScientific, США); б: 15 – F₁ 18107, 16 – МС 18017, 17 – F₁ 18073, 18 – On 18111, 19 – МС 18007, 20 – F₁ 18074, 21 – МС 18053, 22 – F₁ 18109, 23 – F₁ 18110, 30 – МС 1(ВИР), 31 – МС 2(ВИР), 32 – П (пустиллодий), К-(ПЦР-смесь без ДНК), М – маркер молекулярных масс ДНК GeneRuler™ (ThermoScientific, США).

Дендрограмма с использованием метода межгрупповых связей Совмещение кластера перешкалированных расстояний

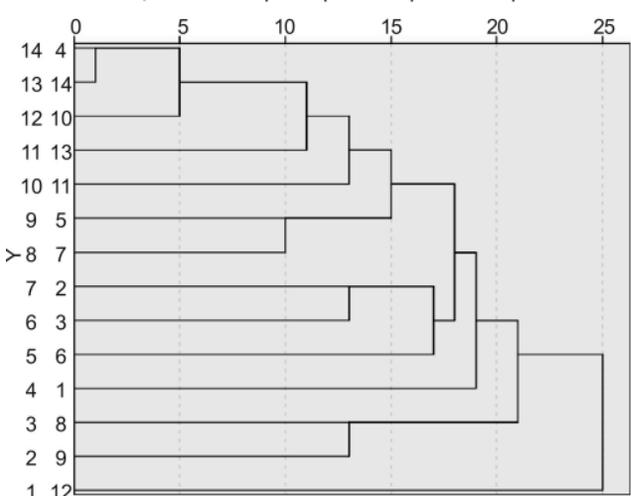


Рис. 4. Генетические дистанции исходных генотипов на основе межгрупповых связей; 1 – ОП 18085, 2 – МС 17070, 3 – ОП 18094, 4 – МС 16058, 5 – ОП 18105, 6 – МС 18002, 7 – ОП 18108, 8 – МС 18039, 9 – МС 18017, 10 – ОП 18111, 11 – МС 18007, 12 – МС 18053, 13 – МС 2 (ВИР), 14 – МС 1 (ВИР).

ОП 18085 и 12 – МС 18053 ($D_N=4,796$); 8 – МС 18039 и 1 – ОП 18085 ($D_N=4,243$); 9 – МС 18017 и 1 – ОП 18085 ($D_N=4,000$); 8 – МС 18039 и 3 – ОП 18094 ($D_N=4,000$); 12 – МС 18053 и 3 – ОП 18094 ($D_N=4,359$); 12 – МС 18053 и 5 – ОП 18105 ($D_N=4,123$); 11 – МС 18007 и 5 – ОП 18105 ($D_N=4,000$), рекомендуется использовать при проведении скрещиваний для создания гетерозисных гибридов. Образцы, объединенные в отдельные кластеры, характеризуются наибольшим родством и не рекомендуются для скрещиваний. Данные о генетической удаленности селекционных образцов могут быть применены для более обоснованного подбора родительских пар при гибридизации. Изученные микросателлитные маркеры рекомендованы для использования при генотипировании селекционного материала. По результатам молекулярного анализа составлены генетические паспорта и своеобразные штрих-коды исследованных родительских форм и гибридов, что позволило идентифицировать их для использования в селекционном процессе (табл. 2).

Табл. 2. Штрих-код генотипов сахарной свеклы на основе SSR-анализа

Образец	Unigene 24552	Unigene 2305	Unigene 17623	Unigene 14805	Unigene 62524
F ₁ (23)					
On (2)					
MC (3)					
On (5)					
F ₂ (6)					
MC (14)					
F ₂ (17)					
On (18)					
MC (19)					
F ₂ (23)					
On (13)					
F ₁ (15)					

Таким образом, установлена молекулярно-генетическая структура 26 генотипов селекционно-ценных номеров сахарной свеклы по 5-ти SSR-маркерам, позволяющая провести их идентификацию и паспортизацию для дальнейшего использования в маркер-ориентированной селекции. Наибольшим уровнем полиморфизма характеризуются праймеры к микросателлитным локусам Unigene 17623 (PIC=0,88), Unigene 14805 (PIC=0,85), Unigene 2305 (PIC=0,84), Unigene 62524 (PIC=0,78), Unigene 24552 (PIC=0,62), которые рекомендуются для использования при генотипировании селекционно-ценных образцов.

Расчитаны генетические расстояния между MS-формами и сростноплодными опылителями, которые варьировали от 2,236 до 4,796. Родительские образцы (рис. 4), находящиеся на значительном генетическом удалении друг от друга, такие как 1 и 12 ($D_N=4,796$); 8 и 1 ($D_N=4,243$); 9 и 1 ($D_N=4,000$); 8 и 3 ($D_N=4,000$); 12 и 3 ($D_N=4,359$); 12 и 5 ($D_N=4,123$); 11 и 5 ($D_N=4,000$) рекомендуются для использования при создании гетерозисных гибридов.

Проведенные молекулярно-генетические исследования имеют большое значение в практической селекции сахарной свеклы, так как позволяют осуществлять генотипирование и дифференциацию исходного материала и целенаправленно подбирать компоненты скрещиваний.

Литература

1. Taški-Ajduković K., Nagl N., Čurčić Ž., Zorić M. Estimation of genetic diversity and relationship in sugar beet pollinators based on SSR markers // *Electronic Journal of Biotechnology*. – 2017. – 27. – P. 1-7.
2. Abbasil Z., Arzani A., Majidi M. Evaluation of Genetic Diversity of Sugar Beet (*Beta vulgaris* L.) Crossing Parents Using Agro-morphological Traits and Molecular Markers // *J. Agr. Sci. Tech.* – 2014. – V. 16. – P. 1397-1411.
3. He J., Zhao X., Laroche A., Lu Z.-X., Liu H., Li Z. Genotyping-by-sequencing (GBS), a ultimate marker assisted selection (MAS) tool to accelerate plant breeding // *Plant Genetics and Genomics*. – 2014. – V. 5. – P. 1-7.
4. Holtgrawe D., Rosleff Th., Vieho P., Schneider J., Schulz B., Borchardt D., Kraft Th., Himmelbauer H., Weisshaar B. Polymorphisms and Their Application for Extending the Genetic Map of Sugar Beet (*Beta vulgaris*) // *PLOS ONE*. – 2014. – V. 9. – P. 1-10.
5. Dohm J.C., Minoche A.E., Holtgrawe D., Capella-Gutierrez S., Zakrzewski F. The genome of the recently domesticated crop plant sugar beet (*Beta vulgaris*) // *Nature*. – 2014. – 505. – P. 546-549.
6. Щербина О.М., Свирицевская А.М., Кильчевский А.В. Аллельное разнообразие в микросателлитных локусах диплоидных линий материала сахарной свеклы (*Beta vulgaris* L.) // *V съезд Вавиловского общества генетиков и селекционеров: тезисы докладов*. – М., 21-28 июня 2009, Ч.1. – С. 370.
7. Izzatullayeva V., Akparov Z., Babayeva S., Ojaghi J., Abbasov M. Efficiency of using RAPD and ISSR markers in evaluation of genetic diversity in sugar beet // *Turkish Journal of Biologiy*. – 2014. – V. 38. – P. 429-438
8. Curcic Z., Taski-Ajdukovic K., Nagl N. Relationship between hybrid performance and genetic variation in self-fertile and self-sterile sugar beet pollinators as estimated by SSR markers // *Euphytica*. – 2017. – V. 213(5). – P. 100-108.
9. Sandhu Surinder K., Sarao Navraj K., Meenakshi G., Uppal S., Pritpal S., Satveer K., Jaspreet K. Profiling of sugar beet genotypes for agronomical, sugar quality and forage traits and their genetic diversity analysis using SSR markers // *Electronic Journal of Plant Breeding*. – 2016. – V. 7. – P. 253-266.
10. Broccanello Ch., Chiodi C., Funk A., Mitchell McGrath J., Panella Lee, Stevanato P. Comparison of three PCR-based assays for SNP genotyping in plants // *Plant Methods*. – 2018. – V. 14. – P. 28.
11. Simko I., Eujayl I., van Hintum T.J. Empirical evaluation of DArT, SNP, and SSR marker-systems for genotyping, clustering, and assigning sugar beet hybrid varieties into populations // *Plant Sci.* – 2012. – V. 184. – P. 54-62.
12. Srivastava S., Pathak A.D., Kumar R., Joshi B.B. Genetic diversity of sugar beet genotypes evaluated by microsatellite DNA markers // *Journal of Environmental Biology*. – 2017. – V. 38. – P. 777-783.
13. Mahuku G.S. A simple extraction method suitable for PCR-based analysis of plant, fungal, and bacterial DNA // *Plant Mol. Biol. Rep.* – 2004. – V. 22. – P. 71-81.
14. Hussein A.S., Nalbandyan A.A., Fedulova T.P., Bogacheva N.N. Efficient and nontoxic DNA isolation method for PCR analysis // *Russian Agricultural Sciences*. – 2014. – V. 40. – P. 177-178.
15. Fugate K., Fajardo D., Schlautman B., Ferrareze J.P., Bolton M.D., Campbell L.G., Wiesman E., Zalapa J. Generation and Characterization of a Sugarbeet Transcriptome and Transcript-Based SSR Markers // *The Plant Genome*. – 2014. – V.7. – № 2. – P. 1-13.
16. Nei M., Roychoudhury A.K. Sampling variances of heterozygosity and genetic distance // *Genetics*. – 1974. – V. 76. – P. 379-390.
17. Nei M., Li W.H. Mathematical model for studying genetic variation in terms of restriction endonucleases // *PNAS USA*. – 1979. – V. 76. – P. 5269-5273.

Поступила в редакцию 17.02.20

После доработки 28.02.20

Принята к публикации 03.03.20

ПРЕДРАСПОЛОЖЕННОСТЬ НАКОПЛЕНИЯ ФЕНОЛЬНЫХ СОЕДИНЕНИЙ У СОИ (*Glycine max* (L.) MERR.) В ЗАВИСИМОСТИ ОТ ОВОЩНОГО НАПРАВЛЕНИЯ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ

Д.Р. Шафигуллин¹, Е.П. Пронина¹, кандидат сельскохозяйственных наук,
М.С. Гинс^{1,2}, А.В. Солдатенко¹, члены-корреспонденты РАН

¹Федеральный научный центр овощеводства,
143080, Московская область, Одинцовский район, пос. ВНИИССОК, ул. Селекционная, 14

²Российский университет дружбы народов,

117198, Москва, ул. Миклухо-Маклая, 6

E-mail: shafigullin89@yandex.ru

Обобщено трехгодичное изучение суммарного накопления фенольных соединений как важнейшей группы спирто- и водорастворимых антиоксидантов в непосредственно использующихся в пищу семенах и вегетативных органах сои овощной. Для анализа применен спектрофотометрический метод Фолин-Чокальтеу. Масличные и овощные образцы выращивали на опытном поле и в защищенном грунте Федерального научного центра овощеводства в Московской области. Впервые в условиях 55° с.ш., почти по наиболее северной границе возделывания культуры исследована аккумуляция фенольных соединений в фазе технической (R6) и биологической спелости (R8) овощных образцов. Обнаружено, что в R6-фазе содержание фенольных соединений в вегетативных органах значительно выше, чем в семенах (на сухую массу), и в среднем составляет 12,0 и 4,1 мг/г соответственно. Накопление фенольных соединений в семенах овощных форм превысило этот показатель у масличных сортов в обе фазы развития растений на 36,6 и 10% соответственно и в среднем за 3 года в фазе полной биологической спелости – на 26,3%. Отмечены овощные образцы с высоким накоплением фенольных соединений (4,9 мг/г): Gokuwase Hayabusa Edamame, Образец А, Tundra. Изучение аккумуляции таких соединений у овощных форм в условиях Центрального района Нечерноземной зоны России позволяет сделать вывод об их использовании в создании сортов с повышенным содержанием фенольных соединений для производства овощной продукции функционального и лечебного направления.

PREDISPOSITION OF PHENOLIC COMPOUNDS ACCUMULATION IN SOYBEAN (*Glycine max* (L.) MERR.) DEPENDING ON THE VEGETABLE DIRECTION OF USE

Shafigullin D.R.¹, Pronina E.P.¹, Gins M.S.^{1,2}, Soldatenko A.V.¹

¹Federal Scientific Vegetable Center,
143080, Moskovskaya oblast, Odintsovskiy rayon, pos. VNISSOK, ul. Selektionnaya, 14

²Peoples' Friendship University of Russia,

117198, Moskva, ul. Miklucho-Maklaya, 6

E-mail: shafigullin89@yandex.ru

The article summarizes a three-year study of the total accumulation of phenolic compounds (PS) as the most important group of alcohol- and water-soluble antioxidants in seeds directly used in food and vegetative organs of vegetable soybean. For analysis, the Folin-Ciocalteu spectrophotometric method was used. Oilseed and vegetable samples were grown on the experimental field and in the greenhouse of the Federal Scientific Vegetable Center in the Moscow Region. For the first time under 55°N, almost along the northernmost border of crop cultivation, the accumulation of phenolic compounds in the phase of technical (R6) and biological ripeness (R8) of soybean vegetable lines was studied. It was found that in the R6-phase, the content of PS in the vegetative organs significantly exceeded the similar indicator in the seeds (per dry weight), averaging 12.0 and 4.1 mg/g, respectively. In a comparative aspect, the accumulation of phenolic compounds in the seeds of vegetable forms exceeded oilseed varieties in both phases of plant development: in phases R6 and R8 by 36.6 and 10 %, respectively. On average, over 3 years, the content of PS in the seeds of vegetable forms in the phase of complete biological ripeness was 26.3% more than in oilseed varieties. Vegetable samples with a high accumulation of phenolic compounds (4.9 mg/g) were noted: Gokuwase Hayabusa Edamame, Sample A, Tundra. Studying the phenolic compounds accumulation in vegetable soybean forms in the conditions of the Central region of the Non-Chernozem zone makes it possible to conclude that they are promising for the creation of varieties with a high content of PS for the production of vegetables functional and medicinal products.

Ключевые слова: соя овощная, *Glycine max* (L.) Merr., фенольные соединения, антиоксиданты, функциональные продукты

Key words: vegetable soybean, *Glycine max* (L.) Merr., phenolic compounds, antioxidants, functional products

В последнее время соя привлекает все больше внимания по всему миру не только как масличная, но и ценная овощная культура [1, 2], используемая в национальных кухнях в виде основного блюда, добавок к супам и вторым блюдам или высокобелковой закуски [3]. Одно из преимуществ сои овощной – употребление семян в фазе технической спелости, когда активность антипитательных веществ минимальна; для их приготовления достаточно нескольких минут термической обработки [4].

Фенольные соединения являются веществами ароматической природы с гидроксильными группами, вторичного происхождения, отнесенные к числу непреходящих компонентов растительного мира [5]. Видовая

особенность растений влияет на их состав, значительно различающийся у таксонов [6]. Опытные данные свидетельствуют о том, что они играют большую роль в росте и развитии растений. Так, одна из важнейших функций фенольных соединений – участие в окислительно-восстановительных реакциях [7] в качестве антиоксидантов, влияющих на свободные радикалы, число которых возрастает в клетках при стрессе [8, 9]. Также они имеют большое значение в дыхании, фотосинтезе, регуляции процессов развития растений [10, 11]. Фенольные соединения, в число которых входят и изофлавоны, содержатся в вегетативных органах сои овощного типа, а также в бобах и семенах [12, 13].

При перенесении культуры из мест ее естественного, эндемичного произрастания в новые регионы содержание вторичных метаболитов в растениях подвергается значительным изменениям [14]. Поэтому важно проводить скрининг генетического материала на накопление фенольных соединений как основной группы антиоксидантов, необходимых в клетках и в пищевом рационе [15].

Цель настоящей работы – изучение предрасположенности содержания фенольных соединений в вегетативных органах и семенах сои, обусловленной овощным направлением использования в условиях 55° с.ш. для отбора генотипов с повышенным накоплением спирторастворимых антиоксидантов, перспективных в селекционной работе и создании функциональных продуктов питания.

Методика. Объектом исследований были 10 образцов *Glycine max* (L.) Мегг., два из которых – масличные, два – универсальные, шесть – овощные. Изучение селекционного материала сои проводили в лаборатории физиологии и биохимии Федерального научного центра овощеводства (ФНЦО) в течение 2016-2018 гг. Большая часть сортов и образцов предоставлена Федеральным исследовательским центром Всероссийский институт генетических ресурсов растений имени Н.И. Вавилова, также использовали селекционный материал из коллекции ФНЦО (табл. 1).

Овощные формы определяли согласно сформированной модели сортогрупп: по морфологическим и хозяйственным признакам, биологическим особенностям, биохимическим параметрам [16-18]; к универсальным отнесены формы, проявляющие признаки, присущие как овощным, так и масличным сортам; к зерновым – сорта масличного направления. Стандартом был выбран сорт Окская (селекции Рязанского научно-исследовательского и проектно-технологического института АПК), зарегистрированный в Государственном реестре, в том числе для Центрального региона.

Образцы высевали вручную в открытом грунте в третьей декаде мая в 2016 и 2018 гг., в 2017 г. – в первой декаде июля в защищенном грунте (теплице) в три ряда длиной 1,5 м (густота стояния – 55 шт./м²).

Содержание фенольных соединений определяли методом Фолина-Чокальтеу [19]. Фенольные соединения экстрагировали раствором C₂H₅OH (70%) на водяной бане при 70 °C в течение 45 мин. Калибровку проводили по галловой кислоте (безводная), степень чистоты – «чистая для анализа» (ЧДА). Накопление фенольных соединений в листьях анализировали однократно (в фазе технической спелости), в семенах – в динамике

(в фазе технической – R6 и биологической спелости – R8). Качественный анализ на содержание фенольных соединений проводили в водной суспензии обезжиренных измельченных семян (1 г/10 мл воды) по реакции с 0,1 н раствором хлорида железа (III).

Статистическая обработка данных проведена методом дисперсионного анализа с помощью программы Microsoft Office Excel (2010). Анализ изменчивости признаков определяли по следующим показателям: средняя арифметическая: $\bar{x} = \frac{\sum x_i}{n}$, где x_i – значение признака повторности, n – число всех повторностей; ошибка выборки: $S_x = \frac{\sigma}{\sqrt{n}}$, где σ – среднее квадратическое отклонение; коэффициент вариации: $V_\sigma = \frac{\sigma}{\bar{x}} \times 100\%$

Результаты и обсуждение. Проведен качественный анализ на фенольные соединения в обезжиренных семенах. Наблюдали потемнение и интенсивное окрашивание раствора в красно-коричневый цвет, что свидетельствует о содержании пула фенольных компонентов.

В фазе технической спелости растения характеризовались существенным их накоплением в листьях, в несколько раз большим, чем в семенах. Содержание фенольных соединений почти не детерминировалось селекционной направленностью и изменялось в широком диапазоне. Максимальное их значение отмечено у овощной формы 740-1 (рис. 1).

Аккумуляция фенольных соединений в семенах показала превышение их суммы у овощных образцов в фазе технической и биологической спелости соответственно на 36,6 и 10%. Содержание фенольных компонентов в фазе R6 у овощных форм в среднем составило 4,1 мг-экв галловой кислоты/г.

В период созревания (до наступления полной биологической спелости) отмечено увеличение накопления фенольных соединений большинством образцов (примерно на треть). У линий Нордик, Hidaka, Cha Kura Kake выявлено их снижение на 8,9 и 24,4% (в относительных значениях), что может свидетельствовать о возможных путях разрушения вследствие теплового стресса (рис. 2).

В среднем за 3 года содержание фенольных соединений в семенах в фазе биологической спелости у овощных форм было больше на 26,3%, чем у масличных сортов. Среди овощных образцов высоким их накоплением выделились линии Gokuwase Nayabusa Edamame, образец A, Tundra – с медианным значением 4,9 мг-экв галловой кислоты/г.

Табл. 1. Происхождение образцов сои и направление использования

№ п/п	Образец	Происхождение	Направление
1	Окская	Россия	Зерновое (масличное)
2	Соер 5	Россия	Зерновое (масличное)
3	Gokuwase Nayabusa Edamame	Япония	Овощное
4	Образец А	Япония	Овощное
5	Нордик	Россия	Универсальное
6	Hidaka	Япония	Овощное
7	740-1	Швеция	Овощное
8	Fiskeby III	Швеция	Овощное
9	Tundra	Канада	Универсальное
10	Cha Kura Kake	Япония	Овощное

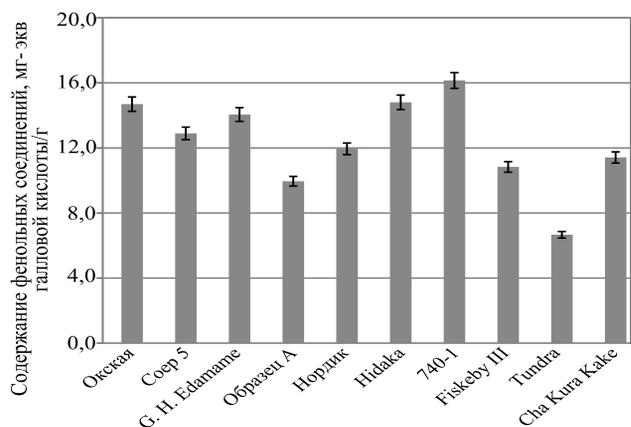


Рис. 1. Содержание (мг-экв галловой кислоты/г на сухую массу) фенольных соединений в листьях образцов сои в фазе технической спелости (среднее за 2017-2018 гг.).

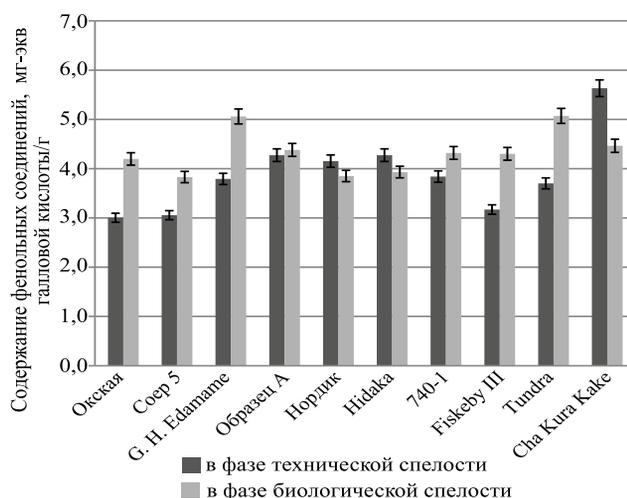


Рис. 2. Содержание (мг-экв галловой кислоты/г на сухую массу) фенольных соединений в обезжиренных семенах образцов сои в фазе технической и биологической спелости, 2018 г.

Табл. 2. Содержание (мг-экв галловой кислоты/г) фенольных соединений в обезжиренных семенах образцов сои в фазе биологической спелости

Образец	2016 г.	2017 г.	2018 г.	В среднем за 3 года	V _о , %
Окская	3,6±0,1	3,1±0,1	4,2±0,1	3,6±0,3	15,2
Соер 5	4,8±0,1	3,0±0,1	3,8±0,1	3,9±0,5	23,2
Gokuwase Hayabusa Edamame	5,5±0,2	4,1±0,1	5,1±0,2	4,9±0,4	14,3
Образец А	6,2±0,2	4,3±0,1	4,4±0,1	5,0±0,6	21,1
Нордик	4,4±0,1	2,8±0,1	3,9±0,1	3,7±0,5	21,2
Hidaka	5,7±0,2	4,4±0,1	3,9±0,1	4,7±0,5	20,1
740-1	5,1±0,2	4,7±0,1	4,3±0,1	4,7±0,2	8,1
Fiskeby III	5,4±0,2	4,3±0,1	4,3±0,1	4,7±0,4	13,8
Tundra	6,3±0,2	5,1±0,2	5,1±0,2	5,5±0,4	13,0
Cha Kura Kake	4,6±0,1	3,2±0,1	4,5±0,1	4,1±0,4	18,7
HCP ₀₅	0,8	0,8	0,4	0,6	-

В 2017 г. у масличных и овощных форм сои обнаружено снижение суммы фенольных соединений на 31,9% по сравнению с предыдущим годом, что вызвано аномальными факторами влияния внешней среды (температурой воздуха в период налива семян выше 35 °С и недостатком влаги в условиях защищенного грунта). Изменчивость содержания данных соединений по годам была относительно невысокой, что позволяет рассматривать это как ценный биохимический признак (табл. 2).

Таким образом, суммарное накопление фенольных соединений в семенах сои овощной достаточно велико в фазе технической и биологической спелости и составляет соответственно 4,1 и 4,8 мг-экв галловой кислоты/г, что выше на 36,6 и 26,3%, чем у масличных сортов. Можно сделать вывод об использовании образцов сои овощного типа в селекции на повышенное накопление водо- и спирторастворимых фенольных соединений как самой большой группы антиоксидантов.

Литература:

1. Ogles C.Z. Evaluation of selected edamame cultivars for isoflavone content, organoleptic characteristics, and production in Central Alabama // *Duc. Auburn University*, 2016. – 77 с.

2. Xu Y., Cartier A., Kibet D., Jordan K., Hakala I., Davis S., Rutto L. Physical and nutritional properties of edamame seeds as influenced by stage of development // *Journal of Food Measurement and Characterization*. – 2016. – V. 10. – № 2. – P. 193-200.

3. Jian Y. Situation of soybean production and research in China // *Tropical Agriculture Research Series*. – 1984. – V. 17. – N 1. – P. 67-72.

4. Johnson D., Wang S., Suzuki A. Edamame: A vegetable soybean for Colorado // *Energy (Kcal)*. – 2000. – V. 582. – P. 573.

5. Запроматов М.Н. Фенольные соединения. Распространение, метаболизм и функции в растениях. – М.: Наука, 1993. – 272 с.

6. Wollenweber E., Dietz V.H. Occurrence and distribution of free flavonoid aglycones in plants // *Phytochemistry*. – 1981. – V. 20. – P. 869-932.

7. Alu'datt M.H., Rababah T., Ereifej K., Alli I. Distribution, antioxidant and characterisation of phenolic compounds in soybeans, flaxseed and olives // *Food chemistry*. – 2013. – V. 139. – N 1-4. – P. 93-99.

8. Тарчевский И.А. Сигнальные системы клеток. – М.: Наука, 2002. – 294 с.

9. Макарова Л.Е. Физиологическое значение фенольных соединений при формировании бобово-ризобияльного симбиоза на этапе преинфекции // *Вісник Харківського національного аграрного університету. Серія: Біологія*. – 2012. – N 2. – С. 25-40.

10. Bellés J.M., Garro R., Fayos J., Navarro P., Primo J., Conejero V. Gentisic acid as a pathogen-inducible signal, Additional to Salicylic Acid for Activation of Plant Defenses in Tomato // *Mol. Plant-Microbe Interact.* – 1999. – V. 12 – P. 227-235.

11. Cunha J.F., Campestrini F.D., Calixto J.B., Scremin A., Paulino N. The mechanism of gentisic acid-induced relaxation of the guinea pig isolated trachea: the role of potassium channels and vasoactive intestinal peptide receptors // *Braz. J. Medical Biological Res.* – 2001. – V. 3. – N 3. – P. 381-388.

12. Dueñas M., Hernández T., Lamparski G., Estrella I., Muñoz R. Bioactive phenolic compounds of soybean (*Glycine max* cv. Merit): modifications by different microbiological fermentations // *Polish journal of food and nutrition sciences*. – 2012. – T. 62. – N 4. – С. 241-250.

13. Chung I.M., Seo S.H., Ahn J.K., Kim S.H. Effect of processing, fermentation, and aging treatment to content and profile of phenolic compounds in soybean seed, soy curd and soy paste // *Food chemistry*. – 2011. – T. 127. – N 3. – С. 960-967.

14. Kim E H., Ro H.M., Kim S.L., Kim H.S., Chung I.M. Analysis of isoflavone, phenolic, soyasapogenol, and toopherol compounds in soybean [*Glycine max* (L.) Merrill] germplasms of different seed weights and origins // *Journal of agricultural and food chemistry*. – 2012. – V. 60. – N 23. – P. 6045-6055.

15. Lee S.J., Kim J.J., Moon H.I., Ahn J.K., Chun S.C., Jung W.S., Chung I.M. Analysis of isoflavones and phenolic compounds in Korean soybean [*Glycine max* (L.) Merrill] seeds of different seed weights // *Journal of agricultural and food chemistry*. – 2008. – T. 56. – N 8. – С. 2751-2758.

16. Шафигуллин Д.Р., Романова Е.В., Гинс М.С., Гинс В.К., Пронина Е.П. Особенности корреляционных связей между количественными признаками селекционных образцов сои // *Овощи России*. – 2017. – N 2. – С. 20-23.

17. 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 // *Российская сельскохозяйственная наука*. – 2020. – № 2. – С. 13-16.

18. Shafiqullin D.R., Gins M.S., Pivovarov V.F., Soldatenko A.V. Study of soybean vegetable samples in the conditions of the Central European part of Russia and modeling of new variety biotypes // *Известия Тимирязевской сельскохозяйственной академии*. – 2018. – N 4. – P. 73-98.

19. Ainsworth E.A., Gillespie K.M. Estimation of total phenolic content and other oxidation substrates in plant tissues using Folin-Ciocalteu reagent // *Nature protocols*. – 2007. – V. 2. – N 4. – P. 875.

Поступила в редакцию 03.02.20
После доработки 15.03.20
Принята к публикации 20.03.20

Защита растений

УДК 633.11:632.954

DOI:10.31857/S2500262720040067

ЭФФЕКТИВНОСТЬ ДИФФЕРЕНЦИРОВАННОГО ПРИМЕНЕНИЯ ГЕРБИЦИДОВ В ПОСЕВАХ ОЗИМОЙ ПШЕНИЦЫ

А.М. Шпанев^{1,2}, доктор биологических наук,
В.В. Смуk^{1,2}, кандидат сельскохозяйственных наук

¹Агрофизический научно-исследовательский институт,
195220, Санкт-Петербург, Гражданский пр., 14

²Всероссийский научно-исследовательский институт защиты растений,
196608, Санкт-Петербург – Пушкин, шоссе Подбельского, 3
E-mail: ashpanev@mail.ru, vvsruk@mail.ru

Цель исследований заключалась в сравнительной оценке эффективности дифференцированного и равномерного применения гербицидов на посевах озимой пшеницы в Северо-Западном регионе РФ. По результатам исследований выявлена устойчивая положительная корреляционная связь вегетационного индекса NDVI с проективным покрытием ($r = 0,32-0,61$, $p \leq 0,05$), но не с численностью сорных растений ($r = -0,18-0,35$) в фазе выхода в трубку озимой пшеницы. Несмотря на это, фактические значения данного индекса не во всех случаях позволяли достоверно различать разные степени засоренности делянок в опыте. Определена более высокая биологическая и хозяйственная эффективность равномерного в сравнении с дифференцированным способа применения гербицида в посевах озимой пшеницы. В данном варианте уничтожались сорные растения, в том числе и на делянках со слабой засоренностью, которые при дифференцированном применении гербицида не обрабатывали. В то же время дифференцированная гербицидная обработка способствовала существенному снижению объемов применения препарата. При этом дифференцированная на основе измерений индекса NDVI норма расхода гербицида оказалась такой же эффективной по влиянию на численность и фитомассу сорных растений, как и полная норма.

EFFECTIVENESS OF DIFFERENTIATED APPLICATION OF HERBICIDES IN WINTER WHEAT CROPS

Shpanev A.M.^{1,2}, Smuk V.V.^{1,2}

¹Agrophysical Research Institute, 195220, Sankt-Peterburg, Grazhdanskiy pr., 14

²All-Russian Institute of Plant Protection,
196608, Sankt-Petersburg – Pushkin, shosse Podbelskogo, 3
E-mail: ashpanev@mail.ru, vvsruk@mail.ru

The aim of the study was the comparative assessment of the differential and uniform herbicide usage efficacy on the winter wheat plantations in the Northwestern region of Russia. As a result of the research, we revealed the stable positive correlation of the vegetation index NDVI with the projective coverage ($r = 0,32-0,61$, $p \leq 0,05$), but not with the weeds number ($r = -0,18-0,35$) over the shooting phase of the winter wheat. Nevertheless, actual values of this index sometimes did not allow for the reliable discrimination of the different stages of the plot weediness in this experiment. We determined higher biological and applied efficacy of the uniform method herbicide application on the winter wheat plantations in comparison to the differential method. Uniform method led to the weeds destruction, including those on the plots with weak weediness, which were not treated during the differential method application. At the same time, differential method contributed to the higher profitability due to the significantly reduced amount of the applied chemical. Additionally, differential amount usage of the herbicide, assessed based on the NDVI index, demonstrated the same effect on the weed plants number and phytomass, as the full standard amount.

Ключевые слова: озимая пшеница, дифференцированное применение гербицидов, сорные растения, биологическая эффективность, экономическая эффективность

Key words: winter wheat, differentiated use of herbicides, weeds, biological efficiency, economic efficiency

Из всех групп вредных организмов на первом месте по причиняемому вреду сельскому хозяйству в нашей стране находятся сорные растения, а по объему применения среди всех средств защиты растений – гербициды [1, 2]. Поэтому для решения актуальной задачи, связанной со снижением пестицидной нагрузки на агроценозы и охраной окружающей среды, особое значение имеет сокращение применения гербицидов. Опыт передовых зарубежных стран показал важность системы точного земледелия, в которой средства защиты растений применяют с учетом пространственного размещения вредных организмов в агроценозах [3-7]. По данным отечественных ученых, локально-дифференцированное применение позволяет снизить расход гербицидов на 29,4-37% и оно не сопровождается ростом засоренности полей севооборота [8].

Внедрение системы точного земледелия в нашей

стране сдерживается рядом объективных факторов, среди которых недостаток знаний об особенностях фитосанитарного состояния в пространстве возделываемых полей и эффективности дифференцированных норм применения пестицидов. Поэтому несомненную практическую значимость представляют исследования оптимизации норм расхода препаратов и рабочей жидкости при гербицидной обработке в зависимости от пространственной неоднородности засоренности посевов. В отечественной литературе данные по этому вопросу крайне малочисленны, но уже имеются положительные результаты проведения гербицидных обработок с использованием вегетационных индексов [9-12].

Целью настоящей работы была сравнительная оценка эффективности дифференцированного и равномерного применения гербицидов на посевах озимой пшеницы в Северо-Западном регионе РФ.

Методика. Исследования проводили в 2015-2017 гг. в микрополевоом опыте Меньковского филиала Агрофизического научно-исследовательского института на посевах озимой пшеницы сорта Московская 56. Заданную схемой опыта пространственную неоднородность засоренности (сильная – более 25%, средняя – 10-25%, слабая – менее 10% проективного покрытия) создавали ручными прополками сильно засоренного участка за несколько дней до гербицидной обработки.

В опыте было предусмотрено два варианта с разными способами применения гербицида, а также необработываемый гербицидом контроль. При равномерном способе использовали полную норму расхода гербицида независимо от засоренности посевов. При дифференцированном способе норму расхода препарата определяли с учетом степени засоренности по данным вегетационного индекса NDVI. Норму расхода рассчитывали по соотношению показателей NDVI, соответствующих деланкам средней и сильной засоренности. При этом при сильной засоренности применяли полную норму расхода гербицида, которая для препарата Секатор, водно-диспергированные гранулы – ВДГ на посевах озимой пшеницы составляет 0,200 кг/га. Размер деланки в опыте – 2 м², общее их количество при 9 повторениях – 81.

Наземное определение индекса NDVI проводили с использованием портативного ручного датчика GreenSeeker фирмы Trimble (США) в фазе начала выхода в трубку озимой пшеницы на постоянных учетных площадках 0,1 м², расположенных внутри деланки [13]. Количество постоянных площадок соответствовало числу деланок в опыте. В этой фазе развития культуры на постоянных учетных площадках определяли численность сорных растений отдельно по видам, их общее проективное покрытие, а при уборке урожая – общую фитомассу. Учет урожая состоял из уборки всех растений с каждой постоянной площадки в фазе полной спелости озимой пшеницы.

Биологическую эффективность гербицидной обработки определяли согласно соответствующим методическим указаниям путем сравнения численности сорных растений на постоянных учетных площадках до обработки и через 30 дней после ее проведения, а также при уборке урожая во всех вариантах [14].

Статистическая обработка данных проведена с использованием дисперсионного и корреляционного анализов в программе Statistica 6.

Результаты и обсуждение. Комплекс видов сорных растений на деланках был представлен обычными для ценоза озимой пшеницы на Северо-Западе России видами. Массово встречались зимующие виды – фиалка полевая (*Viola arvensis* Murr.), ромашка непахучая (*Matricaria inodora* L.), незабудка полевая (*Myosotis arvensis* L.), пастушья сумка обыкновенная (*Capsella bursa-pastoris* (L.) Medik.). Отсутствие многолетних видов сорных растений указывает на малолетний тип засоренности опытных деланок на протяжении всех лет исследований. При слабой засоренности в разные годы насчитывалось 183-447 экз./м², средней – 289-655, сильной – 310-904 экз./м², проективное покрытие поверхности почвы сорными растениями составляло соответственно 6-7; 14-17 и 23-42%.

Фактические значения индекса NDVI значительно варьировали по годам и в среднем составляли 0,45; 0,49 и 0,54 соответственно для слабой, средней и сильной степени засоренности посева. При этом степень засоренности достоверно различалась по этому индексу только в 2017 г., что указывает на ограниченное его применение

Табл. 1. Значения индекса NDVI в вариантах с разной засоренностью посевов озимой пшеницы

Год	Степень засоренности			НСР ₀₅
	слабая	средняя	сильная	
2015	0,63±0,08	0,66±0,09	0,70±0,10	0,028
2016	0,43±0,05	0,47±0,05	0,48±0,04	0,017
2017	0,29±0,03	0,34±0,04	0,45±0,08	0,022

при определении засоренности посевов озимой пшеницы (табл. 1). В литературе также можно обнаружить сведения о недостаточной чувствительности индекса к незначительным изменениям в засоренности посевов, в том числе пороговых значений, на основании которых принимают решение о гербицидных обработках [15, 16]. Статистическая обработка данных показала отсутствие устойчивой положительной корреляционной связи индекса NDVI с численностью сорных растений ($r = -0,18-0,35$), тогда как с проективным покрытием ($r = 0,32-0,61$, $p \leq 0,05$) она была.

На основе значений индекса NDVI, определенного для каждой деланки, составлена карта-задание на проведение гербицидной обработки. Уменьшение нормы расхода гербицида при дифференцированной обработке на деланках со средней засоренностью в отдельных случаях достигало 28-40% (0,055-0,080 кг/га) при среднем значении по годам 14, 2 и 22% (табл. 2).

Дифференцированная и полная норма расхода гербицида Секатор, ВДГ показали практически одинаковую результативность. Снижение численности сорных растений к уборке урожая составляло соответственно 47,2 и 53,0%, фитомассы – 57,1 и 56,5%. Максимальное различие по эффективности разной нормы обработки гербицидом в 2017 г. достигало 8,8 и 13,3% соответственно по числу и массе сорных растений (табл. 3). Для данного года было характерно наибольшее уменьшение нормы применения гербицида – 22%, что не вызывало такого же снижения эффективности обработки. Это свидетельствует в пользу дифференцированного подхода при выборе нормы расхода гербицидов, которую следует определять по фактической засоренности каждого участка посева.

Сравнительная оценка эффективности показала преимущество равномерного проведения гербицидной обработки, а не дифференцированной, учитывающей фактическую засоренность деланок. Оно выразилось в более сильном снижении численного состава сорных растений и формируемой ими надземной массы, которые составили по годам соответственно 48,6-75,1 и 39,0-77,9% (табл. 3). При этом различия в значениях данных показателей между двумя способами применения гербицида в разные годы достигали 17,6-21,4 и 1,7-29,7%. Такая ситуация объясняется как несколько более высокой эффективностью полной нормы применения гербицида, так и уничтожением сорных рас-

Табл. 2. Нормы расхода гербицида, определенные по индексу NDVI, для деланок со средней степенью засоренности

Год	Средняя засоренность		Сильная засоренность		Снижение нормы расхода гербицида	
	NDVI	норма расхода, кг/га	NDVI	норма расхода, кг/га	кг/га	%
2015	0,50-0,77	0,145-0,192	0,55-0,80	0,200	0,008-0,055	4-28
2016	0,40-0,52	0,178-0,200	0,41-0,53	0,200	0,0-0,022	0-11
2017	0,29-0,42	0,120-0,200	0,29-0,55	0,200	0,0-0,080	0-40

Табл. 3. Биологическая эффективность разных норм и способов применения гербицидов в посеве озимой пшеницы

Норма/способ применения гербицида	Снижение численности сорняков в сравнении с контролем, %			Снижение массы сорняков в сравнении с контролем, %		
	2015 г.	2016 г.	2017 г.	2015 г.	2016 г.	2017 г.
Полная	56,0	42,8	60,2	59,3	26,9	83,3
Дифференцированная	47,8	42,4	51,4	58,2	43,0	70,0
Равномерно	52,4	48,6	75,1	61,2	39,0	77,9
Дифференцированно	31,9	31,0	53,7	59,5	32,9	48,2

Табл. 4. Хозяйственная эффективность разных способов гербицидной обработки в посеве озимой пшеницы

Способ гербицидной обработки	Урожайность					
	2015 г.		2016 г.		2017 г.	
	г/м ²	% к контролю	г/м ²	% к контролю	г/м ²	% к контролю
Без гербицида (контроль)	231,6	-	266,6	-	345,8	-
Равномерно	262,8	113	305,9	115	471,8	136
Дифференцированно	251,4	108	310,8	117	430,6	124
HCP ₀₅	14,1		46,1		31,2	

тений на делянках со слабой засоренностью, которые при дифференцированном подходе не подлежали обработке. Статистически значимое превосходство равномерной гербицидной обработки отмечено в 2017 г. В этом году во влажных условиях весенне-летней вегетации озимой пшеницы численность сорных растений на необработываемых слабо засоренных делянках по сравнению с обрабатываемыми возросла к уборке культуры в 1,8 раза, их фитомасса – в 4,4 раза.

Дифференцированное применение гербицида в сравнении с равномерным оказалось менее эффективным с хозяйственной точки зрения. Преимущество равномерного внесения гербицида по величине сохраненного урожая наблюдали в 2015 и 2017 гг., когда оно составило 1,1 (5%) и 4,1 ц/га (12%). Однако статистически значимыми эти различия были только в 2017 г. (табл. 4).

Таким образом, выявлена более высокая биологическая и хозяйственная эффективность равномерного способа применения гербицида в посевах озимой пшеницы в сравнении с дифференцированным. В данном варианте уничтожались сорные растения, в том числе и на делянках со слабой засоренностью, которые при дифференцированном применении гербицида не обрабатывали. В то же время дифференцированное проведение гербицидной обработки способствовало более высокой рентабельности, обусловленной существенным снижением объема применения препарата. При этом дифференцированная на основе измерений вегетационного индекса NDVI норма расхода гербицида была такой же результативной в снижении численности и фитомассы сорных растений, как и полная норма.

Литература

1. Захаренко В.А. Оценка потенциала фитосанитарии в зерновом производстве России // *Защита и карантин растений*. – 2013. – N 10. – С. 3–7.

2. Захаренко В.А. Рынок пестицидов в России и перспективы его развития // *Защита и карантин растений*. – 2014. – N 11. – С. 3–6.

3. Шнаар Д., Сорока С.В., Вартеберг Г. Возможности и проблемы дальнейшей экологизации защиты растений в рамках программы «Precision farming» на примере борьбы с сорняками // *Вестник защиты растений*. – 2001. – N 3. – С. 12–22.

4. Шнаар Д., Веттенберг Г., Даммер К., Захаренко А.В. Научные основы снижения норм гербицидов при использовании технологий дифференцированного прецизионного их внесения развитых стран Европы // *Агро XXI*. – 2003. – Вып. 1–6. – С. 40–43.

5. Nordmeyer H. Patchy weed distribution and site-specific weed control in winter cereals // *Precision Agriculture*. – 2006. – V.7. – P. 219–231.

6. Franco C., Pedersen S.M., Papaharalampos H., Ørum J.E. The value of precision for image-based decision support in weed management // *Precision Agriculture*. – 2017. – V.18. – P. 366–382.

7. Rider T.W., Vogel J.W., Dille J.A., Dhuyvetter K.C., Kastens T.L. An economic evaluation of site-specific herbicide application // *Precision Agriculture*. – 2006. – V. 7. – P. 379–392.

8. Гурьянов А.М., Артемьев А.А. Оценка засоренности агроценозов и эффективность дифференцированного применения гербицидов в севообороте // *Аграрная наука Евро-Северо-Востока*. – 2018. – Т. 66. – N 5. – С. 83–89. DOI: 10.30766/2072-9081.2018.66.5.83-89

9. Полин В.Д., Березовский Е.В., Ларина Н.В. Использование оптических датчиков «GREENSEEKER» при применении гербицида // *Доклады ТСХА*. – 2010. – Вып. 282. – Ч. 1. – С. 310–313.

10. Полин В.Д., Березовский Е.В. Совершенствование методов борьбы с сорняками в системе точного земледелия в новых экологических условиях // *Адаптация сельского хозяйства России к меняющимся погодноклиматическим условиям*. – М., 2011. – С. 131–136.

11. Полин В.Д., Смелкова И.А., Туляков Д.Г. Использование оптических датчиков в борьбе с сорными растениями в системе точного земледелия // *Нивы Зауралья*. – 2013. – N 9. – С. 76–79.

12. Полин В.Д., Смелкова И.А. Изменение сорного компонента под действием ресурсосберегающих систем обработки почвы в зернопропашном севообороте и методы борьбы с ним // *Земледелие*. – 2015. – № 8. – С. 29–32.

13. Шпанев А.М., Петрушин А.Ф. Методологические основы изучения оптических характеристик фитосанитарного состояния посевов // *Агрофизика*. – 2017. – N 4. – С. 48–57.

14. Методические указания по регистрационным испытаниям гербицидов в сельском хозяйстве. – СПб., 2014. – 280 с.

15. Шпанев А.М. Экспериментальная база для дистанционного зондирования фитосанитарного состояния агроэкосистем на Северо-Западе РФ // *Современные проблемы дистанционного зондирования Земли из космоса*. – 2019. – Т. 16. – N 3. – С. 61–68. DOI: 10.21046/2070-7401-2019-16-3-61-68

16. Фесенко М.А., Шпанев А.М. Фотометрическая экспресс-диагностика минерального питания и фитосанитарного состояния посевов зерновых культур // *Агрофизика*. – 2019. – № 2. – С. 54–63. DOI: 10.25695/AGRPH.2019.02.08

Поступила в редакцию 17.02.20
 После доработки 05.03.20
 Принята к публикации 10.03.20

КОНТРОЛЬ СПОРЫНЬИ (*Claviceps purpurea* (FR) TUL.) С ПОМОЩЬЮ НОВЫХ ПЕСТИЦИДОВ

Т.К. Шешегова, доктор биологических наук,
Л.М. Щекленна, кандидат сельскохозяйственных наук

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

Исследования выполнены в Федеральном аграрном научном центре Северо-Востока с 2013 по 2017 и 2019 гг. В модельных экспериментах протестированы 17 химических и биологических препаратов по способности ограничивать прорастание склероций гриба *Claviceps purpurea* Fr. Tul. В парных микробных ассоциациях (*in vitro*) изучена динамика роста мицелия гриба *Spacelia segetum* Lev. Повторность в опытах – 3-кратная, в исследованиях *in vitro* – 4-кратная. Самая высокая биологическая эффективность выявлена у нового фунгицида Турион, концентрат эмульсии, которая в среднем за 3 года составила 90%. Достаточно высокая эффективность (70-80%) отмечена у препаратов Бункер, Дивиденд Стар и Витацит. В этих вариантах сохранившие жизнеспособность склероции сформировали от 2 до 6 стром с плодовыми телами, в контроле – от 3 до 27. Среди биофунгицидов самая высокая эффективность (69%) была у Псевдобактерина. Обнаружено, что у всех препаратов, несмотря на одно действующее вещество, антибиотические свойства существенно различаются, поэтому работа с фунгицидами носит индивидуальный характер. В серии лабораторных экспериментов выявлен заметный и продолжительный антагонизм в биосистеме *Spacelia segetum* – *Streptomyces hygrosopicum*, штамм А-4. Площадь стерильной зоны вокруг *S. hygrosopicum* в среднем по всем изолятам составила 1,95 см². Она сохранялась и после 14 дней инкубирования тест-культуры, что делает данный штамм перспективным для конструирования нового целевого биопрепарата. Слабое ингибирование роста колоний *S. segetum* обнаружено в присутствии гриба *Acremonia occulta* и бактерии *Flavobacterium fulvii*, штамм Л-30.

CONTROL OF ERGOT (*Claviceps purpurea* (FR) TUL.) WITH NEW PESTICIDES

Sheshhegova T.K., Shchekleina L.M.

Federal Agrarian Scientific Center of the North-East named N.V. Rudnitsky,
610007, Kirov, ul. Lenina, 166a
E-mail: immunitet@fanc-sv.ru

The studies were carried out in FASC of the North-East during the period from 2013 to 2017 and in 2019. Seventeen chemical and biological preparations were tested in model experiments on the ability to limit the germination of sclerostia of the fungus *Claviceps purpurea* Fr. Tul. In paired microbial associations (*in vitro*) the dynamics of growth of mycelium of the fungus *Spacelia segetum* Leo has been studied. Repetition in experiments is 3-fold, in *in vitro* studies - 4-fold. The highest biological efficacy was found in the new fungicide Turion, which averaged 90% in 3 years. The preparations Bunker, Dividend Star and Vitazit showed quite high efficiency (70-80%). In these variants, sclerostia which preserved its viability formed from 2 to 6 strum with fruit bodies, in control variant - from 3 up to 27. Among biofungicides, Pseudobacterine had the highest efficacy (69%). All preparations found that despite the same active ingredient, their antibiotic properties were significantly different. Therefore, the work with fungicides is individual. A series of laboratory experiments revealed a marked and prolonged antagonism in the biosystem *Spacelia segetum* - *Streptomyces hygrosopicum*, strain A-4. The sterile area around *S. hygrosopicum* averaged 1.95 cm² for all isolates. It was maintained after 14 days of incubation of the culture test, which makes this strain promising for the construction of a new target biopreparation. Weak inhibition of the growth of *S. segetum* colonies was found in the presence of the fungus *Acremonia occulta* and the bacterium *Flavobacterium fulvii*, strain L-30.

Ключевые слова: спорынья (*Claviceps purpurea*, *Spacelia segetum*), жизнеспособность склероций, биологические и химические препараты, парные микробные ассоциации, биологическая эффективность

Key words: ergot (*Claviceps purpurea*, *Spacelia segetum*), viability of sclerostia, biological and chemical preparations, paired microbial associations, biological efficacy

Спорынья (*Claviceps purpurea* Fr. Tul.) практически повсеместно становится одной из прогрессирующих болезней не только озимой ржи, но и многих зерновых культур [1-7]. Меры борьбы с ней затруднены в связи со сложной биологией возбудителя – гриба *S. purpurea*, который имеет несколько инфекционных структур: зимующие склероции, аскоспоры (споры полового размножения) и конидии (споры бесполого размножения), инфицирующие завязь цветков. Формирующиеся склероции по размеру часто близки к зерновкам растения-хозяина. Поэтому несмотря на достаточно многоступенчатую технологическую схему очистки зерновой массы, освободиться от склероций механической сортировкой не удается, и часть их неизбежно попадает в семенные и продовольственные партии зерна [8], которые становятся одним из важных источников сохранения и

распространения спорыньи. Важный прием борьбы с болезнью – протравливание семенного материала, которое должно подавлять жизнеспособность склероций путем ингибирования формирования и полноценного развития стром, уменьшения числа плодовых тел (перитеций) и сумок с аскоспорами. Однако следует учесть, что протравители не защищают растения от аскоспор, летящих с перезимовавших и проросших склероций, и конидий, образующихся в зараженных завязях.

В отечественной и зарубежной литературе имеются многочисленные данные об исследованиях биологической эффективности вновь регистрируемых фунгицидов. Так, немецкий ученый К. Frauenstein [9] установил высокую эффективность препарата Байтан-универсал, который подавлял прорастание склероций на 94,4%. В Литве З.В. Дабкявичюс [10] отметил эффективность

фунгицидов Фундазол, ТМТД, Фентиурам и Гранозан. В Белоруссии А. И. Немкович [11] и С. Ф. Буга [12] получили хорошие результаты при использовании комбинированных протравителей Суми 8, Паноктин, Максим и Витавакс 200. Для подавления развития конидиальной стадии гриба они проводили фунгицидные обработки растений озимой ржи в период колошения – цветения препаратами Тилт, Альто супер и Фоликур, что снижало пораженность посевов на 32-49%. В исследованиях А. З. Хазиева [13] в защите от спорыньи эффективным был биопрепарат Экстрасол.

В настоящее время в Списке пестицидов и агрохимикатов, разрешенных к применению на территории Российской Федерации [14], зарегистрировано всего 5 фунгицидов (Дивидент Стар, Терция, Примэкс, Кинто Дуо и Винцит Форте), используемых для протравливания семенного материала от спорыньи. По нашему мнению, в интегрированной защите зерновых культур от этой опасной болезни вопросы эффективности химических мер борьбы пока мало изучены. Актуальность этих исследований вызвана также увеличением количества регистрируемых пестицидов и агрохимикатов, которые могут быть перспективными и в защите от спорыньи. Следует учитывать также, что обработка открыто цветущих зерновых культур химическими препаратами может вызвать ожог завязей. Поэтому для обработки таких растений нужны препараты щадящего действия, в качестве которых можно использовать различные био-препараты.

Целью настоящей работы был поиск новых препаратов, эффективных в защите от склероциальной и конидиальной стадии гриба *S. purpurea*.

Методика. Исследования выполняли на экспериментальной базе Федерального аграрного научного центра (ФАНЦ) Северо-Востока в 2013-2017 и 2019 гг. Изучали химические фунгициды: Винцит, концентрат суспензии – КС (флутриафол), Витацит, КС (тиабендазол + флутриафол), Турион, концентрат эмульсии – КЭ (триконазол + имазалил + прохлораз), Алькасар, КС (дифеноконазол + ципроконазол), Виал Траст, водно-суспензионный концентрат – ВСК (тиабендазол + тебуконазол), Бункер, ВСК и Редут, КС (тебуконазол), Дивидент Стар, КС (дифеноконазол + ципроконазол) и Фундазол, смачивающийся порошок – СП (беномил); био-препараты: Алирин Б, таблетки – ТАБ (*Bacillus subtilis*, штамм М-10 ВНИИ защиты растений), Гамаир, ТАБ (*Bacillus subtilis*, штамм М-22), Глиокладин, ТАБ (*Trichoderma harzianum*, штамм 18), Трихофлор, СП (штаммы *Trichoderma viride*), Азолен, жидкость – Ж (*Azotobacter vinelandii*, штамм ИБ-4), Ризоагрин, Ж (*Agrobacterium radiobacter*, штамм 204), Флавобактерин, Ж (штаммы *Flavobacterium sp.*) и Псевдобактерин, СП (*Pseudomonas aureofaciens*, штамм BS 1393).

Этими препаратами в соответствии с регламентацией дозой в начале октября обрабатывали склероции, которые затем помещали в небольшие вазоны с дерново-подзолистой среднесуглинистой почвой на глубину 2-4 см и оставляли в естественных условиях зимовки. В начале июня следующего года их извлекали и анализировали жизнеспособность по прорастанию склероций и количеству образовавшихся стром с плодовыми телами. Препаратами обрабатывали по 10-12 склероций, одинаковых по форме и крупности, в 3 повторениях. Каждый препарат изучали в течение 2-4 лет. Достоверность показателя «прорастание» оценивали с помощью дисперсионного анализа по Б. А. Доспехову (1985).

С целью поиска перспективных биоагентов при конструировании специализированных препаратов для

защиты от конидиальной стадии спорыньи, имеющей самостоятельное название *Spacelia segetum*, проводили исследования *in vitro*. В парных микробных ассоциациях (*S. segetum* – *Alternaria tenuis* Nees., *S. segetum* – *Culvularia geniculata* Boed., *S. segetum* – *Acremonia occulta* Cav., *S. segetum* – *Fusarium culmorum* (W.G. Sm.), *S. segetum* – *Bipolaris sorokiniana* (Sacc.), *S. segetum* – *Streptomyces hygroscopicus*, штамм А-4, *S. segetum* – *Flavobacterium fulvii*, штамм Л-30) анализировали динамику развития чистой культуры *S. segetum*. Используемые в работе изоляты грибов брали из рабочей коллекции лаборатории иммунитета и защиты растений ФАНЦ Северо-Востока, культура *Streptomyces hygroscopicus*, штамм А-4 предоставлена сотрудникам лаборатории биотехнологии микроорганизмов и растений ФАНЦ Северо-Востока, а бактериальный штамм Л-30 *Flavobacterium fulvii* получен из лаборатории биотехнологии филиала Россельхозцентр по Кировской области. В 4-дневную культуру *S. segetum*, культивируемую на картофельно-глюкозном агаре, по периферии чашки Петри в 3-4 местах всевали соответствующий микроорганизм. В таком виде чашки находились в термостате при температуре 25-27 °С. На 7-й день эксперимента проводили замеры стерильной зоны вокруг внесенной культуры и зоны нарастания одного мицелия на другой. Повторность в опытах *in vitro* – 4-кратная. Эксперименты дублировали по 2-3 раза.

Результаты и обсуждение. В ходе многолетних исследований самая высокая биологическая эффективность выявлена у нового 3-компонентного фунгицида Турион – 90% (табл. 1). Существенно меньше, чем в контроле, количество проросших склероций отмечали при протравливании их препаратами Бункер, Витацит и Дивидент Стар, биологическая эффективность которых составила 70-80%. При этом количество стром с плодовыми телами было минимальным для опыта и не превышало 6 шт.

Половина склероций, обработанных препаратами Фундазол, Алькасар и Редут, сохранила жизнеспособность и проросла. Количество сформировавшихся стром достигало 16 шт. Наименьшая эффективность по способности ингибировать прорастание гриба *S. purpurea*

Табл. 1. Биологическая эффективность химических фунгицидов в защите от спорыньи

Фунгицид	Анализ склероций			Биологическая эффективность, %
	прорастание, %	количество стром на одном склероции, шт.		
		лимит признака	в среднем	
Контроль – без обработки	100	3-27	14,2	-
Винцит – эталон	60	0-30	18,5	40
Турион	10*	0-2	1,5	90
Бункер	20*	0-6	3,5	80
Витацит	30*	0-4	2,0	70
Дивидент Стар	30*	0-5	2,0	70
Фундазол	50	0-16	5,5	50
Алькасар	50	0-13	7,0	50
Редут	50	0-14	8,0	50
Виал Траст	58	0-23	15,0	42

*Достоверно к контролю при $P \geq 0,95$.

Табл. 2. Эффективность биологических препаратов по отношению к склероциальной стадии гриба *Claviceps purpurea*

Препарат	Прорастание, %	Количество стром на одном склероции, шт.		Биологическая эффективность, %
		лимит признака	в среднем	
Контроль – без обработки	100	5-48	20,7	-
Винцит – эталон	54	0-22	10,0	46
Псевдобактерин	31*	0-5	2,0	69
Алирин Б	42	0-2	1,5	58
Флавобактерин	45	0-5	2,0	55
Ризоагрин	44	0-8	5,5	56
Трихофлор	50	0-12	4,0	50
Глиокладин	50	0-10	4,0	50
Азолен	50	0-20	5,5	50
Гамаир	74	0-15	9,0	26

* Достоверно к контролю при $P \geq 0,95$.

Табл. 3. Рост культуры *Spacelia segetum* в парных микробных ассоциациях

Микробные ассоциации	Площадь стерильной зоны, см ²	Стерильная зона на 14-й день
<i>Spacelia segetum</i> – <i>Alternaria tenuis</i>	0	-
<i>Spacelia segetum</i> – <i>Culvularia geniculata</i>	0	-
<i>Spacelia segetum</i> – <i>Fusarium culmorum</i>	0	-
<i>Spacelia segetum</i> – <i>Bipolaris sorokiniana</i>	0	-
<i>Spacelia segetum</i> – <i>Flavobacterium fulvii</i>	0,35	Нет
<i>Spacelia segetum</i> – <i>Acremonia occulta</i>	0,55	Сохраняется
<i>Spacelia segetum</i> – <i>Streptomyces hygroscopicum</i>	1,95	Сохраняется

выявлена у двух фунгицидов: Винцит и Виал Траст: обработанные склероции проросли соответственно на 58 и 70%. На некоторых из них сформировалось до 30 стром с перитециями. Поэтому даже лизис отдельных склероций может компенсировать высокую инфекционную нагрузку аскоспор за счет формирования большого количества плодовых тел на других.

Оценивая изучаемые фунгициды по биоцидной эффективности действующих веществ, можно отметить избирательное действие их на жизнеспособность склероций гриба *C. purpurea*. Несмотря на одно и то же действующее вещество, антибиотические и ингибирующие свойства препаратов существенно различались. Поэтому работа с фунгицидами носит индивидуальный характер и при выборе препаратов следует ориентироваться прежде всего на торговую марку, избегая контрафактной продукции.

Для снижения экологической опасности, обоснования экономической и фитосанитарной целесообразности применения препаратов объектом дальнейших исследований были новые биологические фунгициды и регуляторы роста растений с определенным уровнем антифунгальных свойств. Среди них биофунгицид Псевдобактерин существенно подавлял жизнеспособность

склероций *C. purpurea*. Их прорастание в среднем за 3 года было на уровне 31% при относительно небольшом количестве стром с плодовыми телами – не более 5. Его биологическая эффективность в среднем за годы исследований составила 69%, что на уровне химических фунгицидов Витацит и Дивидент Стар (табл. 2). У других препаратов целевой биоконтроль был практически на одном уровне – 50-58%. Из этой тенденции следует исключить препарат Гамаир с относительно низкими антибиотическими свойствами. Его эффективность в среднем за 3 года составила 26%. Таким образом, как и в отношении химических фунгицидов, подтвердилась избирательность биологических фунгицидов в биоконтроле спорыньи. Препараты Алирин Б и Гамаир, действующим веществом которых служат разные штаммы природной бактерии *Bacillus subtilis*, проявили неоднозначную способность в подавлении жизнеспособности склероций.

Следует отметить, что протравливание семян не всегда эффективно, так как доля склероций в семенном материале невелика. Кроме того, распространение спорыньи усиливается за счет вторичной инфекции – конидий *S. segetum*, обилие которых наблюдается к началу формирования зерна. По отношению к этому виду инфекции защитные мероприятия отсутствуют. Можно лишь регулировать норму высева, так как в загущенных посевах вследствие контакта здоровых и пораженных колосьев распространение спорыньи увеличивается, а также ограничивать (инсектицидами) количество насекомых, питающихся «медвяной росой» и являющихся переносчиками конидий. Для их контроля необходима обработка посевов в период вегетации препаратами щадящего действия на основе антибиотических веществ растительного или микробного происхождения.

В парных микробных ассоциациях (*in vitro*) мы протестировали характер взаимоотношений культуры *S. segetum* с несколькими видами микромицетов. В серии лабораторных экспериментов выявлен заметный и продолжительный антагонизм в биосистеме *S. segetum* – *S. hygroscopicum*, штамм А-4 (табл. 3). На 7-е сутки площадь радиальной стерильной зоны возле биоагента *S. hygroscopicum* в среднем по всем изолятам составила 1,95 см². Она сохранялась и после 14 дней инкубирования тест-культуры.

Слабое ингибирование роста колоний *S. segetum* обнаружено в присутствии сапротрофного гриба *A. occulta* и бактерии *F. fulvii*, штамм Л-30. Стерильная зона в этих ассоциациях была в среднем соответственно 0,35 и 0,55 см². При этом антагонизм в биосистеме *S. segetum* – *F. fulvii* оказался менее продолжительным: на 12-е сутки на культуру *F. fulvii* интенсивно нарастал мицелий *S. segetum*. Другие тестируемые микроорганизмы, вероятно, не имели специфичных антагонистических свойств и не ограничивали рост культуры *S. segetum*.

Таким образом, химические препараты Турион, Бункер, Витацит, Дивидент Стар и биологический биофунгицид Псевдобактерин можно использовать в контроле спорыньи зерновых культур при предпосевной обработке семенного материала. Перспективным биоагентом при конструировании целевых биопрепаратов для защиты вегетирующих растений от аскоспор и конидий может быть штамм А-4 *Streptomyces hygroscopicum*.

Литература.

1. Шешегова Т.К., Щеклеина Л.М., Желифонова В.П., Антипова Т.В., Баскунов Б.П., Козловский А.Г. Устойчивость сортов ржи к спорынье и содержание эргоалколоидов в склероциях *Claviceps purpurea* в условиях Кировской области // Микология и фитопатология.

- 2019. – Т. 53. – N 3. – С. 177-182. DOI: 10.1134/S0026364819030127.
2. Рукиан Л.В. Спорынья и рожь – факты и перспективы. [Электронный ресурс]. URL: www.rusnauka.com/23_WP_2009/Agricole/51109.doc.htm (дата обращения 18.12.2019).
 3. Труфанов О., Лохов В., Родригес И. Алкалоиды спорыньи: современное состояние проблемы и методы профилактики отравлений // Эксклюзивные технологии. – 2009. – N 6. – С. 50-55. [Электронный ресурс]. URL: www.ergotism.info/ru/2009_trufanov_ergot_alkaloids.pdf (дата обращения 05.08.2019).
 4. Pazoutova S., Olsovska J., Linka M., Kolinska R, Fliieger M. Chemoraces, and habitatu specialization of *Claviceps purpurea* populations // *Appl. Environ. Microbiol.* – V. 66. – 2000. – P. 5419-5425.
 5. Miedaner Tr., Geiger H.H. Biology, Genetics and Manogement of Ergot (*Claviceps spp.*) in Rye, Sorghum and Pearl Mille // *Toxins.* – 2015. – V. 7. – P. 659-778.
 6. Dusemund B., Altmann H., Jampen A. Mutterkornalkaloide in lebensmitteln: Toxikologische Bewertung: Mutterkorn – alkaloig – kontaminierter roggemehl // *J. Verbraucherschutz Lebensmittelsicherheit.* – 2006. – N 1. – P. 150-152.
 7. Miedaner T., Mirdita V., Geiger H.H. STRATEGIES IN BREEDING FOR ERGOT (*CLAVICEPS PURPUREA*) RESISTANCE. *Book of Abstracts: International Symposium on Rye Breeding & Genetics Minsk, Belarus.* – 2010. – 83 p.
 8. *Theoretical Background of Calculating of the Parameters of the Device for Grain Cleaning from Ergot Sclerotia* / V.A. Sysuev, V.E. Saitov, V.G. Farafonov, A.N. Suvorov, A.V. Saitov // *Russian Agricultural Sciences.* – 2017. – V. 43 – N. 3 – P. 273-276.
 9. Frauenstein K. Bedeutung der Fruchtfolge für den Mutterkornbefall des Roggens // *Taf. – Ber. / Akad. Landwirtschaft / Wiss. DDR. Berlin.* – 1988. – N 621. – S. 271-273.
 10. Дабьявичюс З.В. Биология спорыньи злаковых трав и меры борьбы / Сб. трудов Литовского НИИ земледелия. – 1984. – N 53. – С. 85-92.
 11. Немкович А.И. Как защитит посеы озимой ржи от спорыньи? // *Ахова раслін.* – 1999. – N 2. – С. 22.
 12. Буга С.Ф. Ретроспективный анализ эффективности протравителей семян озимых зерновых культур, используемых в Республике Беларусь. // *Ахова раслін.* – 2002. – N 4. – С 17-20.
 13. Хазиев А.З. Влияние протравливания семян на зараженность спорыньей озимых культур // *Научные основы технологий производства сельскохозяйственной продукции: материалы республиканской научно-практической конференции молодых ученых.* – Казань. – 2008. – С. 52-58.
 14. Государственный каталог пестицидов и агрохимикатов, разрешенных к применению на территории Российской Федерации. Часть 1. Пестициды. Москва: Министерство сельского хозяйства Российской Федерации. – 2019. – 960 с. [Электронный ресурс]. URL: <http://www.gumat.ru/news/vyshla novaya redaktsiya gosudarstvennogo kataloga pestitsidov i agrokhimikatov-2018.html> (дата обращения 29.10.2019).

Поступила в редакцию 24.02.20
 После доработки 15.03.20
 Принята к публикации 30.03.20

Почвоведение

УДК 631.81: 631.87

DOI:10.31857/S2500262720040080

ВЛИЯНИЕ БИОМАССЫ РАСТЕНИЙ НА АЗОТНЫЙ РЕЖИМ СЕРОЙ ЛЕСНОЙ ПОЧВЫ И ПРОДУКТИВНОСТЬ ПОЛЕВЫХ КУЛЬТУР**Г.П. Гамзиков**, академик РАН,
С.З. Сулейменов, кандидат сельскохозяйственных наук*Новосибирский государственный аграрный университет,
630039, Новосибирск-39, ул. Добролюбова, 160
E-mail: gamolgen@rambler.ru*

Активное применение растительной биомассы (послеуборочные и пожнивные остатки, сидераты и др.) в сибирском земледелии отчасти способствует пополнению элементов минерального питания для получения урожая полевых культур, а также поддержания плодородия почв. На серой лесной почве проведена сравнительная оценка кинетических параметров минерализации навоза, сидератов (донник, рапс, озимая рожь) и соломы в паровом поле и их влияния на продуктивность кормовых культур в действии и последействии. Наблюдения за процессами минерализации азотистых веществ органических удобрений показали, что наибольшей азотминерализующей способностью обладают навоз и биомасса высокобелковых культур (рапс, донник) и меньшей – с повышенным содержанием углерода (озимая рожь, солома). По данным трехлетних наблюдений за режимом подвижных форм минерального азота в серой лесной почве, в процессе парования и под культурами преобладает нитратная форма азота, которая и служит основным источником для питания растений. Результаты комплексного учета урожая за год действия и двух лет последействия позволили установить практически одинаковое влияние всех видов органической биомассы на суммарный урожай в звене севооборота. Исключение составила биомасса пшеничной соломы, в которой за год парования и три сезона под культурами не закончились процессы разложения биомассы при взаимодействии с почвой.

INFLUENCE OF PLANT BIOMASS ON NITROGEN SOIL MODE AND PRODUCTIVITY OF FIELD CROPS**Gamzikov G.P., Suleimenov S.Z.***Novosibirsk State Agrarian University,
630039, Novosibirsk-39, ul. Dobrolyubova, 160
E-mail: gamolgen@rambler.ru*

The active use of plant biomass (post-harvest and crop residues, green manure, etc.) in Siberian agriculture partly contributes to the replenishment of mineral nutrition elements to obtain field crop yield, as well as maintaining soil fertility. In the gray forest soil, a comparative assessment of the kinetic parameters of the mineralization of manure, green manure (sweet clover, rapeseed, winter rye) and straw in the steam field and their effect on the productivity of forage crops in action and aftereffect was carried out. Observations of the mineralization processes of nitrogenous substances of organic fertilizers showed that manure and biomass of high-protein crops (rapeseed, sweet clover) and the lowest with a high content of carbon (winter rye, straw) possess the highest nitrogen-non-irradiating ability. Three-year observations of the regime of mobile forms of mineral nitrogen in gray forest soil showed that in the process of steaming and under crops the nitrate form of nitrogen prevails, which serves as the main source of nutrition for plants. The results of comprehensive crop accounting for the year of operation and two years of aftereffect allowed us to establish almost the same effect of all types of organic biomass on the total yield in the crop rotation link. The only exception was the biomass of wheat straw, in which, over a year of steaming and three seasons under crops, biodegradation processes did not end when interacting with the soil.

Ключевые слова: растительная биомасса, азотминерализация, нитрификация, режимы азотистых соединений, обменный аммоний, нитратный азот, органические удобрения, влияние на урожай, эффективность биомассы

Key words: plant biomass, nitrogen mineralization, nitrification, modes of nitrogen compounds, exchange ammonium, nitrate nitrogen, organic fertilizers, effect on yield, biomass efficiency

Современное сибирское земледелие в связи с непомерно завышенными и нерегулируемыми государством ценами на промышленные удобрения базируется в основном на использовании почвенных природных ресурсов азота и других элементов минерального питания. Наиболее распространенным агротехническим приемом среди фермерских хозяйств (и не только) служит парование почв в течение лета с целью разложения органических остатков и накопления минерального азота для последующих культур севооборота. Системное отчуждение питательных веществ из почвы без применения удобрений ведет к дефициту баланса их в агроценозах, потере плодородия почв и, как правило, к снижению урожайности и эффективности сельскохозяйственного производства в целом [1, 2].

Совершенствование технологий возделывания стародавних зерновых и кормовых культур, рациональное использование пласта многолетних трав, сидеральных (клевер, донник, озимая рожь, однолетние бобовые) и мало распространенных полевых культур (рапс, соя), а также недавно широко освоенный прием – разбрасывание и заделка на полях соломы и других растительных послеуборочных остатков (подсолнечник, корнеплодные) способствуют значительному пополнению органического вещества в почвах. Несомненно, что эти биологические источники даже при массовом освоении в производстве не заменят промышленные удобрения, но существенно снизят дефицит элементов минерального питания и прежде всего азота, а также частично обеспечат поддержание гумусного состояния

почв в сибирских агроценозах. Исследования ученых аграрников [3-7] подтверждают возможности использования органического вещества сидеральных и пожнивных культур, соломы, послеуборочных остатков, природных агресурсов (торф, сапропель и др.), а также промышленных биологических отходов для поддержания плодородия почв и получения устойчивых урожаев полевых культур.

Цель настоящей работы состояла в оценке влияния растительной биомассы на азотный режим серой лесной почвы и продуктивность полевых культур в звене севооборота.

Методика. Экспериментальная работа выполнена на опытном поле Новосибирского государственного аграрного университета (НГАУ), расположенном в северной лесостепи Новосибирского Приобья. Исследования проводили на типичной зональной серой лесной среднесуглинистой почве. Агрохимическая характеристика пахотного слоя почвы: рН 6,3, содержание гумуса – 4,7%, общего азота – 0,192%, нитратного – 6,7 мг/кг, обменного аммонийного – 1,2 мг/кг, подвижных (по Чирикову) фосфора – 98-128 мг/кг и калия – 62-64 мг/кг.

Наблюдения за азотным режимом почвы проводили в полевых мелкоделяночных опытах при паровании и под растениями в течение трех лет. Отзывчивость кормовых культур на внесение органической биомассы учитывали в звене севооборота: рапс – овес – просо. Схема опыта: 1 – контроль (без удобрений), 2 – навоз, 3 – биомасса донника, 4 – биомасса рапса, 5 – биомасса озимой ржи, 6 – солома пшеничная. Норма внесения биомассы растений и навоза выравнивали по содержанию в них азота (из расчета 90 кг/га). Воздушно-сухую массу органических удобрений вносили в размолотом виде в пахотный слой почвы (0-20 см).

Полевой опыт закладывали в соответствии с общепринятой методикой [7]. Площадь делянки составляла 1 м², повторность – 7-кратная, размещение делянок рендомизированное. Для равномерного контакта энергетического материала пахотный слой почвы аккуратно вынимали и помещали на полиэтиленовую пленку, в него вносили при перемешивании органические удобрения, а затем почву возвращали на прежнее место. При этом каждая делянка с боков на глубину 0-20 см ограничивалась полиэтиленовой пленкой. После закладки опыта почву в течение 2 месяцев паровали, затем половину делянок засеивали рапсом яровым на зеленую массу, другую половину продолжали паровать. В последующие два года в опыте учитывали последствие органических удобрений, высевая овес и просо. Учет урожая зеленой массы культур в действии и последствии проводили вручную сплошным методом, у рапса – в фазе полного цветения, овса и проса – в фазе молочной спелости. Почвенные образцы с делянок отбирали через каждые 15 дней на глубину 0-20 см и через каждые 30 дней – дополнительно на глубину 20-40 см. В свежих образцах определяли подвижный минеральный азот (N-NO₃, N-NH₄).

Погодные условия в годы проведения опытов различались, но в целом были характерными для исследуемой территории [8]. Агрохимические анализы почв и растений проведены в лаборатории Современных проблем экспериментальной агрохимии НГАУ – испытательном центре по агрохимии (аккредитация Госстандартом России №РОСС RU.0001.514898) общепринятыми методами [9]. Результаты исследований статистически обработаны с помощью компьютерной программы SNEDECOR общепринятыми методами.

Результаты и обсуждение. Наблюдения за азотным режимом серой лесной почвы под полевыми культурами в звене севооборота (рапс – овес – просо) подтверждают ранее выявленные закономерности динамики содержания подвижных форм минерального азота в почвах региона [5, 10, 11]. Количество аммонийного азота во все годы опытов перед посевом культур не превышало 3-4 мг/кг (табл. 1). Практически на таком же низком уровне оставалось накопление обменного аммония в почве в течение вегетации растений и мало зависело от слоя отбора образцов – в пахотном и подпахотном. Динамика содержания N-NH₄ в серой лесной почве во всех вариантах была однотипной: низкое содержание при отсутствии заметных различий по вариантам. Несомненно, что при минерализации происходит постоянное пополнение ресурса аммонийного азота в почве, однако одновременное наложение на него процессов иммобилизации в биомассу микроорганизмов и нитрификации до N-NO₃ сглаживает картину результативности аммонификации биомассы.

Табл. 1. Динамика содержания (мг/кг) обменного аммонийного азота в серой лесной почве в звене кормового севооборота при внесении органических удобрений

Вариант	Рапс					Овес			Просо
	посев	15*	30	45	уборка	посев	30	уборка	
Контроль	2,0	2,1	1,4	2,1	4,2	2,0	2,0	2,2	1,7
	1,6				2,5				1,2
Навоз	1,9	2,0	2,1	1,9	2,6	2,0	2,3	2,7	1,9
	1,4				1,8				1,4
Донник	1,9	2,3	2,0	1,9	2,2	2,4	2,6	3,1	2,3
	1,4				2,1				1,6
Рапс	2,2	3,7	1,7	2,1	2,2	2,1	3,6	3,6	2,2
	1,6				1,8				1,5
Озимая рожь	2,2	2,2	1,6	2,0	1,9	2,8	2,3	3,4	2,1
	1,4				1,5				1,1
Солома	2,2	2,2	1,4	2,0	2,5	2,3	2,1	3,1	2,4
	2,1				2,8				1,8

Примечание. Над чертой – в слое 0-20 см, под чертой – 0-40.
*Дни от посева.

Длительными исследованиями доказано, что в сибирских условиях нитратный азот в почвах, являясь более мобильной формой в сравнении с аммонием, служит достаточно объективным показателем обеспеченности растений доступным азотом [5, 12]. Наблюдения за режимом нитратов в почве опытов подтвердили преимущество парового поля в накоплении доступной формы азота для полевых культур (табл. 2). При внесении органического вещества донника, рапса и навоза за период парования к посеву рапса накопилось высокое (>20 мг/кг) количество N-NO₃. Следует отметить, что темпы накопления нитратов в варианте с соломой и озимой рожью были на уровне контроля (средняя обеспеченность). Следовательно, 60-дневное парование почвы оказалось недостаточным сроком для разложения азотсодержащих органических соединений этих удобрений. В первые 2 недели, пока интенсивность потребления азота растениями незначительная, поддерживался практически такой же уровень его содержания, что и при

посеве. В период активного нарастания биомассы рапса (30–45 дней после посева) в связи с активным потреблением отмечено резкое снижение запасов доступного азота. Отсутствие нитратов под вегетирующими растениями свидетельствует о полном использовании азота текущей нитрификации.

На следующий год к посеву 2-й культуры (овес) после пара в почве всех вариантов содержалось очень низкое количество нитратов – 6–8 мг/кг в пахотном слое, в контроле и варианте с соломой – не выше 3 мг/кг. В последующем доля доступного азота снижалась до нулевых значений, поскольку вновь минерализуемый азот транзитно потреблялся растениями. Достоверных различий по вариантам опыта практически не было.

В 3-ем поле перед посевом проса в почве содержалось также крайне мало доступных соединений азота (менее 4 мг/кг N-NO₃). За первые 2 недели при слабом выносе азота молодыми растениями в почве происходило заметное накопление нитратов за счет текущей нитрификации в вариантах с удобрением. Важно отметить, что впервые за 3 года при внесении соломы накопление нитратного азота превысило контроль и приблизилось к уровню в других вариантах с органическими удобрениями. Дальнейший рост и развитие растений проса привели к быстрому и полному использованию азота из почвы. Следовательно, урожай полевых культур в процессе их вегетации, особенно во второй половине, формировался в основном за счет азота текущей нитрификации. Ранее, рассматривая динамику накопления нитратного азота при компостировании в лабораторных и при паровании в полевых условиях, мы отмечали, что для минерализации соломы в отличие от других органических удобрений требуется более длительное время [5, 13]. Таковую же кинетику разложения соломы наблюдали в настоящих опытах.

Табл. 2. Динамика содержания (мг/кг) нитратного азота в серой лесной почве в звене кормового севооборота при внесении органических удобрений

Вариант	Срок отбора образцов, дни				
	посев	15	30	45	уборка
Рапс по пару					
Контроль	14,7/8,4	12,7	13,5	Следы	сл./сл.
Навоз	19,5/13,4	13,8	9,1	«	сл./сл.
Донник	22,6/14,8	17,0	14,5	«	сл./сл.
Рапс	21,8/15,0	22,5	21,1	«	сл./сл.
Озимая рожь	15,0/8,7	16,6	12,2	«	сл./сл.
Солома	14,2/8,6	16,9	11,0	«	сл./сл.
Овес					
Контроль	3,1/1,9	2,2	сл./сл.	Следы	сл./сл.
Навоз	5,8/6,6	3,5	сл./сл.	«	сл./сл.
Донник	8,2/6,9	5,8	сл./1,0	«	сл./сл.
Рапс	7,7/5,6	4,5	сл./сл.	«	сл./сл.
Озимая рожь	6,3/4,2	4,2	сл./1,5	«	сл./сл.
Солома	2,9/1,6	2,1	сл./сл.	«	сл./сл.
Просо					
Контроль	сл./1,2	6,6/8,4	сл./сл.	сл./сл.	сл./сл.
Навоз	сл./1,2	9,7/6,7	сл./сл.	сл./сл.	сл./сл.
Донник	3,4/1,7	10,2/8,0	сл./сл.	сл./сл.	сл./сл.
Рапс	3,5/1,8	13,6/11,0	сл./сл.	сл./сл.	сл./сл.
Озимая рожь	3,0/1,5	9,7/5,8	сл./сл.	сл./сл.	сл./сл.
Солома	4,9/4,2	13,4/9,2	сл./сл.	сл./сл.	сл./сл.

Примечание. В слое 0-20 см/в слое 0-40 см.

Таким образом, наблюдения за режимом минеральных соединений почвенного азота свидетельствуют, что независимо от внесения органических удобрений, во второй половине вегетации под посевами полевых культур отсутствуют «свободные» нитраты, поскольку весь минерализованный азот быстро и полностью усваивается растениями.

Ежегодные учеты урожая зеленой биомассы растений показывают четкую его зависимость от особенностей минерализации каждого вида органического вещества, внесенного в паровом поле (табл. 3). Под 1-й культурой после частичной минерализации навоза, биомассы донника и рапса при паровании проявилось достаточно хорошее влияние продуктов их разложения на урожайность рапса – прибавка сбора зеленой массы составила 13-17% к контролю. Внесение биомассы озимой ржи достоверно не влияло на урожайность культуры, солома действовала отрицательно на формирование продуктивности рапса, что связано прежде всего с нарушением соотношения C:N. Преобладание иммобилизационных процессов над минерализационными отрицательно сказалось на накоплении доступного азота и закреплении минерального азота почвой.

На 2-й культуре (овес) проявилось высокое последствие навоза (прибавка к контролю составила 38%) и биомассы донника (26%) при существенно меньшем повышении урожая при внесении рапса и озимой ржи (11-12%). В варианте с соломой в 1-й год последствие впервые наблюдали положительную достоверную тенденцию к увеличению урожая зеленой массы овса за счет изменения направленности и интенсивности иммобилизационных (снижение) и минерализационных (повышение) процессов в почве.

Последствие органических удобрений на 3-й год после применения было неоднозначным. От навоза получена наименьшая прибавка урожая, стабильно высокой она оказалась в варианте с донником и возросла в 3 раза по сравнению с предыдущим годом при внесении биомассы рапса. В последствии 2-го года особенно эффективными были варианты с рожью и соломой (прибавка составила соответственно 47 и 73%). Вероятно, в почве при добавлении биомассы озимой ржи на 2-й и соломы на 3-й год происходит смена иммобили-

Табл. 3. Урожайность зеленой массы полевых культур в звене кормового севооборота при внесении органических удобрений

Вариант	Рапс			Овес			Просо		
	1	2	3	1	2	3	1	2	3
Контроль	1870	-	-	990	-	-	1345	-	-
Навоз	2187	317	17	1367	377	38	1540	195	14
Донник	2143	273	15	1250	260	26	1660	315	23
Рапс	2122	252	13	1103	113	11	1800	455	34
Озимая рожь	1850	-20	-1	1107	117	12	1973	627	47
Солома	1100	-770	-41	1060	70	7	2333	988	73
NCP ₀₅ , г/м ²	-	97	-	-	88	-	-	121	-

Примечание. 1 – урожай зеленой массы, г/м²; 2 – прибавка к контролю, г/м², 3 – %.

зационных процессов на минерализационные, что приводит к повышению накопления нитратов и, как следствие, урожайности зеленой массы проса. Внесение соломы и других органических удобрений с высоким отношением углерода к азоту способствует длительной задержке процессов минерализации их биомассы и в результате – снижению их эффективности, даже после парования.

По данным полевых опытов, за 3 года суммарный урожай кормовых культур оказался практически одинаковым во всех вариантах – на 20-22% выше контроля (табл. 4). Сходная суммарная продуктивность при внесении навоза, биомассы донника, рапса, озимой ржи, несмотря на разный уровень прибавок в действии и последствии, обусловлена близким уровнем суммарной азотомобилизующей способности органических удобрений, примененных в разных дозах органического вещества, но содержащих одинаковую норму азота (90 кг/га N). Исключение составил вариант с соломой, в котором трех лет оказалось недостаточно для минерализации азотистых соединений и реминерализации иммобилизованного почвенного азота, о чем свидетельствуют данные по суммарной продуктивности и выносу азота. Возможно, последствие соломы не ограничится тремя годами и будет продолжаться.

Серая лесная почва обладает высоким естественным потенциалом азотомобилизации (до 75 мг/кг при 60-суточном компостировании в оптимальных условиях) и в полевых условиях, как в контроле, так и при внесении удобрений реализует его только четвертую часть от возможного [14]. Эффективным средством регулирования азотомобилизации может служить органическое вещество навоза и сидератов (донник, рапс, озимая рожь), которые в 1,4-1,9 раза увеличивают содержание нитратного азота под полевыми культурами. Навоз, биомасса донника и рапса (C:N=16-19) при 60-суточном паровании накапливали нитратного азота на 30-50% больше, чем в контроле, и этого азота достаточно для получения значительной прибавки урожая зеленой массы рапса (до 13-17%).

Известно, что высвобождение азота при разложении органического вещества имеет пролонгированный характер и зависит от отношения углерода к азоту [15]. Наблюдения за режимом разложения биомассы озимой ржи (C:N=38) и пшеничной соломы (C:N=85) показали, что год парования и год под культурой не влияли на содержание нитратов в почве. Заметный прирост

N-NO₃ к контролю в варианте с рожью отмечен лишь на 2-й год (перед посевом овса), а в варианте с соломой – на 3-год (перед посевом проса).

Таким образом, ежегодное образование нитратного азота за счет текущей минерализации органического вещества в паровом поле и под растениями служит основным резервом для формирования урожая возделываемых культур. Это подтверждается тесной корреляционной связью исходного содержания нитратного азота в слоях 0-20 и 0-40 см перед посевом культур и урожайностью зеленой массы в действии (0,91±0,09) и последствии (r=0,73±0,15).

При возделывании 1-й культуры после пара в варианте с озимой рожью прибавки не было, с соломой – урожай рапса в результате иммобилизации снизился на 71%. На 2-й год опыта в варианте с рожью получена существенная прибавка урожая зеленой массы овса, с соломой – разница с контролем отсутствовала. И лишь на 3-й год от внесения соломы отмечена ощутимая прибавка урожая зеленой массы проса (73%). Следовательно, внесение в почву навоза и заделка биомассы сидеральных культур (донник, рапс, озимая рожь) в паровое поле целесообразно проводить осенью или весной, что позволит накопить достаточное количество нитратного азота в пару за счет текущей минерализации для последующих культур. Применение соломы без азотных удобрений возможно только в паровое поле при осенней или ранневесенней заделке.

В полевых условиях потенциальные возможности азотомобилизующей способности серой лесной почвы реализуются в паровом поле, составляя около 15-18 мг/кг подвижного минерального азота. Этого количества азота обычно достаточно для получения хорошего урожая только 1-й культуры по пару. Органическая биомасса донника, рапса, озимой ржи положительно влияет на биологическую активность серой лесной почвы, усиливает минерализационные процессы, что способствует накоплению минерального подвижного азота. Под их влиянием в почве при паровании накапливается до 32-34 мг/кг нитратного азота, что выше в 3-4 раза исходного содержания и в 1,2-1,7 раза неудобренного фона. Применение соломы на протяжении первого года парования сдерживает минерализационные процессы в почве за счет иммобилизации почвенного азота.

Органическая биомасса традиционных (навоз) и сидеральных (донник, рапс, озимая рожь) источников служит эффективным средством регулирования азотного режима почв под посевами полевых культур в действии и последствии. Нитратный азот, накопленный в паровом поле и в процессе текущей нитрификации под растениями, – основной источник питания полевых культур и формирования их урожая. Между количеством нитратного азота в почве и прибавкой урожая, как уже отмечалось, существует прямая тесная зависимость (r=0,91±0,09). При этом, как правило, в результате интенсивного потребления азота вегетирующими растениями в почве не происходит запасного накопления нитратов в течение вегетации. Для минерализации азотсодержащих соединений соломы в полевых условиях требуется более длительный период взаимодействия с почвой.

Азотсодержащие органические удобрения существенно повышают урожайность полевых культур в действии и последствии. Пролонгированное влияние удобрений на урожайность культур проявляется неоднородно по годам. Максимальное ее значение отмечено при внесении навоза на 2-й год (38%), донника – на 2-й и 3-й (26 и 23%), рапса и озимой ржи – на

Табл. 4. Суммарный сбор кормовых единиц и вынос азота в звене севооборота при внесении органических удобрений

Вариант	Суммарный урожай, г/м ²	Прибавка к контролю		Общий вынос азота, г/м ²
		г/м ²	%	
Контроль	784,3	-	-	12,8
Навоз	953,9	169,6	21,6	17,5
Донник	949,1	164,8	21,0	17,8
Рапс	945,9	161,6	20,6	17,6
Озимая рожь	948,6	164,3	20,9	17,5
Солома	900,9	116,6	14,9	16,0
НСР ₀₅ , г/м ²	-	19,7	-	-

3-й (34 и 47% соответственно), Все исследуемые виды органической биомассы могут служить в качестве полноценных органических удобрений.

Литература

1. Обеспечение продовольственной безопасности регионов Сибири / Першукевич П.С., Донченко А.С. и др. – Новосибирск: СО РАН, 2016. – 148 с.
2. Межрегиональная схема размещения и специализации сельскохозяйственного производства в субъектах Российской Федерации Сибирского федерального округа: рекомендации – Новосибирск: СО РАН, 2016. – 255 с.
3. Берзин А.М. Зелёные удобрения в Средней Сибири. – Красноярск: Красноярский ГАУ, 2002. – 395 с.
4. Сорокин И.Б. Органическое вещество в адаптивно-ландшафтных системах земледелия Томской области. – Томск, 2007. – 304 с.
5. Гамзиков Г.П. Агрохимия азота в агроценозах. – Новосибирск: Россельхозакадемия, НГАУ, 2013. – 790 с.
6. Завалин А.А., Чернова Л.С., Сапожникова С.Н., Коваленко А.А. Потребление растениями азота почвы при использовании удобрения, сидерата и биопрепарата (исследования с ^{15}N) // Российская сельскохозяйственная наука. – 2019. – № 6. – С. 36-39.
7. Доспехов Б.А. Методика полевого опыта. – М.: Агропромиздат, 1985. – 352 с.
8. Воронина Л.В., Гриценко А.Г. Климат и экология Новосибирской области. – Новосибирск: СГГА, 2011. – 228 с.
9. Агрохимические методы исследования почв. – М. Наука, 1975. – 656 с.
10. Славнина Т.П. Азот в почвах элювиального ряда. – Томск: Изд-во ТГУ, 1978. – 392 с.
11. Мальцев В.Т. Азотные удобрения в Приангарье. – Новосибирск: Россельхозакадемия, Иркутский НИИ-ИСХ, 2001. – 272 с.
12. Гамзиков Г.П. Практические рекомендации по почвенной диагностике азотного питания полевых культур и применению азотных удобрений в сибирском земледелии. – М.: Росинформагротех, 1918. – 48 с.
13. Шарков И.Н. Роль растительных остатков зерновых культур в регулировании плодородия почв Сибири // Биологические источники элементов минерального питания растений / III Сибирские агрохимические Прянишниковские чтения: Матер. междунар. науч. конф. (Омск, 12-16 июля 2005г.). – Новосибирск: Россельхозакадемия, Сиб. отд-ние, 2006. – С. 69-77.
14. Сулейменов С.З. Азотмобилизующая способность почв Западной Сибири и Северного Казахстана: Автореф. дис....канд. с.-х. наук. – Новосибирск: НГАУ, 2009. – 20 с.
15. Praveen-Kumar, Jagadish C.T., Jitednra P., Shyam K. F Rapid method for assessment of plant residue quality // J. Plant Nutrition and Soil Science. – 2003. – V.166. – N 5. – P. 662-666.

Поступила в редакцию 16.04.20
Принята к публикации 20.04.20

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ОСАДКА СТОЧНЫХ ВОД И РЕЖИМ ОРГАНИЧЕСКОГО ВЕЩЕСТВА ДЕРНОВО-ПОДЗОЛИСТОЙ ПОЧВЫ

Г.Ю. Рабинович, доктор биологических наук, Е.А. Подолян,
Т.С. Зинковская, кандидат сельскохозяйственных наук

Федеральный исследовательский центр Почвенный институт имени В.В. Докучаева,
119017, Москва, Пыжевский пер., 7, стр. 2
E-mail: 2016vniimz-noo@list.ru

Показано, что осадок сточных вод, образованный в процессе очистки сточных канализационных вод, содержит значительное количество органического вещества, азота и зольных элементов, которые могут быть использованы растениями. Приведены результаты трехлетнего мелкоделяночного опыта на дерново-подзолистой почве, в котором изучали действие осадка сточных вод, внесенного с опилками, торфом, соломой в разном соотношении в суммарной норме 60 т/га. Исследовали показатели режима органического вещества почвы: содержание, запасы, групповой и фракционный состав. Применяемые с осадком сточных вод субстраты достоверно увеличивали все показатели относительно контрольного варианта опыта (без удобрений). Отмечена тенденция снижения удобрительного действия при расширении соотношения между осадком сточных вод и дополнительными органическими компонентами – от 1:1 к 1:3. Выявлено преимущество осадка, примененного в свежем виде вместе с торфом или опилками в соотношении 1:1, по сравнению с компостом на основе осадка сточных вод.

USE OF SEWAGE SLUDGE AND ORGANIC MATTER REGIME OF SOD-PODZOLIC SOIL

Rabinovich G.Yu., Podolyan E.A., Zinkovskaya T.S.

Federal Research Center V.V. Dokuchaev Soil Science Institute,
119017, Moskva, Pyzhevsky per., 7, str. 2
E-mail: 2016vniimz-noo@list.ru

Sewage sludge formed during the treatment of sewage contains a significant amount of organic matter, nitrogen and ash elements that can be used by plants. The paper pre-sents the results of a three-year shallow plot experiment on sod-podzolic soil, in which the effect of sewage sludge introduced together with sawdust, peat, straw in a different ratio in the total norm of 60 t/ha was studied. The indicators of the regime of organic matter of the soil were studied: content, reserves, group and fractional composition. The substrates used with sewage sludge provided a significant increase in all indicators relative to the control experiment (without fertilizers). A tendency toward a decrease in the fertilizing effect with an expansion of the ratio between sewage sludge and additional organic components from 1:1 to 1:3 was noted. The ad-vantage of sewage sludge, which was introduced fresh together with peat or sawdust in a ratio of 1:1, in comparison with compost based on sewage sludge, was revealed.

Ключевые слова: осадок сточных вод, органическое вещество почвы, торф, опилки, солома

Key words: sewage sludge, soil organic matter, peat, sawdust, straw

Наметившийся в последние десятилетия резкий спад получения органических удобрений в нашей стране вызван уменьшением животноводческого сектора сельского хозяйства. Такие изменения сказались на растениеводстве ввиду снижения плодородия почвы. Доказано [1], что для воспроизводства гумуса необходимо вносить свыше 6 т/га органических удобрений в год, в то время как в ряде регионов средней полосы РФ их применение ограничено. Таким образом, текущего объема традиционных органических удобрений, в том числе поступающих за счет заправки сидератов и соломы, недостаточно для нужд современного земледелия.

Исследования последних лет [2-4] показали, что компостирование осадка сточных вод дает возможность получить ценное органическое удобрение. Однако сдерживающим фактором широкомасштабного производства подобных компостов является недостаток материально-финансовых средств. Кроме того, качественные компосты получают при неоднократной перебивке смеси, на что затрачивается значительное время. С учетом этих факторов требуются менее затратные возможности применения осадка сточных вод (ОСВ) в земледелии. Один из таких способов – внесение ОСВ в свежем виде с органическими субстратами – торфом, опилками или соломой [5-11].

Помимо задачи воспроизводства плодородия почвы при участии ОСВ существует также не менее актуальная проблема современного общества. С ростом численности городов усиливается деятельность городских канализационных очистных сооружений. Сточные воды от промышленных предприятий, ливневых стоков и жилых зданий попадают в отстойники, где в метантенках и образуются ОСВ. Их объем насчитывает 1000 м³ в сутки. Осадки располагаются на иловых картах на территории очистных сооружений и занимают значительную площадь. Эффективные технологии утилизации и обезвреживания ОСВ не разработаны, поэтому осадки хранятся десятилетиями.

В связи с этим целью настоящих исследований был поиск путей эффективного применения осадка сточных вод в агропромышленном комплексе, наиболее целесообразные нормы их внесения на основе мониторинга почвы и с учетом урожая полевых культур.

Методика. Полевой опыт проводили на опытном участке Тверской государственной сельскохозяйственной академии в 2015-2017 гг. Почва участка – дерново-среднеподзолистая глееватая супесчаная на флювиогляциальных отложениях, подстилаемых мореной. До закладки опыта пахотный горизонт имел слабокислую реакцию (pH_{KCl} 5,7), высокую обеспеченность подвиж-

ным фосфором (241 мг/кг почвы) и среднюю – обменным калием (124 мг/кг почвы). Содержание гумуса в почве не превышало 1,3%, а степень насыщенности основаниями – 60%.

Исследуемый осадок сточных вод получен на территории очистных сооружений предприятия «Тверь Водоканал». Органические субстраты, дополнительно вносимые в почву с ОСВ, выбраны с учетом их распространенности в Центральной Нечерноземной зоне России и, в частности, в Тверской области. К ним относятся еловые опилки, ржаная солома, низинный торф. Перед закладкой опыта был выполнен химический анализ (табл. 1) всех исходных органических компонентов с применением методов по ГОСТ [12-17]. Результаты бактериологического анализа ОСВ не выявили патогенной микрофлоры.

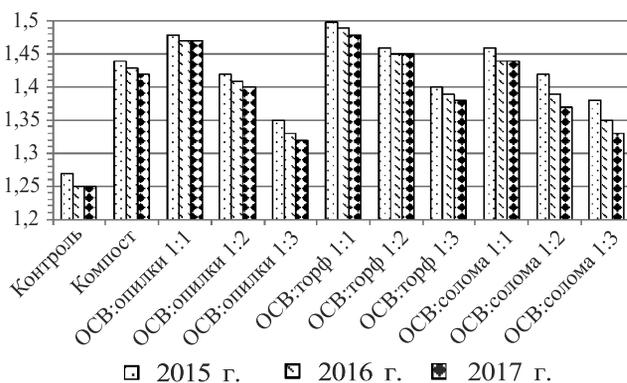
ОСВ вносили весной 2015 г. под весеннюю вспашку совместно с органическими субстратами в разном соотношении (1:1, 1:2, 1:3), суммарная норма внесения – 60 т/га. Контролем служил вариант без удобрений. В качестве контроля использовали также вариант с компостом, приготовленным на основе ОСВ и опилок (60 т/га), заготавливаемым на территории станции очистных сооружений сточных вод. Таким образом, схема опыта представлена следующими вариантами: 1 – без удобрений (контроль); 2 – компост; 3 – ОСВ:опилки 1:1; 4 – ОСВ:опилки 1:2; 5 – ОСВ:опилки 1:3; 6 – ОСВ:торф 1:1; 7 – ОСВ:торф 1:2; 8 – ОСВ:торф 1:3; 9 – ОСВ:солома 1:1; 10 – ОСВ:солома 1:2; 11 – ОСВ: солома 1:3. Эксперимент проводили в зернотравяном звене полевого севооборота со следующим чередованием культур: викоовсяная смесь (овес сорта Кречет, вика яровая сорта Льговская-22), озимая рожь сорта Татьяна, яровой ячмень сорта Гонар.

При исследовании содержания органического вещества почвы и его группового и фракционного состава применяли методику Тюрина в модификации Пономаревой и Плотниковой [18].

Результаты и обсуждение. ОСВ, внесенный в почву с различными органическими субстратами, а также готовый компост способствовали приросту органического вещества во всех вариантах с удобрением (рис.). В год прямого действия наибольшее количество органического вещества (1,50%, прибавка к контролю – 0,23%) обнаружено при внесении смеси ОСВ с торфом в соотношении 1:1. Сопоставимое увеличение отмечено в вариантах ОСВ с опилками и ОСВ с соломой, когда прибавка к контролю достигла соответственно 0,21 и 0,19%.

Табл. 1. Химический состав исходных органических субстратов

Показатель	ОСВ	Опилки	Торф	Солома	Компост
Влажность, %	67	69	61	12,3	52,0
Зольность, %	33	9,8	10,2	29	10,7
pH _{KCl}	7,5	4,8	5,1	-	6,1
N _{общ.} , %	3,43	4,8	5,1	0,43	2,10
P ₂ O ₅ _{общ.} , %	1,70	0,46	0,35	0,8	0,33
K ₂ O _{общ.} , %	0,29	0,3	0,15	0,8	0,15
C _{орг.} , %	33,6	45,0	44,9	46,6	44,3
C/N	9,8	125,2	16,0	108	21,0



Содержание органического вещества в дерново-подзолистой почве в вариантах опыта, % на сухую массу.

Следует отметить, что эти доминирующие варианты имели соотношение ОСВ с наполнителями 1:1, другие сочетания обеспечивали прибавку органического вещества в почве от 0,08 до 0,15%. Так, вариант ОСВ:опилки в соотношении 1:3 характеризовался минимальным содержанием органического вещества – прибавка к контролю составила только 0,08%. Кроме того, влияние ОСВ с органическими наполнителями в соотношении 1:1 на содержание органического вещества в почве оказалось эффективнее действия готового компоста, при этом разница составила 0,02% (с соломой), 0,04% (с опилками) и 0,06% (с торфом).

Схожая тенденция была и во второй год исследований. Наибольшее содержание органических соединений выявлено в варианте с использованием ОСВ с торфом в соотношении 1:1 (1,49%, прибавка к контролю – 0,24%), а также ОСВ с опилками в таком же соотношении – прибавка к контролю составила 0,22%. Другие варианты обеспечили положительную, но значительно меньшую прибавку в содержании органического вещества.

В течение всех лет исследований продолжалось убывание органических соединений во всех вариантах. Безусловно, такая закономерность связана с постепенной минерализацией ОСВ в почве, отмечаемой также другими авторами [8, 11]. Относительную сохранность органического вещества наблюдали в вариантах с совместным применением ОСВ с опилками или торфом в соотношении 1:1. Содержание в них составило 1,47-1,48%, что на 0,22-0,23% выше, чем в контрольном варианте. Влияние на этот показатель готового компоста, получаемого на станции очистных сооружений, было несколько ниже: содержание органического вещества составило 1,42%.

Все вносимые в почву смеси обеспечили прибавку запасов органического вещества (табл. 2) по сравнению с контрольным вариантом. Максимальное их увеличение в среднем за 3 года отмечено в варианте, где вносили смесь ОСВ:торф 1:1 (прибавка к контролю составила 6,54 т/га). Высокие результаты с математически доказанной прибавкой к контрольному варианту были также у смеси ОСВ:опилки 1:1 (прибавка к контролю – 5,99 т/га), ОСВ:торф 1:2 (прибавка к контролю – 5,44 т/га), ОСВ:солома 1:1 (прибавка к контролю – 5,02 т/га). Самые низкие значения показателя выявлены при внесении смесей ОСВ:опилки 1:3 (прибавка к контролю – 2,22 т/га) и ОСВ:солома 1:3 (прибавка к контролю – 2,84 т/га). Запасы органического вещества в почве при использовании компоста на основе осадков оказались существенно ниже, чем в вариантах ОСВ с опилками

Табл. 2. Запасы органического вещества (т/га) в пахотном слое (0-20 см) дерново-подзолистой почвы

Вариант	2015 г.	2016 г.	2017 г.	Среднее
Контроль	34,29	33,75	33,04	33,69
Компост	38,88	38,61	38,49	38,66
ОСВ:опилки:				
1:1	39,96	39,68	39,41	39,68
1:2	38,34	38,07	37,83	38,08
1:3	36,45	35,91	35,37	35,91
ОСВ:торф:				
1:1	40,50	40,23	39,95	40,23
1:2	39,42	39,15	38,82	39,13
1:3	37,80	37,53	37,16	37,50
ОСВ:солома:				
1:1	39,16	38,88	38,09	38,71
1:2	38,32	37,53	36,91	37,59
1:3	37,26	36,45	35,87	36,53
НСР _{0,5}	0,69	0,98	0,95	0,87

или торфом в соотношении 1:1. Широкое соотношение ОСВ к применяемым субстратам (1:3) было неэффективным в сравнении с компостом по исследуемому показателю.

Известно, что органические удобрения не только увеличивают общее содержание органического вещества, но и улучшают его групповой состав. Динамику изменения группового состава органического вещества почвы во всех вариантах изучали в течение трех лет трансформации удобрений (табл. 3).

Исходный состав органического вещества дерново-подзолистой супесчаной почвы относится к фульватно-гуматному типу: ГК:ФК составило 0,87%, доля

агрессивной фракции ФК – 8,2%, негидролизуемого остатка – 19,6%. Состав органического вещества в контрольном варианте за годы исследований практически не изменился и сохранил исходный тип. Вероятно, это связано с тем, что в опыте помимо применения ОСВ в контрольном варианте возделывали зерновые культуры, от которых в почву в виде растительных остатков поступало определенное количество биомассы, обеспечивающее постоянство общего содержания органического вещества в почве, его группового и фракционного состава. В первый год трансформации органических смесей во всех вариантах с удобрением наблюдали повышение содержания органического вещества в плодородном слое почвы преимущественно за счет увеличения в его составе количества гуминовых кислот.

Отечественные исследователи [19, 20], описывая возрастание гуминовых кислот в групповом составе органического вещества при использовании органических удобрений, пришли к мнению, что причина кроется во внесении в почву непосредственно свободных гуминовых кислот, входящих в состав удобрений. В меньшей мере применение ОСВ с органическими субстратами повлияло на изменение количества фульвокислот.

В нашем опыте отмечено снижение концентрации ФК в почве вариантов с применением ОСВ и торфа (39,7–42,3%). Изменения коснулись в основном ФК фракции 2 (более устойчивая, связанная с кальцием) – прослеживалась тенденция к ее возрастанию, а также фракции 3 (связанная с устойчивыми глинистыми соединениями в виде полуторных окислов алюминия и железа) – в некоторых вариантах их количество снизилось.

В 2015 г. наиболее заметно возросло содержание гуминовых кислот при внесении ОСВ с опилками и ОСВ с торфом при соотношении 1:1. Прибавка относительно контроля составила соответственно 5,2 и 4,7%. Выявлена существенная разница между этими видами субстратов. В вариантах с другими видами удо-

Табл. 3. Состав органического вещества (% к общему С) дерново-подзолистой супесчаной почвы в слое 0-20 см

Вариант	2015 г.				2016 г.				2017 г.			
	Σ _{ГК}	Σ _{ФК}	ГК/ФК	С-негидролизуемого остатка	Σ _{ГК}	Σ _{ФК}	ГК/ФК	С-негидролизуемого остатка	Σ _{ГК}	Σ _{ФК}	ГК/ФК	С-негидролизуемого остатка
Контроль	37,1	43,1	0,86	19,8	37,0	43,3	0,86	19,7	36,8	43,6	0,84	19,6
Компост	39,1	43,4	0,90	17,5	38,5	42,7	0,90	18,8	38,2	42,0	0,91	19,8
ОСВ:опилки:												
1:1	42,3	42,7	0,99	15,0	40,8	41,6	0,99	17,6	39,4	40,4	0,98	20,2
1:2	40,1	42,9	0,93	17,0	39,7	41,8	0,93	18,5	39,0	40,9	0,95	20,1
1:3	39,1	43,4	0,90	17,5	38,5	42,7	0,90	18,8	37,8	41,5	0,91	20,7
ОСВ:торф:												
1:1	41,8	41,0	1,02	17,2	41,2	41,6	0,99	17,2	40,6	42,3	0,96	17,1
1:2	39,9	40,7	0,98	19,4	39,4	41,0	0,98	19,6	38,9	41,4	0,94	19,7
1:3	38,6	40,8	0,95	20,6	37,8	39,8	0,95	20,4	37,1	39,7	0,93	20,2
ОСВ:солома:												
1:1	40,2	41,0	0,98	18,8	40,0	42,7	0,98	17,3	39,4	43,2	0,91	17,4
1:2	39,6	43,0	0,92	17,4	39,2	42,9	0,92	17,9	38,7	42,7	0,91	18,6
1:3	38,9	43,7	0,89	17,4	38,2	43,9	0,90	17,9	37,6	43,8	0,88	18,8
НСР _{0,5}	0,7	1,1	0,04	0,4	0,7	1,2	0,04	0,4	0,7	1,3	0,04	0,4

бреней увеличение концентрации ГК оказалось ниже (1,5-3,1%). Наряду с изменением их содержания, произошло некоторое перераспределение фракционного состава. В составе ГК в большей степени изменилось содержание фракции 1 (наиболее подвижная, связанная с несиликатными формами полуторфных окислов), слабо взаимодействующей с минеральной частью почвы. В большей степени увеличение этой фракции наблюдали в варианте со смесью ОСВ:торф 1:1 (прибавка к контролю достигала 4,0%), в меньшей – при внесении в почву смеси ОСВ с органическими наполнителями в соотношении 1:3, а также компоста. Количество ГК фракции 1 было выше, чем в контрольном варианте, на 1,3-2,0%.

Во второй год действия удобрений выявлено незначительное увеличение содержания как гуминовых, так и фульвокислот. Так, повышением доли ГК выделился вариант со смесью ОСВ:опилки в соотношении 1:1, прибавка за год составила 1,5%. К концу вегетационного периода первого года последствий удобрений ГК:ФК снизилось на 0,01-0,02%. Наиболее широкое значение этого показателя, как и в предыдущий год исследований, отмечено в вариантах ОСВ:опилки и ОСВ:торф в соотношении 1:1 (0,99 и 1,02% соответственно). Улучшение состава органического вещества произошло в основном за счет возрастания количества ГК фракции 1. Изменения в содержании органического вещества повлияли на соотношение между ГК и ФК во всех вариантах с удобрением так, что к концу первого года последствия оно составило 0,90-0,99%, в контроле едва достигало 0,86%.

На третий год опыта относительно второго года произошло заметное снижение концентрации ГК во всех вариантах на 0,2-1,4%. За счет этого сузилось отношение ГК к ФК, меньше всего в контрольном варианте (на 0,2%). Подобный результат может быть связан с тем, что опилки, торф и солома являются аэрирующими, влагопоглощающими материалами, поддерживающими условия, необходимые для успешной минерализации органических веществ [21]. В течение 3 лет эксперимента отмечена тенденция увеличения гуминовых кислот за счет повышения концентрации ГК свободной фракции 1, которая ввиду слабых связей с почвенными частицами способна в скором времени минерализоваться [1].

Современные исследования в области агрохимии [19, 22] также доказывают, что внесение в почву органических удобрений в отличие от минеральных значительно влияет на содержание фракций ГК и ФК в составе гумуса. По данным Богатыревой Е.Н. и др. [19], внесение 40-60 т/га органических удобрений за севооборот оказывает большее воздействие на обеспеченность гумуса гуминовыми кислотами и прежде всего агрономически ценной фракцией 2, при этом содержание подвижных фракций фульвокислот снижается.

Концентрация негидролиземого осадка органического вещества в течение эксперимента несколько возрастала в вариантах, в которых доля торфа, опилок, соломы относительно ОСВ увеличивалась. Можно предположить, что существует связь с наличием трудно разлагаемых компонентов органических субстратов, в частности, органолигнинных соединений, которые менее интенсивно минерализуются [23]. В результате математической обработки результатов опыта выявлено незначительное влияние ОСВ на концентрацию ФК в почве, в то время как содержание ГК изменялось существенно в зависимости от варианта.

Таким образом, на основании наших исследований можно сделать вывод о том, что осадок сточных вод

оказывает удобрительное действие на дерново-подзолистую супесчаную почву, влияет на режим органического вещества. ОСВ, применяемый совместно с опилками, торфом или соломой, приводит к увеличению концентрации органического вещества пропорционально объему внесенного осадка. Кроме того, он обладает эффектом последствия в отношении содержания и состава органического вещества.

Лучший результат получен при применении ОСВ с торфом или опилками в соотношении 1:1. Готовый компост уступал этим вариантам по содержанию органического вещества на 0,04-0,06%. Выявлен положительный эффект субстратов в отношении фракционного и группового состава органического вещества. Внесение ОСВ способствовало увеличению отношения ГК к ФК по сравнению с контролем на 0,02-0,16 за счет обогащения почвы гуминовыми кислотами.

Литература

1. *Агрохимия на службе земледелия / Под редакцией С.И. Поповой. – Пермь, 1981. – 283 с.*
2. *Лучицкая О.А., Севостьянов С.М. Воздействие осадков сточных вод на почву и растения // Агрохимия. – 2007. – № 9. – С. 80-84.*
3. *Селивановская С.Ю., Курицын И.Н., Савельев А.А. Оценка эффективности применения нетрадиционного удобрения на основе осадков сточных вод // Агрохимия. – 2007. – № 5. – С. 68-75.*
4. *Пескарев А.А., Яшин И.М., Касатиков В.А. Агрохимические свойства дерново-подзолистой супесчаной почвы при применении удобрений на основе осадка сточных вод // Плодородие – 2011. – № 1. – С. 9-10.*
5. *Жигарева Ю.В., Мерзлая Г.Е. Агроэкологическая оценка эффективности осадков сточных вод на дерново-подзолистых почвах Тверской области // Плодородие – 2018. – № 2. – С. 49-51.*
6. *Убузунев Л.Л., Бадмаев А.Б., Дорошкевич С.Г. Влияние осадков сточных вод на урожайность и качество картофеля // Растениеводство. – 2007. – № 10. – С. 28-33.*
7. *Александрова Л.Н., Михайлов Л.Н. Энергетическая и экономическая оценка применения осадков городских сточных вод // Агрохимический вестник. – 2008. – № 5. – С. 12-13.*
8. *Сысуйев В.А., Косолапова А.И., Васбиева М.Т. Изменение плодородия дерново-подзолистой почвы Предуралья при внесении отходов промышленности органического происхождения // Доклады Российской академии сельскохозяйственных наук. – 2010. – № 4. – С. 33-35.*
9. *Тиньгаев А.В. Оценка влияния осадка сточных вод на урожай зерна и микробиологическую активность почвы // Агрохимический вестник. – 2010. – № 4 – С. 38-40.*
10. *Малинина М.С. Изменение распределения химических элементов в профиле дерново-подзолистой почвы после длительного применения осадков сточных вод // Почвоведение. – 2012. – № 12. – С. 1269-1277.*
11. *Васенев И.И., Сюняев Н.К., Бадарч Б. Агроэкологическая оценка характерных для Калужской области старопашотных легких дерново-подзолистых почв после неоднократного применения свежих и обезвоженных осадков сточных вод // Достижения науки и техники АПК. – 2012. – № 10. – С. 53-57.*
12. *ГОСТ 26715-85 Удобрения органические. Методы определения общего азота. – М.: Издательство стандартов, 1986. – 12 с.*

13. ГОСТ 26717-85 Удобрения органические. Метод определения общего фосфора. – М.: Издательство стандартов, 1986. – 6 с.
14. ГОСТ 26718-85 Удобрения органические. Метод определения общего калия. – М.: Издательство стандартов, 1986. – 19 с.
15. ГОСТ 26712-94 Удобрения органические. Общие требования к методам анализа – М.: Издательство стандартов, 1995. – 10 с.
16. ГОСТ 27979-88 Удобрения органические. Методы определения рН. – М.: Издательство стандартов, 1989. – 6 с.
17. ГОСТ 26713-85 Удобрения органические. Метод определения влаги и сухого остатка. – М.: Издательство стандартов, 1986. – 10 с.
18. Пономарева В.В., Плотникова Т.А. Гумус и почвообразование (методы и результаты изучения). – Л.: Наука, 1980. – 232 с.
19. Богатырева Е.Н., Серая Т.М., Бирюкова О.М., Мезенцева Е.Г., Бирюков Р.Н. Изменение фракционно-группового состава гумуса дерново-подзолистых легкосуглинистой и супесчаной почв под влиянием разных систем удобрения // Почвоведение и агрохимия. – 2011. – № 2(47). – С. 62-70.
20. Трешкин И.А. Влияние органических компостов на продуктивность зернотравяного звена севооборота и плодородие дерново-подзолистых почв Центрального Нечерноземья: автореф. дис. канд. с.х. н. – Тверь: ТГСХА, 2005. – 36 с.
21. Кривоногов П.С., Кривоногова А.С. Гриценко В.Л., Донник И.М. Способ биотехнологичной переработки помета в птицеводстве. Патент России 2016107982. – 2017. – Бюл. № 8. – 7 с.
22. Титова В.И., Артемьева З.С., Архангельская А.М. Агрогенная трансформация органического вещества светло-серой лесной легкосуглинистой почвы (по исследованиям в длительном опыте) // Известия ТГСХА. – 2013. – Вып. 3. – С. 18-30.
23. Касатиков В.А., Анисимова Т.Ю., Шабардина Н.П. К вопросу о мелиоративном влиянии систематического применения осадка городских сточных вод на агроэкологические свойства слабоокультуренной дерново-подзолистой почвы // Мелиорация. – 2018. – № 3 (85). – С. 78-84.

Поступила в редакцию 12.02.20
Принята к публикации 20.02.20

Мелиорация

УДК 631.674.6 (470.0)

DOI:10.31857/S2500262720040109

ОСОБЕННОСТИ ФОРМИРОВАНИЯ САЖЕНЦЕВ СЛИВЫ, ВЫРАЩИВАЕМЫХ В ПЛОДОВОМ ПИТОМНИКЕ ПРИ КАПЕЛЬНОМ ОРОШЕНИИ**Н.Н. Дубенок, академик РАН, А.В. Гемонов, аспирант, А.В. Лебедев***Российский государственный аграрный университет – МСХА имени К.А. Тимирязева, 127550, Москва, ул. Тимирязевская, 49
E-mail: agemonov@yandex.ru*

Вследствие недостатка отечественного посадочного материала значительная его часть поступает в питомники из-за рубежа. Капельное орошение как один из видов ресурсосберегающих технологий позволяет интенсифицировать сельскохозяйственное производство, в том числе и в области выращивания посадочного материала для садоводства. Целью работы было изучение влияния капельного орошения на формирование саженцев сливы, выращиваемых в плодовом питомнике в условиях Центральной части Нечерноземной зоны России. Полевые исследования проводили на территории учебно-опытного хозяйства лаборатории плодородия «Мичуринский сад» РГАУ-МСХА имени К.А. Тимирязева. Двухфакторный полевой опыт был заложен весной 2018 г.; первый фактор – режим капельного орошения, второй – сорта сливы Машенька и Утро на подвое алычи. Для рационального использования поливной воды и получения высококачественного посадочного материала сливы в питомнике рекомендован режим орошения с поддержанием влажности почвы 80-100% наименьшей влагоемкости с глубиной промачивания в 1-й год – 30 см и во 2-й – 40 см. При таком режиме орошения отмечены максимальные значения диаметра штамба, высоты саженцев и площади листовой поверхности.

FEATURES OF FORMING PLUM SEEDLINGS GROWING IN THE NURSERY-GARDEN WITH DRIP IRRIGATION**Dubenok N.N., Gemonov A.V., Lebedev A.V.***Russian State Agrarian University – Moscow Timiryazev Agricultural Academy,
127550, Moscow, ul. Timiryazevskaya, 49
E-mail: ndubenok@mail.ru*

Currently, there is a lack of capacity in the Russian nursery-garden, as a result of which a significant part of the planting material comes from abroad. Drip irrigation is one of the types of resource-saving technologies that can intensify agricultural production, including in the field of growing planting stock for gardening. The aim of the study was to study the effect of drip irrigation on the formation of plum seedlings grown in a fruit nursery in the central Non-Black Soil zone of Russia. Field studies were conducted on the territory of the educational-experimental farm of the fruit growing laboratory «Michurinsky Garden» of the Russian State Agrarian University – Moscow Timiryazev Agricultural Academy. Two-factor field experience was laid in the spring of 2018. The first factor is the drip irrigation regime, the second factor is the plum varieties (Mashenka and Utro) for plum stock. The results of the experiment show that for a more rational use of irrigation water and to obtain high-quality plum planting material in the nursery, it is recommended to use an irrigation regime with maintaining soil moisture in the range of 80-100% of the lowest moisture capacity with a soaking depth of 30 cm in the first year and 40 in the second year see. With this mode of irrigation, the maximum values of the diameter of the stem, the height of the seedlings and the area of the leaf surface are observed.

Ключевые слова: *капельное орошение, питомник, саженцы, слива, биометрические показатели*

Key words: *drip irrigation, nursery-garden, seedlings, plum, biometric indicators*

Климатические показатели в Центральной части Нечерноземной зоны России варьируют, особенно сумма атмосферных осадков и их распределение в течение вегетационного периода. При этом в последние годы условия увлажнения этой территории ухудшились [1]. Сельскохозяйственное производство сильно зависит от количества и равномерности распределения осадков. Например, засуха способствует сокращению активной поверхности корневой системы плодовых деревьев, что приводит к ослаблению поглощения воды и минеральных солей из почвы [2].

Использование поливной воды в сельском хозяйстве не оптимизировано. По оценкам некоторых экспертов, повышение эффективности применения воды – первый шаг к предотвращению водного кризиса. Так, расход воды можно сократить до 40-50% в сельском хозяйстве, до 40-90% в промышленном производстве и до одной трети в городах [3]. Капельное орошение – один из видов ресурсосберегающих технологий, позволяющих интенсифицировать сельскохозяйственное производство [4-6].

В настоящее время в отечественные питомники

значительная часть посадочного материала поступает из-за рубежа. В плодовых садах, которые закладывают с использованием не адаптированных к местным условиям саженцев, через 7-10 лет после посадки возможны выпадения деревьев, достигающие 15-20% от первоначального количества, при этом ежегодная величина ущерба составит более 1,5 млрд рублей [7]. Поэтому основной целью работы было изучение влияния капельного орошения на формирование саженцев сливы, выращиваемых в плодовом питомнике в условиях Центральной части Нечерноземной зоны России.

Методика. Полевые исследования проводили на территории учебно-опытного хозяйства лаборатории плодородия «Мичуринский сад» Российского государственного аграрного университета – МСХА имени К.А. Тимирязева. Почва опытного участка – дерново-подзолистая культурная грунтово-глееватая глубокопахотная среднесуглинистая на моренном суглинке, подстилаемая на глубине 150-170 см подморенными песками.

Двухфакторный полевой опыт по изучению влияния различных диапазонов увлажнения на формирование

сортовых саженцев сливы, привитых на подвой алычи, был заложен весной 2018 г. в соответствии с рекомендациями [8]. Первый фактор (режим увлажнения почвы при капельном орошении) включал варианты с поддержанием влажности почвы: 1 – 60-80% наименьшей влагоемкости (НВ); 2 – 70-90% НВ; 3 – 80-100% НВ; 4 – контроль (без орошения). Второй фактор – сорта сливы Машенька [9] и Утро [10].

Саженцы высаживали согласно схеме 0,9×0,33 м с расстоянием между соседними рядами различных вариантов 1 м. При такой схеме плотность посадки составила 33,5 тыс. саженцев на 1 га. Все варианты были заложены в 3-кратной повторности с систематическим расположением делянок. Площадь делянки – 40 м², в каждой повторности высажено по 30 саженцев каждого сорта. Для полива применяли многолетнюю капельную линию. В первый год исследования глубина промачивания почвы составляла 30 см, во второй – 40 см. Влажность почвы контролировали с помощью тензиометров, градуированных на основании данных термостатно-весового метода. Результаты наблюдений за биометрическими показателями растений обработаны с применением дисперсионного анализа с расчетом показателя наименьшей существенной разницы (НСР), а все выводы сделаны при уровне значимости 5%.

Результаты и обсуждение. Динамика среднесуточной температуры воздуха, относительной влажности воздуха, количества осадков и влажности почвы в слое 0-30 см по вариантам, 2018 г. В 2018 г. наиболее засушливые периоды отмечены во второй декаде мая, второй декаде июля, второй и третьей декадах августа, когда влажность почвы в контрольном варианте снижалась до 35-40% НВ. В 2019 г. засушливым было начало вегетационного периода: с конца мая по конец июня в контрольном варианте влажность почвы составляла 30-50% НВ, а также вторая декада июля и третья декада августа.

Наибольшие значения оросительной нормы получены в самых увлажняемых вариантах. Кроме того, на ее величину влияли равномерность распределения осадков в течение вегетационного периода и глубина промачивания почвы при капельном поливе. Результаты наблюдений показывают следующую тенденцию: повышенная влажность почвы приводит к большему водопотреблению, следовательно, увеличивается расход воды на поддержание такого уровня влажности почвы. В этих вариантах возрастают значения оросительных норм за счет увеличения числа поливов. Более частые поливы эффективны при выращивании саженцев, так как позволяют избежать резких колебаний влажности почвы и растения не подвергаются периодическим стрессам, вызванным дефицитом влаги.

В 2018 г. средняя поливная норма и количество поливов по вариантам составили: 60-80% НВ – 37,1 м³ (19 поливов), 70-90% НВ – 38,8 м³ (23 полива), 80-100% НВ – 38,1 м³ (25 поливов); в 2019 г. – соответственно 45,6 (13 поливов), 45,3 (19 поливов), 45,7 м³ (21 полив).

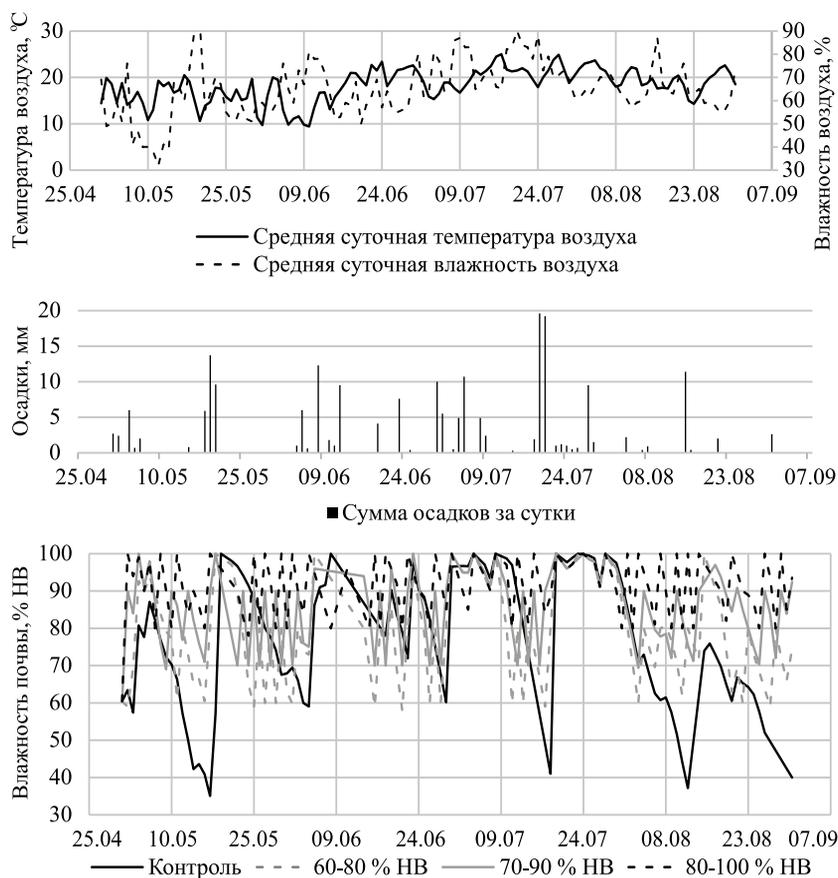


Рис. 1. Динамика среднесуточной температуры воздуха, относительной влажности воздуха, количества осадков и влажности почвы в слое 0-30 см по вариантам, 2018 г.

Практика ведения садоводства показывает, что для высадки лучше использовать высококачественные саженцы, которые характеризуются достаточной силой роста, определяющейся через такие биометрические показатели, как диаметр штамба, высота растений, площадь листовой поверхности и качество корневой системы [11, 12]. За два года полевых исследований наибольшие значения диаметра штамба получены в вариантах с поддержанием влажности почвы в диапазоне 70-90 и 80-100% НВ (табл. 1). В 2018 г. дефицит влаги в контрольном варианте сказался сильнее на диаметре штамба, чем в 2019 г. Это связано с тем, что в 1-й год после посадки корневая система недостаточно сформирована и растения сильнее страдают от недостатка влаги в почве. В оба года достаточно четко проявились сортовые особенности саженцев. В среднем у саженцев сорта Машенька диаметр штамба был больше, чем у сорта Утро.

Высота саженцев наравне с диаметром штамба служит одним из основных биометрических показателей, определяющих их сортность. В табл. 2 представлены значения высоты саженцев по вариантам и годам исследования. Как и по диаметру штамба, наиболее развитыми оказались саженцы в вариантах с максимальным увлажнением корнеобитаемого слоя почвы. В 1-й год исследования средняя высота при поддержании влажности почвы 80-100% НВ была выше, чем в контрольном варианте, на 27% у сорта Машенька и на 21% у сорта Утро, во 2-й год – соответственно на 23 и 22%.

Важный биометрический показатель, определяющий

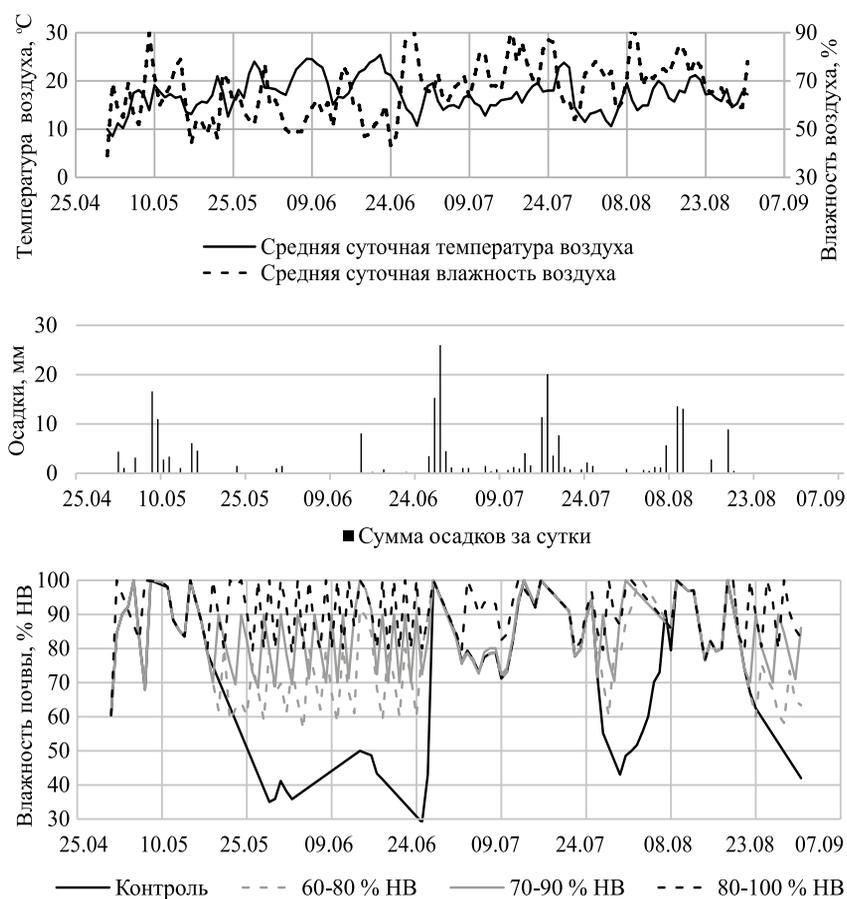


Рис. 2. Динамика среднесуточных температуры воздуха, относительной влажности воздуха, количества осадков и влажности почвы в слое 0-30 см по вариантам, 2019 г.

Табл. 1. Диаметр штамба саженцев по вариантам и годам исследования

Год	Режим орошения (фактор А)	Сорт (фактор Б)	Среднее по повторностям, см			Среднее по варианту, см
			№ 1	№ 2	№ 3	
2018	60-80 % НВ	Машенька	1,01	1,12	0,96	1,03
		Утро	0,98	0,89	1,07	0,98
	70-90 % НВ	Машенька	1,25	1,38	1,29	1,31
		Утро	1,21	1,26	1,28	1,25
	80-100 % НВ	Машенька	1,25	1,43	1,35	1,34
		Утро	1,17	1,35	1,32	1,28
Контроль (без орошения)	Машенька	0,89	0,97	0,75	0,87	
	Утро	0,78	0,88	0,93	0,86	
НСР _{0,05} для частных различий					0,14	
НСР _{0,05} для фактора А (режим орошения)					0,08	
НСР _{0,05} для фактора Б (сорт)					0,05	
2019	60-80 % НВ	Машенька	1,16	1,11	1,14	1,14
		Утро	1,13	1,18	1,09	1,13
	70-90 % НВ	Машенька	1,42	1,47	1,45	1,45
		Утро	1,43	1,38	1,42	1,41
	80-100 % НВ	Машенька	1,41	1,52	1,49	1,47
		Утро	1,38	1,43	1,49	1,43
Контроль (без орошения)	Машенька	0,96	1,04	1,03	1,01	
		1,05	1,01	0,94	1,00	
НСР _{0,05} для частных различий					0,17	
НСР _{0,05} для фактора А (режим орошения)					0,11	
НСР _{0,05} для фактора Б (сорт)					0,04	

щий развитие саженцев и их фотосинтетический потенциал – площадь листовой поверхности. В табл. 3 приведены средние значения площади листовой поверхности в расчете на один саженец по вариантам и годам исследования. Максимальные значения получены при наибольшем увлажнении почвы в корнеобитаемой зоне (поддержание влажности в диапазоне 70-90 и 80-100% НВ), минимальные – в контрольном варианте без орошения. Сортные особенности проявились следующим образом. Наибольшей площадью листовой поверхности характеризовались саженцы сорта Машенька, что связано с их биологическими особенностями.

Изучение строения корневой системы саженцев показало, что без орошения корневая система в процессе роста приобретает конусообразную форму. Преимущественное направление роста корней – вниз, в сторону к более влажным слоям почвы. В вариантах с проведением капельного полива корневая система саженцев сливы распространялась преимущественно в верхнем слое почвы (20-30 см) и вытягивалась вдоль линии с капельницами. Это облегчает выкопку саженцев в питомниках и приводит к их меньшему повреждению при пересадке.

Результаты наших исследований показывают, что капельное орошение способствует выращиванию более развитых саженцев сливы, пригодных для пересадки из питомника, по сравнению с контрольным вариантом. Схожие результаты получены в саду Института садоводства и цветоводства в Скерневицах (Польша) [13]. На примере деревьев сливы сорта Valor, привитой на сливу Murgobalan и чернослива Wangerheim, было показано, что как правило, капельное орошение значительно увеличивает рост деревьев, урожайность и качество плодов. Данные наших опытов согласуются с выводами ученых, полученными при изучении влияния орошения на рост и развитие саженцев косточковых культур (черешня и слива) в условиях Волгоградской области [14, 15]. Наиболее благоприятным оказался режим орошения с поддержанием влажности почвы не ниже 80% НВ с дифференцированным слоем увлажнения 0,2-0,4 м.

Таким образом, для рационального использования поливной воды и получения высококачественного посадочного материала сливы в питомнике рекомендуется режим орошения с поддержанием влажности почвы на уровне 80-100% НВ с глубиной промачивания в 1-й год – 30 см и во 2-й – 40 см. При таком режиме

орошения отмечены максимальные значения диаметра штамба, высоты саженцев и площади листовой поверхности.

Литература.

1. Белолобцев А.И., Асауляк И.Ф. *Агроклиматическое обеспечение производственных процессов сельскохозяйственных культур в условиях Центрального района Нечерноземной зоны // Известия ТСХА. – 2013. – № 4. – С. 66-84.*
2. Evans R., Proebsting E. *Response of Red Delicious apples to trickle irrigation // 3rd Inter. Drip/Trickle Irrigation Congress. – 1985. – N 1. – P. 239-321.*
3. Hayati D., Lari M. *Problems and barriers of using the overhead irrigation and technology for farmers // Agriculture economy and development Journal. – 2000. – N 32. – P. 187-213.*
4. Дубенок Н.Н., Гемонов А.В., Лебедев В.М., Градусов В.М. *Формирование саженцев сливы при капельном орошении в условиях Нечерноземной зоны // Известия Тимирязевской сельскохозяйственной академии. – 2019. – N 6. – С. 23-35. DOI: 10.34677/0021-342x-2019-6-23-35.*
5. Dubenok N.N., Gemonov A.V., Lebedev A.V., Glushenkova E.V. *Formation of plum seedlings under drip irrigation in Central Non-Black Soil region of Russia // Вестник Российского университета дружбы народов. Серия: Агрономия и животноводство. – 2019. – Т. 14. – N 1. – С. 40-48. DOI: 10.22363/2312-797X-2019-14-1-40-48.*
6. Шуравилин А.В., Бородычев В.В., Кривоуцкий А.А. *Влияние режимов капельного орошения на рост и плодоношение яблони в саду интенсивного типа // Вестник Российского университета дружбы народов. Серия: Агрономия и животноводство. – 2012. – N 4. – С. 49-55.*
7. Кузнецова А.П., Дрыгина А.И. *Современные тенденции развития технологий производства посадочного материала плодовых культур высших категорий качества // Научные труды СКФНЦСВВ. – 2018. – Т. 17. – С. 71-75. DOI: 10.30679/2587-9847-2018-17-71-75.*
8. Доспехов Б.А. *Методика полевого опыта (с основами статистической обработки исследований). – 5-е изд., доп. и перераб. – М.: Агропромиздат. 1985. – 351 с.*
9. Симонов В.С. *Перспективные сортообразцы сливы домашней для Московской области // Садоводство и виноградарство. – 2018. – N 4. – С. 26-31.*
10. Симонов В.С. *Результаты сортоизучения сливы в ФГБНУ ВСТИСП // Плодоводство и ягодоводство России. – 2017. – Т. 48. – N 1. – С. 232-239.*
11. Гончарова Э.А. *Водный статус культурных растений и его диагностика / под ред. акад. В. А. Драгавцева. – СПб.: ВИР, 2005. – 112 с.*
12. Майдебур В.И., Васюта В.М., Мережко И.М. *Выращивание плодовых и ягодных саженцев – Киев: Урожай, 1984. – 232 с.*
13. Treder W., Grzyb Z., Rozpara E. *The influence of irrigation on growth and yield of plum trees cv. Valor grafted on Myrobalan and Wangenheim Prune // Acta Agrobotanica. – 1999. – N 1-2 (52). – P. 95-101. DOI: 10.5586/aa.1999.010.*
14. Никольская О.А., Киктева Е.Н., Куратина Н.В. *Влияние орошения на рост и развитие саженцев косточковых культур в питомнике // Орошаемое земледелие. – 2019. – N 1. – С. 42-45.*

Табл. 2. Высота саженцев по вариантам и годам исследования

Год	Режим орошения (фактор А)	Сорт (фактор Б)	Среднее по повторностям, см			Среднее по варианту, см	
			№ 1	№ 2	№ 3		
2018	60-80 % НВ	Машенька	96	108	98	101	
		Утро	93	88	102	94	
	70-90 % НВ	Машенька	113	126	118	119	
		Утро	102	123	112	112	
	80-100 % НВ	Машенька	101	129	122	117	
		Утро	92	123	109	108	
	Контроль (без орошения)	Машенька	84	90	101	92	
		Утро	90	94	82	89	
	НСР _{0,05} для частных различий					21	
	НСР _{0,05} для фактора А					12	
НСР _{0,05} (режим орошения) для фактора Б (сорт)					6		
2019	60-80 % НВ	Машенька	150	135	142	142	
		Утро	137	134	127	133	
	70-90 % НВ	Машенька	164	178	175	172	
		Утро	152	150	159	154	
	80-100 % НВ	Машенька	163	178	183	175	
		Утро	153	160	167	160	
	Контроль (без орошения)	Машенька	130	159	137	142	
			127	142	124	131	
	НСР _{0,05} для частных различий					27	
	НСР _{0,05} для фактора А					18	
НСР _{0,05} (режим орошения) для фактора Б (сорт)					7		

Табл. 3. Площадь листовой поверхности саженцев по вариантам и годам исследования

Год	Режим орошения (фактор А)	Сорт (фактор Б)	Среднее по повторностям, см			Среднее по варианту, см	
			№ 1	№ 2	№ 3		
2018	60-80 % НВ	Машенька	986	1064	969	1006	
		Утро	904	965	976	948	
	70-90 % НВ	Машенька	1006	1076	1043	1042	
		Утро	932	976	948	952	
	80-100 % НВ	Машенька	987	1132	1094	1071	
		Утро	946	1093	1021	1020	
	Контроль (без орошения)	Машенька	953	966	964	961	
		Утро	934	964	868	922	
	НСР _{0,05} для частных различий					158	
	НСР _{0,05} для фактора А (режим орошения)					87	
НСР _{0,05} для фактора Б (сорт)					53		
2019	60-80 % НВ	Машенька	2547	2448	2521	2505	
		Утро	2526	2387	2429	2447	
	70-90 % НВ	Машенька	2642	2754	2687	2694	
		Утро	2645	2598	2704	2649	
	80-100 % НВ	Машенька	2645	2785	2876	2769	
		Утро	2604	2689	2763	2685	
	Контроль (без орошения)	Машенька	2398	2587	2468	2484	
			2398	2436	2338	2391	
	НСР _{0,05} для частных различий					273	
	НСР _{0,05} для фактора А					184	
НСР _{0,05} (режим орошения) для фактора Б (сорт)					74		

15. Куратина Н.В., Никольская О.А., Киктева Е.Н. *Обеспечение экологической безопасности при малообъемном орошении плодовых питомников // Агропромышленные технологии Центральной России. – 2019. – N 4 (14). – С. 55-58.*

Поступила в редакцию 16.03.20
 После доработки 10.04.20
 Принята к публикации 15.04.20

Животноводство

УДК 636.4.033

DOI:10.31857/S2500262720040110

**ИСПОЛЬЗОВАНИЕ СЕЛЕКЦИОННЫХ ИНДЕКСОВ В РАЗНЫХ СИСТЕМАХ
РАЗВЕДЕНИЯ СВИНЕЙ МАТЕРИНСКИХ ПОРОД***

Е.Е. Мельникова, кандидат сельскохозяйственных наук, **С.А. Никитин**,
А.В. Кабанов, кандидат физико-математических наук, **А.А. Сермягин**, кандидат сельскохозяйственных наук,
С.Н. Харитонов, доктор сельскохозяйственных наук, **Н.А. Зиновьева**, академик РАН

*Федеральный научный центр животноводства – ВИЖ имени академика Л.К. Эрнста,
142132, Московская область, Дубровицы, 60
E-mail: melnikovae@vij.ru*

Цель настоящего исследования заключалась в анализе эффективности селекции свиней материнских пород на основе их индексных оценок по комплексу признаков. Использованы базы данных фенотипов свиней крупной белой породы (n=23753) по воспроизводительным качествам (результаты опоросов), а также мясным и откормочным качествам потомков (n=34866) поголовья животных ООО «Селекционно-гибридный центр» (Воронежская обл., п. Верхняя Хава). В ходе работы были определены экономические значения признаков воспроизводства, мясных и откормочных качеств, рассчитаны их коэффициенты наследуемости. В результате исследования разработаны уравнения селекционных индексов племенной ценности животных: индекс продуктивности (SI₁) и общий индекс (SI₂) для комплексной оценки поголовья и последующего отбора особей для получения чистопородного или помесного потомства. Рекомендуется использовать индексные оценки на основе SI₁ для отбора свиноматок и хряков в рамках чистопородного разведения, и на основе SI₂ – для свиноматок, предназначенных для получения помесных ремонтных свинок F1.

**SELECTION INDICES USING IN DIFFERENT BREEDING SYSTEMS
OF MATERNAL PIG BREEDS**

Melnikova E.E., Nikitin S.A., Kabanov A.V., Sermyagin A.A., Kharitonov S.N., Zinovieva N.A.

*Federal Science Center for Animal Husbandry,
142132, Moskovskaya oblast, Dubrovitsy, 60
E-mail: melnikovae@vij.ru*

The purpose of this study was to evaluate the effectiveness of breeding maternal pig breeds based on their index scores for a set of characteristics. The study was conducted on the basis of a dataset of large white pigs phenotypes (n =23753) for reproductive traits (results of farrowing), as well as meat and fattening offspring qualities (n=34866), on the sample of animals belonging to ООО «SGC» (Voronezh region, Verkhnyaya Khava). The economic values of reproduction traits, meat and fattening qualities of pigs were determined, and the heritability coefficients of these traits were calculated in this study. As a result of the research, the equations of breeding indices of breeding value of animals (productivity index (SI₁) and General index (SI₂)) were developed for a comprehensive assessment of pigs and subsequent selection of individuals to obtain purebred or crossbred offspring. It is recommended to use SI₁-based index scores for selection of sows and boars in purebred breeding, and SI₂-based scores for sows intended for cross-breeding F1 replacement gilts.

Ключевые слова: свиньи, крупная белая порода, продуктивные признаки, наследуемость, селекционный индекс

Key words: pigs, Large White breed, productivity traits, heritability, selection index

Вопросам повышения рентабельности свиноводства во всем мире уделяется значительное внимание. В селекционные программы разведения свиней материнских пород включаются все новые показатели, проводятся исследования по оценке их экономической значимости, взаимосвязи с традиционными селекционными индикаторами, осуществляется поиск ДНК-маркеров, влияющих на их проявление [1-3]. Для получения оптимальной скорости генетического прогресса очень важно понимать направление и силу взаимосвязей между селекционными признаками, чтобы иметь возможность прогнозировать изменения в следующих поколениях по всему комплексу экономически значимых показателей и управлять этим процессом [1, 4, 5].

В недавнем прошлом отбор животных в материнских породах и линиях осуществлялся в основном в направлении повышения многоплодия свиней, однако доказано, что такой подход сопряжен с ростом числа мертворожденных или погибших в первые дни после

рождения поросят [4, 6, 7]. По данным К. Alves с соавторами (2018) скорость роста поросят в раннем возрасте сильно взаимосвязана с их массой при рождении. В работе доказывается, что индивидуальный вес поросенка при рождении значимо коррелирует с сохранностью и особенностями поведения. Высокая генетическая взаимосвязь выявлена между массой поросят при рождении, отъемным весом и скороспелостью [8], сохранностью при рождении, до отъема и общей сохранностью [9], в связи с чем предлагается рассматривать показатель индивидуальной массы поросят при рождении как один из селекционных признаков, включая оценку по нему в селекционные программы [8, 10]. В настоящее время, за редким исключением, племенные свиноводческие комплексы не регистрируют индивидуальную живую массу каждого рожденного поросенка, ограничиваясь взвешиванием всего гнезда. Ряд авторов [1, 4, 9, 11] подтверждает, что гибель поросят при рождении должна расцениваться как значимые экономические потери, по-

* Исследования выполнены в рамках государственного задания Минобрнауки России, тема: АААА-А19-119052190018-3

этому проводятся исследования по выявлению фиксированных факторов и генетических эффектов, влияющих на сохранность поросят, с целью разработки оптимальных моделей для оценки свиноматок по сохранности потомства при рождении и перед отъемом [9]. Взаимосвязь мясных и откормочных показателей свинок с их последующей продуктивностью в отношении количества живых рожденных поросят, полученных за первый и все опоросы, с признаками долголетия свиноматок исследовалась М. Sobczynska с соавторами (2013) на популяциях свиней пород крупная белая и ландрас [12]. Все это подтверждает важность поиска новых индикаторов, позволяющих достичь баланса между увеличением работ по сбору первичных данных в условиях племенных ферм и необходимостью использования этих параметров для эффективного ведения селекции.

Важным аспектом проведения комплексной оценки племенной ценности свиней материнских пород является то, что для разных пород (и даже разных популяций в рамках одной породы) структуры уравнений селекционного индекса, и тем более, весовые коэффициенты признаков в них, будут различаться [5, 11]. Так, для организации, занятой получением чистопородного племенного молодняка, структура индексного уравнения должна будет включать весь перечень селекционных признаков. В то время как племенные центры, использующие схемы получения помесных свинок (F1), вынуждены будут разделять селекцию свиней в рамках чистопородного и помесного воспроизводства.

В связи с этим, наше исследование имело целью разработку уравнения селекционного индекса племенной ценности по комплексу признаков, имеющих наибольший экономический вес, при разведении свиней материнских пород в рамках селекционно-гибридного центра, направленного на производство и чистопородного, и помесного молодняка.

Методика. Материалом исследования послужили данные первичного учета по признакам «количество живых рожденных поросят» (NBA), «вес гнезда при рождении» (BW), «вес гнезда при отъеме» (WW), «количество всех рожденных поросят» (TNB), «количество мертворожденных» (Stb), «сохранность поросят при рождении» (Sf), «скороспелость потомства» (возраст достижения 100 кг живой массы) ($Age100_{off}$) и «толщина шпика у потомства» над 6-7 грудными позвонками ($BF1_{off}$) у свиней крупной белой породы, разводимых в ООО «Селекционно-гибридный центр» (Воронежская обл., п. Верхняя Хава). Были проанализированы результаты опоросов свиноматок в период с 2008 по 2018 гг., общее число наблюдений составило 23753 записи, относящиеся к 7726 свиноматкам, имеющих в среднем 3,07 опороса. Оценку мясных и откормочных качеств потомков проводили на основе данных о фенотипах по этим признакам ($n=34866$), толщину шпика у свиней измеряли специалисты хозяйства с помощью УЗИ-сканера. Экономические веса признаков были рассчитаны на данных бухгалтерской отчетности организации. Признак «сохранность поросят» определяли как отношение NBA к TNB.

Оценку племенной ценности свиноматок и хряков-отцов (EBV) осуществляли на основе метода BLUP AM с привлечением информации о предках животных и учетом постоянных средовых эффектов (pe) в модели [13]. Оценку генетических вариантов и ковариант признаков проводили на данных, включающих результаты только первого опороса, по методу REML на основе процедуры Multi-trait в программе REMLF90 [14].

Результаты и обсуждение. При разведении чистопородного поголовья свиней на предприятиях, исполь-

зующих схемы получения межпородных помесей, существуют определенные различия в оценке племенного поголовья (и маток, и хряков), предназначенного для получения чистопородного или помесного потомства. Основные селекционные признаки для животных крупной белой породы – это показатели воспроизводства: NBA (или TNB), BW, NW, WW. В последнее время все большую значимость приобретает показатель сохранности поросят при рождении (Sf) и при отъеме, характеризующие одновременно и жизнеспособность потомства, и выровненность гнезда, и, отчасти, темперамент свиноматки.

К чистопородным свиноматкам, используемым для получения помесных свинок, наряду с уже перечисленными признаками, предъявляются требования по показателям скороспелости их потомства. То есть после отбора свиноматок для получения чистопородного ремонтного молодняка среди оставшихся первоопоросок и переоцененных взрослых свиноматок выбирают тех, которые характеризуются наиболее высокими показателями мясных и откормочных качеств потомства, для производства помесных свинок F1.

В исследовании были разработаны уравнения смешанных моделей, включающие фиксированные факторы, значимо влияющие на изменчивость признаков (NBA, TNB, Stb, Sf, BW), и произведен расчет оценок племенной ценности (EBV) свиней в выборке по формуле:

$$y = \mu + FYM + b_1 Par + animal + pe + e,$$

где y – вектор фенотипических показателей по признаку; FYM – классификационный фактор ферма-год-месяц опороса; Par – фиксированный эффект номера опороса свиноматки; animal – случайный эффект животного; pe – случайный эффект постоянно действующих факторов среды; e – остаточные эффекты модели; b_1 – коэффициент линейной регрессии.

Для признака WW:

$$y = \mu + FYM + b_1 Par + b_2 PLP + animal + pe + e,$$

где PLP – регрессионный фактор продолжительности подсосного периода; b_1 и b_2 – коэффициенты линейной регрессии.

Для признаков скороспелости и откормочных качеств ($Age100_{off}$ и $BF1_{off}$):

$$y = \mu + FYM + Sex + b_3 W + animal + e,$$

где Sex – классификационный фактор «пол животного», b_3 – коэффициент линейной регрессии признака на живую массу животного, W – регрессионный фактор «вес животного».

В ходе исследования были определены коэффициенты наследуемости. Признаки воспроизводства у свиней характеризовались относительно невысокой наследуемостью ($h^2=0,111-0,134$ для NBA, TNB, BW, Stb, Sf и 0,03 для WW), что подтверждает их значительную обусловленность средовыми факторами. Это согласуется с результатами многих аналогичных исследований [1, 5, 9, 11, 15]. Для признаков скороспелости и толщины шпика h^2 составил 0,332 и 0,410 соответственно.

Один из лимитирующих факторов при оценке генетических параметров популяций по признакам воспроизводства и при разработке индексов племенной ценности свиней заключается в том, что большая часть селекционных признаков, оцениваемых для материнских пород, является низко наследуемыми ($h^2 < 0,2$), ха-

Табл. 1. Показатели генетической изменчивости и взаимосвязи анализируемых признаков в оцениваемой выборке*

Признак	BF1	Age100	NBA	Sf	WW
BF1 _{off}	3,177				
Age100 _{off}	-0,12	23,15			
NBA	0,00	+0,02	5,579		
Sf	+0,02	0,00	+0,22	0,003	
WW	-0,01	0,00	-0,03	0,00	2,634

*Генетические варианты признаков – на диагонали, генетические коэффициенты корреляции признаков – ниже диагонали

рактически незначительный ожидаемый эффект селекции по каждому из них. Однако даже незначительный сдвиг генетических качеств особей в сторону повышения потенциала по таким признакам должен приветствоваться [1, 5, 7].

Первым этапом при определении весовых коэффициентов в общем уравнении индекса служит расчет уровней фенотипической и генетической изменчивости и взаимосвязи тех признаков, которые включаются в структуру разрабатываемого уравнения. Так, в нашем исследовании в комплекс основных селекционных признаков вошли NBA, Sf, WW – для оценки племенной ценности свиноматок, включенных в программу селекции на получение генетического прогресса в чистопородном поголовье, а также BF1_{off}, Age100_{off} – для животных, задействованных в схеме получения межпородных помесей F1. Для определения вклада каждого признака в общую оценку были рассчитаны значения фенотипических и генетических вариантов и коварианс признаков, а также показатели генетической взаимозависимости (коэффициенты корреляции) между ними (табл. 1).

Экономические значения для ряда материнских признаков у свиней отражают изменение прибыли на единицу изменения каждого признака, то есть являются коэффициентами регрессии прибыли на признак. Экономическое значение признака «количество живых рожденных поросят» (ЭЗ_{NBA}), характеризующее увеличение прибыли при получении одного дополнительного поросенка, рожденного живым, было рассчитано следующим образом:

$$\text{ЭЗ}_{NBA} = \text{ОЗС} / \text{ОКП},$$

где ОЗС – общие затраты на свиноматку в год, руб.; ОКП – общее количество живых рожденных поросят на свиноматку в год, гол.

Корректировка на повышение затрат из-за увеличения молочности свиноматки не могла быть произведена в связи с применяемой технологией в хозяйстве по пересортировке гнезд и выравниванию количества выкармливаемых ею поросят.

Экономический вес показателя «сохранность поросят при рождении» (ЭЗ_{Sf}) был рассчитан по формуле:

$$\text{ЭЗ}_{Sf} = 31П * \text{СКМП} + \text{ЗУМП} * \text{СКМП} / 1 - \text{ДМП},$$

где 31П – затраты на получение 1 поросенка, руб./гол.; СКМП – среднее количество мертворожденных поросят, гол.; ЗУМП – затраты на утилизацию мертворожденного поросенка, руб./гол.; ДМП – доля мертворожденных от числа живых рожденных поросят.

Потребность свиноматки в энергии во время беременности для производства одного поросенка по литературным данным [4] составляет 0,16 МДж обменной энергии. При 69% эффективности использования энергии корма [16], продолжительности беременности 114-115 дней, концентрации энергии в корме 11 МДж ОЭ и цене корма 65-70 руб. значение затрат на получение одного поросенка в среднем равно 175 руб. В хозяйстве принята система утилизации мертворожденных и умерших поросят посредством кремации, затраты на 1 кг составляют 62 руб. при средней массе мертворожденного поросенка 1 кг.

Экономическое значение показателя «молочность свиноматки», определяемого как масса гнезда выкармливаемых ею поросят в возрасте 21 день, было определено следующим образом. Были рассчитаны значения скорректированного веса гнезда при отъеме на основе уравнений регрессии. Корректировку проводили на продолжительность подсосного периода (b=2,836 кг/день) и на количество отнятых поросят (b=6,969 кг/гол.). На основе значений скорректированного показателя «молочность свиноматки» был рассчитан показатель «дней для достижения средней массы каждого поросенка 80 кг». Исходя из затрат (65 руб.) на содержание одного животного в конце периода дорастивания до 100 кг, определили затраты на необходимый период времени для достижения требуемого веса. Был найден коэффициент линейной регрессии затрат (на время дорастивания поросят) на молочность свиноматки. Коэффициент составил b= -51 руб./кг. Рассчитанные экономические веса признаков приведены в таблице 2.

Исходя из условий получения прибыли в хозяйстве за счет реализации туш свиней и реализации племенного молодняка была выбрана структура индексов: индекс продуктивности (SI₁): NBA, Sf, WW; общий индекс (SI₂): NBA, Sf, WW, Age100_{off}, BF1_{off}.

Для расчета общего индекса племенной ценности свиней необходимо было рассчитать экономические значения показателей мясных и откормочных качеств. Так, значение показателя BF1_{off} (ЭЗ_{BF1_{off}}), определяющего сорт туши, реализуемой для перерабатывающих предприятий, было рассчитано по формуле:

$$\text{ЭЗ}_{BF1_{off}} = \text{ЦТ1С} - \text{ЦТ3С} / \text{ABF1} - \text{ABF3},$$

где ЦТ1С – цена туши 1 сорта, руб./шт.; ЦТ3С – цена туши 3 сорта, руб./шт.; ABF1 – средняя толщина шпика в тушах 1 сорта, мм; ABF3 – средняя толщина шпика в тушах 3 сорта, мм.

Цена за 1 кг туши 1 сорта средней массой 80 кг и толщиной шпика до 30 мм составляет 160 руб., в то

Табл. 2. Экономическое значение признаков в расчете на единицу измерения и на генетическое стандартное отклонение

Признак	Экономическое значение	
	на единицу измерения	на 1 σ _г *
NBA, гол.	1712	4040,3
Sf, %	3200	192
WW, кг	51	82,6
BF1 _{off} , мм	320	569,6
Age100 _{off} , дн.	780	3751,8

*σ_г – генетическое стандартное отклонение.

Табл. 3. Средние показатели племенной ценности групп свиноматок и хряков по комплексу (SI₁ и SI₂) и отдельным признакам (EBV)

EBV по признакам	Отобранная группа					
	свиноматки				хряки	
	10% лучших по SI ₁	50% лучших по SI ₁	лучшие по SI ₂ после отбора по SI ₁ (SI ₂ > 0)	кандидаты на выбраковку (SI ₂ < 0)	все	10% лучших по SI ₁
n, гол.	346	1643	156	1016	206	21
NBA	+1,40	+0,59	-0,17	-0,64	0,00	+1,95
BW	+1,38	+0,65	+0,03	-0,49	0,00	+1,89
Stb	-0,07	-0,09	+0,01	-0,09	0,00	-0,06
TNB	+1,24	+0,45	-0,18	-0,75	-0,01	+1,85
Sf	+0,01	+0,01	0,00	+0,01	0,00	+0,01
WW	+0,01	+0,11	-0,01	+0,18	-0,01	+0,27
BF1 _{off}	-0,12	-0,14	-1,49	+0,03	-0,03	+0,39
Age100 _{off}	-0,54	-0,44	-0,28	-0,97	-0,02	+0,88
SI ₁	+4334,0	+1839,9	-537,6	-1966,4	-1,37	+6210,6
SI ₂	+4438,5	+2066,0	+492,6	-1967,6	-	-

время как для туши 3 сорта с толщиной шпика 40 мм и более – 120 руб. Таким образом, экономический вес признака «ЭЗ_ BF1_{off}» составил 320 руб./мм. За экономическое значение признака «скороспелость» были взяты затраты на содержание 1 гнезда (в среднем 12 поросят) в конце периода откорма, которые составляли 780 руб. (65 руб./сут.*12 гол.).

Итоговое уравнение селекционного индекса продуктивности SI₁ :

$$SI_1 = 3091,5NBA + 1583,2Sf + 8,4WW$$

Индекс продуктивности предназначен для оценки хряков-производителей и маточного поголовья свиней с целью отбора лучших особей для производства следующей генерации чистопородных животных.

Общий индекс, разработанный для оценки и отбора свиноматок для получения помесных свинок F1, имел вид:

$$SI_2 = 3082,3NBA + 1585,9Sf + 10,2WW - 11,2Age100_{off} - 690,2BF1_{off}$$

На основе уравнений была проведена оценка маточного поголовья 2015-2018 гг. рождения (2815 свиноматок по собственной продуктивности и потомству, средняя достоверность оценок (Rel) – 46,6%) и хряков (206 голов, со средней достоверностью 47,7%, в том числе 81 хряк с достоверностью оценки Rel > 60%) основного стада (табл. 3). Выборка была сформирована для животных, которые, вероятно, еще находятся в стаде, поскольку в массиве данных отсутствует информация о выбытии.

В свиноводстве совершенствование разводимого поголовья в более равномерном соотношении, по сравнению, например, с молочным скотоводством, обуславливается как качеством хряков-производителей, так и генетической ценностью свиноматок. Это подтверждают средние значения EBV и SI_(1 и 2) в этих группах. Обращает на себя внимание тот факт, что лучшие по индексным оценкам группы особей (и хряки, и свиноматки) характеризуются не только лучшими средними показателями

по признакам, включенным в уравнение, но и по коррелирующим с ними (Stb, TNB). По признакам BF1_{off} и Age100_{off} лидирующие группы особой характеризуются далеко не лучшими показателями, что подтверждает случайный характер отбора животных по этим признакам (при селекции на основе SI₁), и свидетельствует о незначительной, возможно отрицательной, взаимосвязи этих групп показателей.

В нашем исследовании были проанализированы взаимосвязи признаков собственной мясной и откормочной продуктивности свиноматок и их воспроизводительных качеств по результатам первого опороса. Генетическая корреляция между признаками «скороспелость» и «возраст первого опороса» составила r = +0,181, что свидетельствует о том, что наиболее скороспелые свинки, как правило, являются и наиболее скороспелыми в отношении воспроизводства, то есть имеют в среднем более ранний возраст первого опороса. Анализ показателей откормочной продуктивности свинок в возрасте достижения ими 100 кг живой массы (толщина шпика и глубина мышцы) показали невысокий уровень сопряженности с изменчивостью признака NBA по результатам первого опороса (r = -0,10...+0,10), подтверждая высказанную ранее гипотезу, а также согласуясь с исследованиями Sobczynska M. С соавторами [12].

Анализируя структуру исследуемого поголовья, важно отметить, что от группы лучших по SI₁ свиноматок было получено 328 дочерей, что составило примерно 20% от всех отобранных потомков. От группы лучших хряков в основное стадо было переведено 596 дочерей (8,5% от всех оцениваемых), среднее количество потомков составило 28,4 дочери от одного хряка (при среднем количестве по всем производителям – 34 гол.), что характеризует менее интенсивное использование этих животных в процессе воспроизводства. Приведенные значения свидетельствуют о нерациональной организации системы подбора генетических ресурсов, что связано с применением недостаточно объективных селекционных критериев.

На основе полученных результатов рекомендуется для повышения эффективности мероприятий по отбору

свиноматок и хряков использовать их оценки племенной ценности, объединенные на основе метода построения селекционного индекса в комплексный показатель, учитывающий «вес» каждого признака и позволяющий ранжировать поголовье в соответствии с целями селекции. Для корректировки экономических весовых коэффициентов каждого признака и самой структуры селекционного индекса необходимо обладать подробной и объективной информацией об особенностях технологического процесса в хозяйстве, основных затратах и источниках прибыли, проанализировать пути повышения рентабельности производства, учитывать условия реализации как товарной, так и племенной продукции. Ввиду наличия нежелательных генетических взаимосвязей между признаками мясной и откормочной продуктивности с показателями воспроизводительных качеств свиней крупной белой породы, при отборе особей для получения чистопородного потомства структуру селекционного индекса целесообразно ограничить исключительно признаками, характеризующими продуктивность свиноматок (воспроизводительные качества). В тоже время для отбора животных на получение помесных свинок F1 в индексной оценке следует учитывать и показатели мясных и откормочных качеств потомства.

Литература

- Munoz M., Rodriguez M. C., Garcia-Cortes L. A., Gonzalez A., Garcia-Casco J. M., Sillio L. Direct and maternal additive effects are not the main determinants of Iberian piglet perinatal mortality // *J. Animal Breeding and Genetics*. – 2017. – №134(6) – P. 512-519.
- Костюнина О.В., Мельникова Е.Е., Форнара М.С., Бардуков Н.В., Сермягин А.А., Врем Г., Зиновьева Н.А. Ассоциации полиморфизма WUR10000125 с мясными, откормочными и воспроизводительными качествами у свиней пород ландрас и крупная белая // *Сельскохозяйственная биология*. – 2019. – Т.54 (4). – С. 713-722.
- Мельникова Е.Е., Бардуков Н.В., Форнара М.С., Костюнина О.В., Сермягин А.А., Врем Г., Зиновьева Н.А. Влияние генотипов по днк-маркерам на воспроизводительные качества свиней пород крупная белая и ландрас // *Сельскохозяйственная биология*. – 2019. – Т.54 (2). – С. 227-238.
- Amer P.R., Ludemann C.I., Hermes S. Economic weights for maternal traits of sows, including sow longevity // *J. Anim. Sci.* – 2014. – №92(12) – P.5345-5357.
- Мельникова Е.Е., Сермягин А.А., Харитонов С.Н., Конте А.Ф., Требунских Е.А., Зиновьева Н.А. Выбор селекционных критериев для определения комплексной племенной ценности свиней крупной белой породы в условиях закрытой популяции // *Свиноводство*. – 2019. – №1. – С. 13-17.
- Pfeiffer C., Schodl K., Fuerst-Walltl B., Willam A., Leeb C., Winckler C. Developing an optimized breeding goal for Austrian maternal pig breeds using a participatory approach // *J. Central European Agriculture*. – 2018. – №19(4). – P. 858-864.
- Мельникова Е.Е. Оценка влияния генетических и средовых факторов на проявление многоплодия и сохранности поросят при рождении у свиней крупной белой породы // *Современные проблемы в животноводстве: состояние, решения, перспективы: Материалы всероссийской научно-практической конференции*. – Краснодар, Краснодарский ЦНТИ филиал ФГБУ «РЭА» Минэнерго России, 2019. – С. 161-169.
- Alves K., Schenkel F.S., Brito L.F., Robinson A. Estimation of direct and maternal genetic parameters for individual birth weight, weaning weight, and probe weight in Yorkshire and Landrace pigs // *J. Anim. Sci.* – 2018. – №96(7) – P.2567-2578.
- Knol E.F., Ducro B.J., van Arendonk J.A.M., van der Lende T. Direct, maternal and nurse sow genetic effects on farrowing-, pre-weaning- and piglet survival // *Livestock Production Science*. – 2002. – №73. – P. 153-164.
- Arango J., Misztal I., Tsuruta S., Culbertson M., Holl J.W., Herring W. Genetic study of individual preweaning mortality and birth weight in Large White piglets using threshold-linear models // *Livestock Science*. – 2006. – №101(1-3). – P. 208-218.
- Cheng J., Newcomm D.W., Schultz M.M. Evaluation of Current US Swine Selection Indexes and Indexes Designed for Chinese Pork Production // *J. Anim. Sci.* – 2018. – Vol. 96. – Suppl. S2. – P. 11-12
- Sobczynska M., Blicharski T., Tyra M. Relationships between longevity, lifetime productivity, carcass traits and conformation in Polish maternal pig breeds // *J. Anim. Breed. Genet.* – 2013. – №11. – P.1-11.
- Mrode R.A. Linear models for the prediction of animal breeding values. 3rd Edition. – CABI, 2014. – 360 p.
- BLUPF90 Family of Programs [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <http://nce.ads.uga.edu/wiki/doku.php>
- Ye J., Tan C., Hu X., Wang A., Wu Z. Genetic parameters for reproductive traits at different parities in Large White pigs // *Journal of Animal Science*. – 2018. – №96(4). – P. 1215-1220.
- Нормы потребностей молочного скота и свиней в питательных веществах // Под ред. Некрасова Р.В., Головина А.В., Махаева Е.А. – М.: Российская академия наук, 2018. – 290 с.

Поступила в редакцию 22.04.20

После доработки 27.04.20

Принята к публикации 30.04.20

ПОПУЛЯЦИОННО-ГЕНЕТИЧЕСКИЕ ВЗАИМОТНОШЕНИЯ МЕЖДУ МУФЛОНОМ И ПОРОДАМИ ДОМАШНЕЙ ОВЦЫ ПО ВЫСОКО ПОЛИМОРФНЫМ ГЕНОМНЫМ ЭЛЕМЕНТАМ

В.И. Глазко^{1,2}, иностранный член РАН, **Г.Ю. Косовский**², доктор биологических наук,
Т.А. Эркенов¹, кандидат сельскохозяйственных наук, **Т.Т. Глазко**^{1,2}, доктор сельскохозяйственных наук,
Х.А. Амерханов¹, академик РАН

¹Российский государственный аграрный университет — МСХА имени К.А. Тимирязева,
127550, Москва, ул. Тимирязевская, 49

²Научно-исследовательский институт пушиного звероводства и кролиководства имени В.А. Афанасьева,
140143, Московская область, Раменский район, п. Родники, ул. Трудовая, 6
E-mail: tglazko@rambler.ru

Выполнен сравнительный анализ популяционно-генетических структур представителей трех аборигенных пород овец (калмыцкая, эдильбаевская, карачаевская) и близкородственного дикого вида европейского муфлона с использованием полилокусного генотипирования по высоко полиморфным фрагментам геномной ДНК, фланкированным инвертированными повторами микросателлитных локусов и участка длинного концевой повтора эндогенного ретровируса BERV k1 (ISSR-PCR и IRAP-PCR маркеры). Выявлена повышенная генетическая гетерогенность по ISSR-PCR и IRAP-PCR маркерам у самцов по сравнению с самками у всех исследованных групп животных, выделены спектры продуктов амплификации, в которых присутствуют пороодо- и видоспецифичные геномные фрагменты ДНК, и генотипирование которых может способствовать контролю консолидированности пород и внутривидовых групп. Обнаружено, что представители европейского муфлона отличались от домашней овцы повышенным полиморфизмом по фрагментам геномной ДНК, фланкированным инвертированным повтором участка эндогенного ретровируса BERV k1, что может свидетельствовать о вовлечении мобильных генетических элементов в популяционно-генетическую дифференциацию домашних и близкородственных диких видов.

POPULATION-GENETIC RELATIONSHIP BETWEEN MOUFLON AND DOMESTIC SHEEP BREEDS BY HIGHLY POLYMORPHIC GENOMIC ELEMENTS

Glazko V.I.^{1,2}, **Kosovsky G.Yu.**², **Erkenov T.A.**¹, **Glazko T.T.**^{1,2}, **Amerkhanov Kh.A.**¹

¹Russian state agrarian University — Moscow agricultural Academy named after K.A. Timiryazev,
127550, Moscow, Timiryazevskaya ul., 49

²Research Institute of Fur Farming and Rabbit Breeding Industries named after V.A. Afanasyev,
140143, Moskovskaya oblast, Ramenskiy raion, p. Rodniki, ul. Trudovaya, 6
E-mail: tglazko@rambler.ru

The comparative analysis of population-genetic structures of of three native breeds of sheep representatives (Kalmyk, Edilbaev, Karachay breeds) and closely related wild species of European mouflon using polylocus genotyping on highly polymorphic fragments of genomic DNA flanked by inverted repeats of microsatellite loci and the long terminal repeat of endogenous retrovirus BERV k1 (ISSR-PCR and IRAP-PCR markers). The increased genetic heterogeneity of ISSR-PCR and IRAP-PCR markers in males compared to females in all studied animal groups was revealed, the breed and species specific spectra of amplification products were identified, genotyping of which can contribute to the control of the consolidation of breeds and intra-breed groups. It was found that representatives of the European mouflon differed from domestic sheep by increased polymorphism in fragments of genomic DNA flanked by inverted repeats of the endogenous retrovirus BERV k1, which may indicate the involvement of mobile genetic elements in the population-genetic differentiation of domestic and closely related wild species.

Ключевые слова: геномное сканирование, ISSR-PCR маркеры, IRAP-PCR маркеры, микросателлиты, ретротранспозоны, муфлоны, овцы, domestикация

Key words: genomic scanning, ISSR-PCR markers, IRAP-PCR markers, microsatellites, retrotransposons, mouflons, sheep, domestication

Современные проблемы животноводства в условиях изменения климата, урбанизации, сокращения плодородных почв тесно связаны с необходимостью увеличения адаптивного потенциала животных сельскохозяйственных видов в целях обеспечения устойчивого использования их генетических ресурсов. Один из приемов этого увеличения — использование гибридизации сельскохозяйственных животных с близкородственными дикими видами. Для отечественного овцеводства резервом адаптивного потенциала может послужить такой предковый вид овец как муфлон. Для оценки генетических взаимоотношений между видами в настоящем исследовании выполнены сопоставления генетической структуры муфлона с группами овец, типичными для степной (калмыцкая, эдильбаевская) и горной (карачаевская порода) зоны обитания.

Проблемы механизмов domestикации рассматриваются достаточно давно, со времен начала развития аграрной цивилизации, что отражено во многих источниках. Некоторые исследователи, в частности, Мелинда Зедер, продолжают традиции Ч. Дарвина и Н.И. Вавилова и рассматривают процесс domestикации как модель для расширения концептуальной основы эволюционной биологии [1, 2]. Способность к domestикации существенно зависит от пластичности поведенческих, морфологических или физиологических характеристик видов, которая позволяет им успешно адаптироваться к совместно создаваемым нишам [3]. Имеются данные о том, что социо-культурные особенности ниш, созданные человеком, вносят относительно большой вклад во внутривидовую дифференциацию культурных растений и domestичированных животных по сравнению

с экологическими факторами [4]. Совокупность ассоциированных характеристик, известная как «синдром одомашнивания», может формироваться и в результате эпигенетической изменчивости, которая либо способствует расширению, либо ограничивает эволюционный потенциал организма [5]. Наряду с множеством работ, использующих для выявления геномных «подписей» доместикации полногеномное секвенирование и сравнительный анализ распределения мононуклеотидных полиморфизмов (Single Nucleotide Polymorphisms – SNP), изменчивости по копииности коротких фрагментов геномной ДНК (Copy Number Variability – CNV) [6, 7], имеются и другие подходы для таких сравнений. Учитывая тот факт, что большинство геномов млекопитающих и высших растений на половину представлено диспергированными повторами, дополнительным инструментом к полногеномному секвенированию является полилокусное генотипирование (геномное сканирование) с использованием в качестве геномных «якорей» инвертированных повторов микросателлитов – ISSR маркеры (Inter-Simple Sequence Repeat) или IRAP маркеры (Inter-Retrotransposon Amplified Polymorphism) [8-10]. Геномное сканирование может варьировать от использования пары сотен маркеров до истинного геномного сканирования путем полного секвенирования геномов [11, 12].

Целью настоящей работы является сравнение результатов полилокусного генотипирования по ISSR-PCR и IRAP-PCR маркерам представителей вида муфлон и трех аборигенных пород овец (калмыцкая, эдильбаевская, карачаевская).

Методика. Объектом исследования служили образцы крови европейских муфлонов, полученных от взрослых особей 2011-2016 г. рождения – 5 самцов и 12 самок, 2017 г. рождения – 5 самцов и 4 самки, находящихся на полувольном содержании в Тверской области. Пробы крови брали из яремной вены. В анализ также включены образцы крови эдильбаевской породы овец двух типов: бирликского (20 гол.) и суюндукского (16 гол.) (Волгоградская область); калмыцкой (28 гол.) (Республика Калмыкия) и карачаевской (18 гол.) (Карачаево-Черкесская Республика) пород.

Геномную ДНК выделяли с помощью коммерческого набора реагентов «ДНК-Экстрен-1» (Синтол, Россия) в соответствии с рекомендациями производителя. Все использованные праймеры были синтезированы фирмой Синтол, Россия. В качестве праймеров для полилокусного генотипирования по ISSR-маркерам применялись участки следующих микросателлитов: (AGG)₆G, (AG)₉C, (CAC)₇T, (CTC)₆C, (CTC)₆G и (TGC)₆C; по IRAP маркерам: фрагмент длинного концевого повтора эндогенного ретровируса BERV k1 (5' TATCAGGCCTCTCCGATG3'), впервые описанный в геноме крупного рогатого скота [13, 14].

Полимеразную цепную реакцию (ПЦР) проводили в объеме 20 мкл с использованием коммерческого набора реагентов ПЦР-РВ (Синтол, Россия) по методу [8]. Состав реакционной смеси: ДНК – 2 мкл (около 150 нг), дезоксинуклеозидтрифосфаты (2,5 мМ) – 2 мкл, 10-кратный ПЦР буфер – 2 мкл, MgCl₂ (25 мМ) – 2 мкл, Taq ДНКполимераза с ингибирующими активностью фермента антителами (5 Е/мкл) – 0,2 мкл, праймер (10 пкмоль/реакцию) – 2 мкл, деионизированная вода – 10 мкл. Амплификация выполнялась по следующей программе: первичная денатурация (t = 94 °C, 2 мин); денатурация (t = 94 °C, 30 с), отжиг (t = 55 °C, 30 с), элонгация (t = 72 °C, 2 мин) – 35 циклов; финальная элонгация (t = 72 °C, 10 мин). ПЦР проводили на амплификаторе «Терцик» (ДНК-технологии, Россия). Продукты амплификации

Табл. 1. Общие характеристики спектров продуктов амплификации (ампликонов), полученных при использовании в качестве праймеров участков различных микросателлитных локусов, суммарно у трех пород овец и муфлонов

Праймер	Количество ампликонов в спектрах	Граница длин локусов спектра, баз	Количество внутривидовых полиморфных локусов	
			в абсолютном выражении	% от общего числа ампликонов
(AG) ₉ C	17	1700-390	17	100
(AGG) ₆ G	13	2210-390	6	46.2
(TGC) ₆ C	21	2770-360	19	90.5
(CAC) ₇ T	9	1780-460	6	66.6
(CTC) ₆ G	10	1700-360	6	60,0
(CTC) ₆ C	15	2700-500	14	93.3

разделяли в горизонтальном 1,5%-ном агарозном геле в TBE-буфере. Окрашивание гелей проводили бромистым этидием концентрацией 0,5 мкг/мл. Фрагменты ДНК визуализировали в УФ свете при помощи трансиллюминатора УВТ-1 (Биоком, Россия) с использованием системы геле-документации VITRAN-PHOTO (Биоком, Россия). Размеры фрагментов ДНК определяли при помощи маркера молекулярных масс 100 bp+1,5 Kb+3 Kb (12 фрагментов от 100 до 3000 bp) M27 (СибЭнзим, Россия). Для обработки полученных данных использовались программы Microsoft Excel, TFGPA. Полиморфизм каждого ДНК локуса оценивали по наличию/отсутствию ампликона соответствующей длины в спектрах с использованием компьютерной программы TFGPA. Расчет индекса PIC (Polymorphic Information Content) выполнялся по формуле для диаллельных локусов, для которых PIC = 2f(1-f), где f – частота одного из двух аллелей. Поскольку используемые маркеры ISSR-PCR и IRAP-PCR имеют доминантный характер проявления по присутствию продукта амплификации, f рассчитывали по формуле: f = √R, где R – частота встречаемости животных, у которых в спектрах продуктов амплификации отсутствовал фрагмент ДНК данной длины. Значение R рассматривалось как доля гомозигот по рецессивному аллелю.

Результаты и обсуждение. Выполнен сравнительный анализ спектров продуктов амплификации, полученных при использовании в качестве праймеров в ПЦР 6-ти участков микросателлитных локусов у трех пород овец и муфлонов. Полученные данные по характеристикам спектров представлены в табл. 1.

Среди выявленных 85 локусов (фрагментов геномной ДНК) наибольшее число консервативных (неполиморфных) участков наблюдается в спектрах ампликонов праймеров (CAC)₇T, (CTC)₆G и (AGG)₆G. В спектрах праймера (AGG)₆G обнаруживается самое большое число консервативных участков у всех исследованных групп животных (семь), что может быть обусловлено особенностью этого микросателлита, который, с одной стороны, предрасположен к формированию вторичных структур ДНК (G4 квадруплексы), а с другой – является частью консервативного теломерного повтора (5' TTAGGG3').

Усредненные значения по всем локусам полиморфного информационного содержания (PIC) в каждом из спектров продуктов амплификации, полученных с использованием в качестве праймеров участков различ-

Табл. 2. PIC спектров продуктов амплификации, полученных с использованием в качестве праймеров участков различных микросателлитов у муфлонов и пород овец

Праймер	Среднее значение PIC			
	муфлон	карачаевская порода	калмыцкая порода	эдильбаевская порода
(AG) ₉ C	0,287	0,261	0,314	0,271
(AGG) ₆ G	0,349	0,193	0,137	0,300
(TGC) ₆ C	0,196	0,320	0,347	0,259
(CAC) ₇ T	0,206	0,239	0,357	0,268
(CTC) ₆ G	0,394	0,414	0,385	0,383
(CTC) ₆ C	0,201	0,312	0,401	0,256
В среднем	0,272	0,289	0,323	0,271

ных микросателлитов у исследованных групп животных, представлены в таблице 2.

Сходные значения полиморфизма у всех групп исследованных животных обнаруживаются в спектрах праймеров (AG)₉C, (CTC)₆G и (CAC)₇T. Как видно из таблицы, муфлоны существенно отличаются от овец пониженным полиморфизмом спектров праймера (TGC)₆C и повышенным – праймера (AGG)₆G. Суммарно полиморфизм спектров ISSR-PCR маркеров заметно выше у овец калмыцкой породы.

На основании расчета генетических расстояний [15] по частотам встречаемости фрагментов геномной ДНК разной длины суммарно в спектрах ампликонов, полученных с использованием в качестве праймеров фрагментов микросателлитных локусов, построена дендрограмма, отражающая популяционно-генетические взаимосвязи по этим геномным участкам между исследованными группами животных (рис.1). При построении дендрограммы у муфлонов, калмыцкой и эдильбаевской пород овец учитывали подразделенность по полу, карачаевская порода была представлена толь-

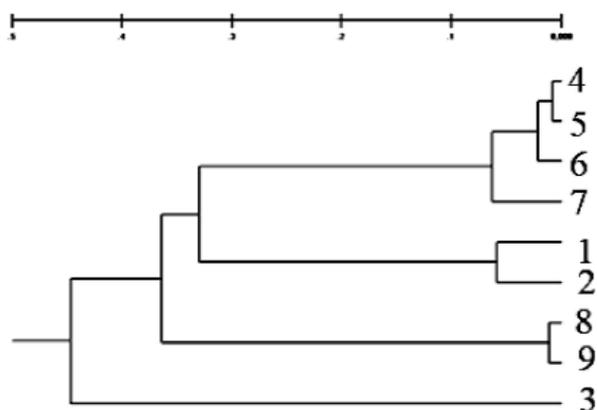


Рис. 1. Дендрограмма генетических взаимоотношений, построенная на основании расчета генетических расстояний по ISSR-PCR маркерам, между группами исследованных животных: 1 – калмыцкие бараны, 2 – калмыцкие овцематки; 3 – карачаевские овцематки; 4 – эдильбаевские овцематки бирликского типа, 5 – эдильбаевские овцематки суондукского типа, 6 – эдильбаевские бараны суондукского типа, 7 – эдильбаевские бараны бирликского типа; 8 – самки муфлона, 9 – самцы муфлона.

Табл. 3. PIC и доля полиморфных локусов (P) в спектрах продуктов амплификации, полученных с использованием в качестве праймера участка длинного концевго повтора эндогенного ретровируса BERV k-1 у муфлонов и пород овец

Группа животных	BERV k-1	
	PIC	P, %
Калмыцкая порода	0,099	21
Карачаевская порода	0,130	29
Эдильбаевская порода	0,152	36
Муфлон	0,290	75

ко овцематками. Для эдильбаевской породы отдельно рассматривали два внутривидовых типа – бирликский и суондукский. Дифференциация этих двух внутривидовых типов по ISSR-маркерам указывает на наличие выраженных отличий генетических структур в популяции эдильбаевских овец.

Одной из причин выраженной дифференциации типов эдильбаевской овцы может быть то, что исходно племенные заводы отличались экологической обстановкой. Племя завод «Бирлик» расположен в Джангалинском районе, а ПК «Макаш», из которого были получены образцы крови овец суондукского типа, находится в Курмангазинском районе, где располагается Азгирский ядерный полигон. Дифференциация пород овец по всем праймерам имела общую закономерность, и ни в одном случае исходные популяции овец, то есть калмыцкие (по сравнению с эдильбаевскими) и карачаевские, не объединялись в один кластер. Овцематки двух типов эдильбаевской породы формируют общий подкластер, в отличие от баранов этих типов, которые, по сравнению с самками, больше отличаются друг от друга. Калмыцкая порода объединяется в общий более крупный подкластер, с обоими типами эдильбаевской овцы, что соответствует истории происхождения этих пород.

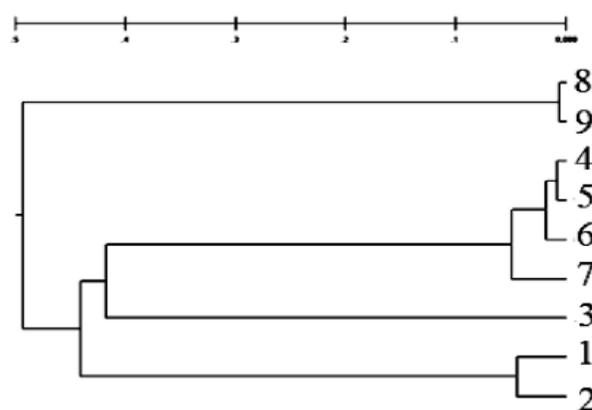


Рис. 2. Дендрограмма генетических взаимоотношений, построенная на основании расчета генетических расстояний суммарно по ISSR-PCR и IRAP-PCR маркерам между группами исследованных животных: 1 – калмыцкие бараны, 2 – калмыцкие овцематки; 3 – карачаевские овцематки; 4 – эдильбаевские овцематки бирликского типа, 5 – эдильбаевские овцематки суондукского типа, 6 – эдильбаевские бараны суондукского типа, 7 – эдильбаевские бараны бирликского типа; 8 – самки муфлона, 9 – самцы муфлона.

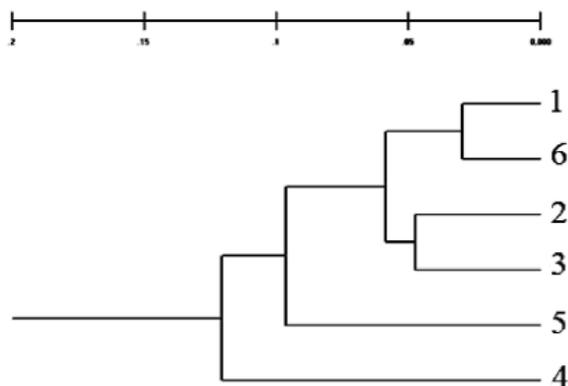


Рис. 3. Дендрограмма генетических взаимоотношений, построенная на основании расчета генетических расстояний суммарно по ISSR-PCR и IRAP-PCR маркерам, между группами исследованных животных:
 1 – самки муфлона 2011-2013 гг.,
 2 – самки муфлона 2014-2015 гг.,
 3 – самки муфлона 2016-2017 гг.,
 4 – самцы муфлона 2011-2013 гг.,
 5 – самцы муфлона 2014-2015 гг.,
 6 – самцы муфлона 2016-2017 гг.

Муфлоны формируют на дендрограмме автономный субкластер. Достаточно неожиданным является то, что эдильбаевская, калмыцкая породы и муфлон образуют общий кластер, а карачаевская овца занимает автономное положение.

В спектрах праймера длинного концевго повтора эндогенного ретровируса BERV k-1 выделено 14 фрагментов ДНК, фланкированных его инвертированным повтором. По спектрам праймера BERV k-1 не обнаруживается выраженной межпородной дифференциации. Отмечаются относительно низкие значения полиморфизма у калмыцких овец по сравнению с эдильбаевскими и повышенные – у муфлонов (табл. 3).

Наибольшие отличия по частоте встречаемости фрагментов спектра праймера BERV k-1 наблюдались по локусам с длинами 540 и 860 п.о. Первый был типичен для группы эдильбаевских овец, второй – калмыцких. Муфлоны оказались наиболее полиморфными по праймеру BERV k-1, для них характерны «тяжелые» зоны (1500 п.о.) и «легкие» (200-210 п.о.), которых нет у домашних пород. Только у муфлона и карачаевской овцы присутствует зона в 250 п.н. У овец зарегистрированы ампликоны длиной в 700-650 п.о, которых нет у муфлона. Объединение IRAP и ISSR маркеров позволило построить суммарную дендрограмму (рис. 2), на которой отдельно выделяется кластер муфлонов. Подкластер с домашними породами в некоторых аспектах дифференцировался также, как и на рисунке 1: карачаевские овцы автономны, отдельно локализируются подкластеры калмыцкой и эдильбаевской пород.

Для определения наличия не только половых, но и возрастных отличий, муфлоны были поделены на возрастные группы: в первую вошли животные, рожденные в период с 2011-2013 гг., во вторую – 2014-2015 гг., в третью – 2016-2017 гг. На дендрограмме (рис. 3) автономное положение заняли самцы 2011-2013 гг. и 2014-2015 гг. рождения, причем оказалось, что самый консолидированный подкластер состоит из самых юных самцов и самых «возрастных» самок. Самки 2014-15 и 2016-17 гг. рождения сформировали собственный отдельный подкластер. Наблюдаемая дифференциация свидетельствует об относительно большем разнообразии самцов

по сравнению с самками и, по-видимому, отражает особенности генетических взаимосвязей между разными поколениями муфлонов.

У муфлонов, также как и у исследованных пород овец, наблюдаются выраженные отличия между генетическими структурами самцов и самок, что проявляется в более существенных отличиях между самцами различных возрастных групп по сравнению с самками.

Данные, полученные на основе полилокусного генотипирования по фрагментам ДНК, фланкированным инвертированными повторами микросателлитов и участка длинного концевго повтора эндогенного ретровируса BERV k-1, свидетельствуют о большем генетическом разнообразии муфлонов, дикого представителя рода *Ovis* и одного из предковых видов домашней овцы, по сравнению с овцами таких пород, как калмыцкая, эдильбаевская и карачаевская. Группы овец трех аборигенных пород отличаются более низкой генетической гетерогенностью и большей консолидированностью по сравнению с муфлонами, что может являться результатом селекционной деятельности. У исследованных представителей рода *Ovis* по полиморфизму полилокусных спектров выявлены отличия между полами: самцы оказались более гетерогенны по сравнению с самками. Отмечено, что при использовании ISSR-PCR маркеров, в которых в качестве праймеров используются микросателлитные локусы, уровень полиморфного информационного содержания у диких муфлонов и исследованных пород овец сопоставим, тогда как при использовании IRAP-PCR маркеров в спектрах праймера длинного концевго повтора эндогенного ретровируса Berv-K1, полиморфизм существенно выше у диких муфлонов. Это согласуется с литературными источниками, согласно которым полиморфизм одних генетических элементов может быть выше у домашних представителей рода *Ovis*, а других – у диких [16]. Обнаружено, что по ISSR-PCR маркерам муфлоны генетически более близки к представителям степных пород овец (калмыцкая, эдильбаевская), чем к горной карачаевской. В тоже время, по IRAP-PCR маркерам муфлоны оказались более гетерогенны по сравнению с домашней овцой. Выявленное повышенное разнообразие по спектрам фрагментов геномной ДНК, фланкированным инвертированным повтором участка эндогенного ретровируса, согласуется с высказанными ранее предположениями о существенной роли экзо- и эндогенных ретровирусов в процессах domestikации животных [17].

Литература

1. Zeder M.A. Core questions in domestication research // *PNAS*. – 2015. – V. 112. – N.11. – P. 3191–3198.
2. Глазко В.И. Николай Вавилов... Жизнь как служение Родине 1940-1943. – М.: Купс, 2019. – Т. 2. – 816 с.
3. Moczek A.P., Sultan S., Foster S., Ledón-Rettig C., Dworkin I., Nijhout H.F., Abouheif E., Pfennig D.W. The role of developmental plasticity in evolutionary innovation // *Proc. Biol. Sci.* – 2011. – Sep. 22;278(1719). – P. 2705–2713.
4. Colino-Rabanal V.J., Rodríguez-Díaz R., Blanco-Villegas M.J., Peris S.J., Lizana M. Human and ecological determinants of the spatial structure of local breed diversity // *Sci. Rep.* – 2018. – Apr. 24;8(1). – P.6452.
5. Donohue K. The epigenetics of adaptation: focusing on epigenetic stability as an evolving trait // *Evolution*. – 2014. – №68(3). – P.617-619.

6. Hare B., Plyusnina I., Ignacio N., Schepina O., Stepika A., Wrangham R., Trut L. Social cognitive evolution in captive foxes is a correlated by-product of experimental domestication // *Curr. Biol.* – 2005. – №15. – P.226–230.
7. Zimin A.V., Delcher A.L., Florea L., Kelley D.R., Schatz M.C., Puiu D. et al. A whole-genome assembly of the domestic cow, *Bos Taurus* // *Genome Biol.* – 2009. – №10. – P. 42.
8. Zietkiewicz E., Rafalski A., Labuda D. Genome fingerprinting by simple sequence repeat (SSR)-anchored polymerase chain reaction amplification // *Genomics.* – 1994. – Vol. 20. – № 2. – P. 176-183.
9. Календарь Р.В., Глазко В.И. Типы молекулярно-генетических маркеров и их применение // *Физиология и биохимия культурных растений.* – 2002. – Т.34. – №4. – С. 279-295.
10. Kalendar R., Schulman A.H. Transposon-based tagging: IRAP, REMAP, and iPBS // *Methods Mol. Biol.* – 2014. – №1115. – P.233-255.
11. Mei C., Wang H., Liao Q., Wang L., Cheng G., Wang H., Zhao C., Zhao S., Song J., Guang X., Liu G.E., Li A., Wu X., Wang C., Fang X., Zhao X., Smith S.B., Yang W., Tian W., Gui L., Zhang Y., Hill R.A., Jiang Z., Xin Y., Jia C., Sun X., Wang S., Yang H., Wang J., Zhu W., Zan L. Genetic architecture and selection of Chinese cattle revealed by whole genome resequencing // *Mol. Biol. Evol.* – 2017. – Dec 19. – P. 688-699.
12. Yang J.F., Ding X.F., Chen L., Mat W.K., Xu M.Z., Chen J.F., Wang J.M., Xu L., Poon W.S., Kwong A., Leung G.K., Tan T.C., Yu C.H., Ke Y.B., Xu X.Y., Ke X.Y., Ma R.C., Chan J.C., Wan W.Q., Zhang L.W., Kumar Y., Tsang S.Y., Li S., Wang H.Y., Xue H. Copy number variation analysis based on AluScan sequences // *J. Clin. Bioinforma.* – 2014. – № 4(1). – P.15.
13. Baba K., Nakaya Y., Shojima T., Muroi Y., Kizaki K., Hashizume K., Imakawa K. and Miyazawa T. Identification of Novel Endogenous Betaretroviruses Which Are Transcribed in the Bovine Placenta // *J. Virology.* – 2011. – V.85. – №3. – P. 1237–1245.
14. Torresi C., Casciari C., Giammarioli M., Feliziani F., De Mia G.M. Characterization of a novel full-length bovine endogenous retrovirus, BERV-β1 // *Arch. Virol.* – 2015. – №160(12). – P. 3105-3114.
15. Nei M. Genetic distance between populations // *American Naturalist.* – 1972. – V. 106. – № 949. – P. 283-292.
16. Zamani W., Ghasempouri S.M., Rezaei H.R., Naderic S., Hesari A.R.E., Ouhrouch A. Comparing polymorphism of 86 candidate genes putatively involved in domestication of sheep, between wild and domestic Iranian sheep // *Meta Gene.* – 2018. – V. 17. – P. 223–231.
17. Глазко В.И. Генные и геномные подписи доместикации // *Сельскохозяйственная биология.* – 2018. – Т 53. – № 4. – С. 659-672.

Поступила в редакцию 23.04.20
 После доработки 29.04.20
 Принята к публикации 12.05.20

УРОВЕНЬ КАЛЬЦИЯ В РАЦИОНЕ И ЕГО СВЯЗЬ С АКТИВНОСТЬЮ ПИЩЕВАРИТЕЛЬНЫХ ФЕРМЕНТОВ У ЦЫПЛЯТ-БРОЙЛЕРОВ

В.Г. Вертипрахов, доктор биологических наук, И.В. Кислова,
Н.В. Овчинникова

Всероссийский научно-исследовательский и технологический институт птицеводства,
141311, Московская область, Сергиев Посад, ул. Птицезрадская, 10
E-mail: vertiprakhov63@mail.ru

В хроническом эксперименте изучена ферментативная активность и биохимические показатели кишечного содержимого в разных физических формах дуоденального химуса (жидкости и лиофилизированном порошке) и илеального содержимого цыплят-бройлеров, прошедшего лиофильную сушку. Результаты показывают, что активность амилазы после лиофильной сушки в контрольной группе увеличивается в 5,7 раза, липазы – в 11,6 раз, активность общих протеаз – в 8,2 раза. По щелочной фосфатазе увеличение активности составляет 15,9 раза. Уровень кальция после лиофильной сушки увеличивается в 11,4 раза, содержание фосфора – в 17,7 раза. Уровень холестерина после сушки возрастает в 4,8 раза. При уменьшении кальция с 0,9 до 0,8% в рационе бройлеров в дуоденальном содержимом активность щелочной фосфатазы увеличивается на 35,1% по сравнению с контрольной группой ($p \leq 0,05$). Следовательно, лиофильная сушка изменяет активность ферментов и содержание минеральных веществ в химусе неравномерно. Установлено, что при изменении уровня кальция в рационе происходит адаптация активности амилазы, липазы, протеаз, щелочной фосфатазы, кальция, фосфора и холестерина в илеальном содержимом, что может использоваться для диагностики здоровья кишечника птицы в новых тест-системах.

THE INTERRELATIONSHIPS OF DIETARY CALCIUM LEVEL AND ACTIVITIES OF THE DIGESTIVE ENZYMES IN BROILER CHICKS

Vertiprakhov V.G., Kislova I.V., Ovchinnikova N.V.

All-Russian Research and Technological Poultry Institute,
141311, Moskovskaya oblast, Sergiev Posad, ul. Ptitsegradskaya, 10
E-mail: vertiprakhov63@mail.ru

The activities of the digestive enzymes and certain biochemical parameters in the native and lyophilized duodenal digesta and lyophilized ileal digesta were studied in broiler chicks with chronic duodenal or ileal fistulae fed different calcium levels. The activity of amylase after the lyophilization of duodenal digesta from the control treatment increased 5.7-fold in compare to the native liquid form, lipase 11.6-fold, total proteases 8.2-fold, alkaline phosphatase (AP) 15.9-fold; concentration of calcium increased 11.4-fold, phosphorus 17.7-fold, total cholesterol 4.8-fold. It was concluded that lyophilization differently affect the enzymatic activities and concentrations of minerals in the digesta. The decrease in dietary calcium level from 0.9 to 0.8% resulted in the significant increase in AP activity in lyophilized duodenal digesta by 35.1% ($P < 0.05$). It was also found that the activities of amylase, lipase, proteases, and AP, as well as concentrations of calcium, phosphorus, and cholesterol in the ileal digesta can adjust to dietary calcium level; these findings could be used for the assessment of the intestinal health in poultry in innovative test systems.

Ключевые слова: пищеварительные ферменты, цыплята-бройлеры, дуоденальный химус, илеальное содержимое, лиофильная сушка химуса

Key words: digestive enzymes, broiler chicks, duodenal digesta, ileal digesta, lyophilization of digesta

В организме сельскохозяйственной птицы кальциевый метаболизм протекает наиболее интенсивно по сравнению с млекопитающими животными. Кальций является важнейшим элементом формирования костной ткани и в оптимальном количестве гарантирует прочность костей [1]. Поступая с кормом в кишечник, кальций, попадая в слой гликокаликса, переносится через мембрану эпителиоцита по принципу пассивной диффузии. Переносчиком кальция в процессе абсорбции последнего в энтероцитах тонкой кишки является кальцийсвязывающий белок [2]. Известно, что большую часть содержимого кишечника составляют пищеварительные соки, которые обладают высокой биологической активностью за счет содержания в них ферментов. Минеральные вещества, находящиеся в жидкости, обеспечивающей энтеральный гомеостаз, взаимодействуют с пищеварительными ферментами.

Результаты хронических экспериментов на курах-несушках кросса «Хайсекс белый» с фистулой панкреатического протока показывают, что изменение уровня кальция в рационе оказывает влияние на экзокринную функцию поджелудочной железы, адаптация которой проявляется увеличением объема панкреатического

сока и изменением в его составе активности липазы и общих протеаз [3]. Изменение уровня кальция в рационе несушек отражается на базальном уровне активности щелочной фосфатазы. В опытах *in vivo* [4] установлена отрицательная корреляция между протеазами и активностью щелочной фосфатазы ($r = -0,87$), а также содержанием в панкреатическом соке общего кальция ($r = -0,64$). Активность щелочной фосфатазы и общего кальция в панкреатическом соке находятся в прямой зависимости ($r = 0,81$). Известно, что ионы кальция являются сигнальными молекулами при панкреатитах [5], так как существует связь между ними и протеазами, которые играют ключевую роль в развитии аутолиза ткани панкреас.

Для изучения использования питательных и минеральных веществ в организме птицы наряду с классическими балансовыми опытами все шире применяются методы илеальной доступности веществ. Установлено, что при использовании илеального метода показатель усвоения кальция организмом кур-несушек выше на 14,2% по сравнению с классическим методом определения [3].

На цыплятах-бройлерах вопросы взаимодействия кальция с пищеварительными ферментами изучены

недостаточно, что определило направление наших исследований. Целью работы является изучение ферментативной активности в дуоденальном и илеальном содержимом цыплят-бройлеров, прошедшем лиофильную сушку, при изменении уровня кальция в рационе.

Методика. Опыты выполняли на цыплятах-бройлерах кросса «Смена 8» 20-42-суточного возраста с дуоденальной фистулой (6 голов) и илеальной фистулой (6 голов) в лаборатории физиологии ФНЦ «Всероссийский научно-исследовательский и технологический институт птицеводства» РАН в 2019 году в соответствии с требованиями Европейской конвенции о защите позвоночных животных, используемых для экспериментов или в иных научных целях (ETS №123, Страсбург, 1986) [5].

Цыплят-бройлеров оперировали в 15-18-суточном возрасте для получения дуоденального [6] и илеального [7] содержимого. Через 5-7 суток после хирургического вмешательства цыплята восстанавливались и использовались для выполнения экспериментов.

Физиологические опыты выполняли ежедневно утром в одно и тоже время в течение 14 суток, следовательно, с учетом повторностей в каждом опыте, было получено не менее 20 значений для каждой группы. Цыплята-бройлеры находились в виварии ВНИТИП при соблюдении оптимальных условий кормления и содержания [8]. Дуоденальный химус собирали через один час после кормления птицы в количестве 3-5 мл. Центрифугировали при 4000 об/мин в течение 3 мин. Активность ферментов и биохимические показатели исследовали в опыте 1 в надосадочной жидкости, опыте 2 – после сушки на лиофильной сушилке серии TFD (ilShinbiobase Co.Ltd, Корея) в течение 24 ч при температуре -77,8 °С и давлении 5 mTorr. Полученный материал разводили раствором Рингера 1:100 и выполняли биохимические исследования. Илеальное содержимое (опыт 3) для получения сопоставимых результатов также подвергали лиофильной сушке.

Схема исследований представлена в таблице 1. Основной рацион состоял из комбикорма, соответствующего требованиям ВНИТИП (2018), с уровнем содержания кальция 0,9%.

Балансовые опыты по определению переваримости питательных и минеральных веществ выполняли общепринятыми методами [9]. Биохимические исследования выполняли следующими методами: определение амилазы – по Smith-Roe в модификации для определения высокой активности фермента [10]; протеаз – по гидролизу казеина, очищенного по Гаммерстену, при калориметрическом контроле (длина волны 450 нм) [10]; липазы – на

полуавтоматическом биохимическом анализаторе BS-3000P (SINNOWA, Китай) с набором ветеринарных диагностических реагентов для определения концентрации липазы в крови животных компании «ДИАКОН-ВЕТ» (РФ). Определение активности щелочной фосфатазы, холестерина, кальция и фосфора выполняли с использованием наборов компании «ДИАКОН-ВЕТ» (РФ) на полуавтоматическом биохимическом анализаторе BS-3000P (SINNOWA, Китай). pH среды устанавливали с помощью pH-150МИ (ООО «Измерительная техника», Москва, РФ).

Статистическую обработку результатов исследований выполняли, используя компьютерную программу Excel, достоверность результатов определяли при помощи таблиц Стьюдента, разность считалась достоверной при $p < 0,05$.

Результаты и обсуждение. В опыте 1 исследована жидкая часть дуоденального химуса после центрифугирования. Полученные данные свидетельствуют о том, что при увеличении кальция в рационе изменяется активность пищеварительных ферментов (табл. 2).

Результаты показывают, что при увеличении содержания кальция в рационе цыплят-бройлеров до 1,0% активность амилазы в жидкой фракции дуоденального химуса уменьшается на 33,0%. Активность липазы, соответственно, возрастает на 161,8% по сравнению с контрольной группой. Активность протеаз, щелочной фосфатазы, содержание холестерина, кальция и фосфора существенно не изменяется.

Учитывая, что пищеварительные ферменты находятся, в том числе, и в твердых фракциях дуоденального содержимого, мы решили сравнить метод определения в жидкой и сухой физических формах химуса. Данные опыта 2 представлены в таблице 3.

Представленные в таблице 3 показатели, полученные при исследовании материала, подвергнутого лиофильной сушке, имеют существенные отличия от данных изучения жидкой части дуоденального химуса, причем не только по основным показателям в контрольной группе, но и в опытных группах, имеющих различия по уровню кальция в рационе. Результаты показывают, что активность амилазы после лиофильной сушки в контрольной группе увеличивается в 5,7 раза, липазы – в 11,6 раз, активность общих протеаз – в 8,2 раза. По щелочной фосфатазе увеличение активности составляет в 15,9 раза. Уровень кальция после лиофильной сушки увеличивается соответственно в 11,4 раза, содержание фосфора – в 17,7 раза. Уровень холестерина после сушки

Табл. 1. Схема исследований

Опыт	Исследуемое кишечное содержимое	Группа	Кол-во голов	Уровень содержания кальция в рационе птицы, %
1	Дуоденальное (надосадочная жидкость)	контрольная	2	0,9
		опытная 1	2	0,8
		опытная 2	2	1,0
2	Дуоденальное (сухое вещество)	контрольная	2	0,9
		опытная 1	2	0,8
		опытная 2	2	1,0
3	Илеальное (сухое вещество)	контрольная	2	0,9
		опытная 1	2	0,8
		опытная 2	2	1,0

Табл. 2. Результаты исследования дуоденального химуса в жидкой форме

Показатель	Группа		
	контрольная	опытная 1	опытная 2
Амилаза, мг/мл.мин	497±37,6	494±63,8	333±64,2*
Липаза, ед/л	1540±302,3	1195±224,0	4032±459,3*
Протеазы, мг/мл.мин	22,4±1,81	26,2±1,53	24,4±1,25
Кальций, ммоль/л	32,0±0,93	29,6±1,24	27,8±0,94
Фосфор, ммоль/л	2,7±0,13	2,9±0,16	2,2±0,22
Щелочная фосфатаза, ед/л	8879±987,5	10447±1171,3	10887±1240,1
Холестерин, ммоль/л	0,6±0,06	0,4±0,04	0,6±0,08
pH среды	5,5±0,08	5,5±0,09	5,5±0,09
Здесь и далее: * $p < 0,05$ по сравнению с контролем			

Табл. 3. Результаты исследования дуоденального химуса в сухом веществе

Показатель	Группа		
	контрольная	опытная 1	опытная 2
Амилаза, мг/мл.мин	2821±137,7	2528±247,4	2842±292,8
Липаза, ед/л	17941±405,8	18163±478,8	19777±2914,5
Протеазы, мг/мл.мин	185±13,5	172±4,7	158±7,9
Трипсин, ед/л	9769±495,1	9304±362,1	9595±443,7
Кальций, ммоль/л	366±34,5	334±7,6	331±16,8
Фосфор, ммоль/л	47,8±2,8	40,3±3,0	49,4±5,42
Щелочная фосфатаза, ммоль/л	141658±13496,2	91917±12145,3*	150053±16795,1
Фосфатазно-трипсиновый индекс	14,5	9,9	15,6
Холестерин, ммоль/л	2,9±0,15	3,2±0,43	3,1±0,14

Табл. 4. Показатели содержимого подвздошной кишки после лиофильной сушки

Показатель	Группа		
	контрольная	опытная 1	опытная 2
Амилаза, мг/мл.мин	200±10,0	150±7,5*	140±5,2*
Липаза, ед/л	889±7,5	688±18,8*	645±21,2*
Протеазы, мг/мл.мин	42±4,2	48±1,7	69±0,6*
Трипсин, ед/л	4023±142,1	3407±23,3*	3707±5,4*
Кальций, ммоль/л	301±0,75	512±7,75*	456±1,15*
Фосфор, ммоль/л	116±2,5	92±1,3*	85±1,1*
Щелочная фосфатаза, ммоль/л	71703±14388,2	22317±641,5*	33636±5231,3*
Фосфатазно-трипсиновый индекс	17,8	6,5	9,0
Холестерин, ммоль/л	9,8±0,07	10,5±0,02*	11,3±0,04*

возрастает в 4,8 раза. Следовательно, лиофильная сушка изменяет активность ферментов и содержание минеральных веществ в химусе неравномерно. Максимально увеличиваются показатели фосфора и щелочной фосфатазы. Причем наиболее чувствительным показателем к содержанию кальция в рационе является активность щелочной фосфатазы, которая при уменьшении кальция в корме с 0,9 до 0,8% снижается на 35,1% по сравнению с контрольной группой ($p \leq 0,05$).

Для того, чтобы понять, насколько интенсивно изменяется активность пищеварительных ферментов по мере продвижения в каудальном направлении кишечника, был выполнен опыт 3 для сопоставления дуоденальной активности ферментов с илеальной (табл. 4).

Результаты исследования показывают, что активность амилазы снижается в подвздошной кишке в 14 раз и составляет 7% от исходной активности в дуоденальном содержимом. Аналогичным образом изменяется активность липазы, уменьшаясь по ходу кишечника в 20,2 раза, её уровень составляет 4,9% от исходной величины. Активность протеаз в процессе продвижения по кишечнику изменяется не так интенсивно, как амилазы и липазы, в илеальном содержимом активность протеаз уменьшается в 4,4 раза и составляет 22,7% от исходной дуоденальной. Снижение активности пищеварительных ферментов в процессе движения по кишечнику вписывается в гипотезу о возврате ферментов в кровь и поджелудочную железу. Механизм этого явления до конца

еще не изучен, но исследования ученых подтверждают факты всасывания из кишечника гидролаз по включенным в них радионуклидным меткам и по каталитической активности [11]. Кроме того, в литературе описаны случаи деградации молекул гидролаз под действием протеаз [12].

Сравнительный анализ илеальной активности ферментов в разных группах показывает, что уровень кальция в рационе влияет на ферментативную активность. Амилолитическая активность при уменьшении кальция в рационе снижается на 25%, а при увеличении до 1% – снижается на 30% по сравнению с контрольной группой. Аналогичная динамика отмечается в активности липазы. При снижении кальция в корме активность фермента уменьшается на 22,6% ($p \leq 0,05$), а при увеличении кальция в рационе – снижается на 27,5% ($p \leq 0,05$). Следовательно, можно отметить более рациональное использование амилазы и липазы организмом цыплят-бройлеров при отклонении кальция в рационе от нормы. Протеолитическая активность при изменении содержания кальция в рационе цыплят-бройлеров характеризуется противоположной тенденцией: при минимальном уровне кальция в рационе активность протеаз существенно не изменяется, а при максимальном уровне – увеличивается на 64,3% ($p \leq 0,05$), т.е. возрастает выход протеолитических ферментов вследствие, видимо, ингибирования фермента высоким количеством кальция. Как показывают результаты исследования содержимого подвздошной кишки у цыплят-бройлеров [13], высокий уровень кальция увеличивает общие эндогенные потери аминокислот на 39%, что связано с перевариваемостью протеина и активностью протеаз.

Содержание кальция в илеальном содержимом после лиофильной сушки в опытной группе 1 увеличивается на 70,1%, в опытной 2 – возрастает на 51,5% по сравнению с контрольной группой. Содержание фосфора в илеальном содержимом опытной группы 1 уменьшается на 20,7%, в опытной 2 – на 26,7% по сравнению с контрольной группой. Кальций-фосфорное соотношение при изменении уровня кальция в корме цыплят-бройлеров увеличивается с 2,6 до 5,5-5,4 единиц. Наши данные согласуются с результатами исследования на цыплятах-бройлерах действия фитазы и уровня кальция на продуктивность птицы, которые коррелируют между собой [14].

Активность щелочной фосфатазы при изменении содержания кальция в рационе снижается на 68,9% (при минимальном количестве кальция) и 53,1% (при максимальном количестве кальция в рационе). Следовательно, сохраняется зависимость, характерная для кур-несушек: при снижении кальция в кишечнике цыплят-бройлеров активность щелочной фосфатазы уменьшается. Это находит подтверждение в работах зарубежных ученых [15], которые установили отрицательную корреляцию между активностью щелочной фосфатазы и адсорбцией кальция в кишечнике мышей.

Содержание кальция в рационе связано с количеством холестерина: отклонение кальция в корме увеличивает выход холестерина в илеальном содержимом у цыплят-бройлеров на 7,1% и 15,3% ($p \leq 0,05$), соответственно.

Результаты исследования показывают, что протеазы наиболее четко реагируют на содержание кальция в рационе. Наши экспериментальные данные согласуются с данными о том, что механизм активирования панкреатических ферментов гормонами кишечника (холецистокинин и другие) связан с высвобождением клеточного кальция [16]. Кроме того, по данным Лазаревой Н. (2015) [17] высокое содержание кальция в рационе снижает эффективность действия фитазы и приводит к образованию в желудочно-кишечном тракте птицы нерастворимых комплексных соединений. Высокий уровень кальция и фосфора в кормах увеличивает скорость прохождения химуса через кишечник за счет изменения осмоса, в результате ухудшается конверсия корма и снижается прирост живой массы. Использование новой технологии при определении биологически активных веществ в лиофилизированном содержимом кишечника позволяет получить объективные данные о динамике пищеварительных ферментов в разных отделах желудочно-кишечного тракта и их взаимодействиях с минеральными веществами.

Таким образом, исследования жидкой части дуоденального химуса не позволяют объективно оценить активность пищеварительных ферментов, участвующих в гидролизе питательных веществ, поскольку часть из них сосредоточена на субстрате в твердом виде (остатки корма) и становится доступной для анализа после лиофильной сушки. Кроме того, сложно оценить разбавление активных пищеварительных ферментов панкреатического сока другими жидкостями, находящимися в полости тонкой кишки, поэтому метод исследования биологических сред в форме абсолютно сухого вещества после лиофильной сушки является перспективным в научных исследованиях.

Наиболее чувствительным показателем в дуоденальном содержимом, высушенном в лиофильной сушилке, при изменении уровня кальция в рационе бройлеров является активность щелочной фосфатазы, которая при уменьшении кальция с 0,9 до 0,8% в рационе бройлеров увеличивается на 35,1% по сравнению с контрольной группой ($p \leq 0,05$), что, по-видимому, связано с функцией печени.

Установлено, что активность амилазы снижается в подвздошной кишке в 14 раз и составляет 7% от исходной активности в дуоденальном содержимом. Активность липазы уменьшается в 20,2 раза, в итоге ее уровень составляет 4,9% от исходной величины. Активность протеаз в процессе продвижения по кишечнику изменяется не так интенсивно, как амилазы и липазы, уменьшаясь в 4,4 раза и составляя 22,7% от исходной дуоденальной активности. Биохимические исследования лиофилизированного илеального содержимого цыплят-бройлеров позволяют заключить, что полученные показатели активности пищеварительных ферментов, щелочной фосфатазы, кальция, фосфора и холестерина адаптируются при введении в рацион разных доз кальция, что может использоваться для диагностики здоровья кишечника в новых тест-системах.

Литература

1. Ермаков В.В., Тютиков С.Ф. Геохимическая экология животных. – М.: Наука, 2008. – 315 с.
2. Иванов А.А., Ильяшенко А.Н. Рост, развитие и формирование скелета цыплят-бройлеров при включе-

- нии в рацион кофакторов минерального обмена // Известия ТСХА. – 2011. – Вып. 4. – С.114-130.
3. Вертипрахов В.Г., Грозина А.А., Кислова И.В., Ребракова Т.М. Использование илеального метода в оценке баланса кальция в организме кур-несушек // Международный вестник ветеринарии. – 2019. – №4. – С. 125-131.
 4. Вертипрахов В.Г., Кислова И.В. Вопросы минерального обмена с участием щелочной фосфатазы у кур-несушек // Птица и птицепродукты. – 2020. – №1-2. – С.44-46.
 5. Li J., Zhou R., Li Z.F. Calcium signaling of pancreatic acinar cells in the pathogenesis of pancreatitis // World J Gastroenterol. – 2014. – Nov 21. – P.16146-16152.
 6. Фисинин В.И., Егоров И.А., Вертипрахов В.Г., Грозина А.А., Ленкова Т.Н., Манукян В.А., Егорова Т.А. Активность пищеварительных ферментов в дуоденальном химусе и плазме крови у исходных линий и гибридов мясных кур при использовании биологически активных добавок в рационе // Сельскохозяйственная биология. – 2017. – №52 (6). – С. 1226-1333.
 7. Isshiki Y., Nakahiro K., Yamauchi K., Zhou Zh.-X. Fistulation technique for the middle and caudal part of the jejunum and the ileum in chicken // Jpn. Poultry Sci. – 1989. – V.26. – P.314-321.
 8. Руководство по оптимизации рецептов комбикормов для сельскохозяйственной птицы / Под редакцией В.И. Фисинина. – Сергиев Посад: ВНИТИП, 2014. – 155 с.
 9. Методика проведения научных и производственных исследований по кормлению сельскохозяйственной птицы / Под общей редакцией В.И. Фисинина. – Сергиев Посад: ВНИТИП, 2013. – 51 с.
 10. Батоев Ц.Ж. Физиология пищеварения птиц. – Улан-Удэ: Изд-во Бурятского государственного университета, 2001. – 214 с.
 11. Rothman S.S., Liebow C., Isenman L. Conservation of digestive enzymes // Physiol. Rev. – 2002. – Vol. 82. – P.1-18.
 12. Коротыко Г.Ф. Рециркуляция ферментов пищеварительных желез // Российский журнал гастроэнтерологии, гепатологии, колопроктологии. – 2011. – №4. – С.14-21.
 13. Adedokun S.A., Pescatore A.J., Ford M.J., Ao T., Jacob J.P. Investigating the effect of dietary calcium levels on ileal endogenous amino acid losses and standardized ileal amino acid digestibility in broilers and laying hens // Poult. Sci. – 2018. – №97(1). – P. 131-139.
 14. Lee S.A., Nagalakshmi D., Raju M.V.L.N., Rao S.V.R., Bedford M.R., Walk C.L. Phytase as an alleviator of high-temperature stress in broilers fed adequate and low dietary calcium // Poult. Sci. – 2019. – №98(5). – P.2122-2132.
 15. Brun L.R., Lombarte M., Roma S., Perez F., Millán J.L., Rigalli A. Increased calcium uptake and improved trabecular bone properties in intestinal alkaline phosphatase knockout mice // J. Bone Miner Metab. – 2018. – №36(6). – P.661-667.
 16. Gardner J.D. Biochemical basis of action of gastrointestinal hormones // World J. Surg. – 1979. – V.3. – P.407-413.
 17. Лазарева Н. Ферменты с фитазной активностью в рационе бройлеров // Животноводство России. – 2015. – №5. – С.18-20.

Поступила в редакцию 16.03.20
После доработки 01.04.20
Принята к публикации 17.04.20

МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ И ГЕНЕТИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ ПОРОД ЛОШАДЕЙ ЯКУТИИ

Н.П. Филиппова¹, кандидат биологических наук,
Н.П. Степанов², кандидат сельскохозяйственных наук,
В.В. Додохов³, кандидат биологических наук,
А.М. Гаджиев⁴, доктор сельскохозяйственных наук,
Н.С. Марзанов⁵, доктор биологических наук

¹Якутский научный центр комплексных медицинских проблем,
 677010, Республика Саха (Якутия), Якутск, Сергеляхское ш., 4

²Сахаагроплем, 677001, Республика Саха (Якутия), Якутск, ул. Орджоникидзе, 20

³Якутская государственная сельскохозяйственная академия,
 677007, Республика Саха (Якутия), Якутск, Сергеляхское ш., 3

⁴Федеральный научный агроинженерный центр ВИМ,
 109428, Москва, 1-й Институтский пр., 5

⁵Федеральный научный центр животноводства – ВИЖ имени академика Л.К. Эрнста,
 142132, Московская область, Дубровицы, 60

E-mail: nmarzanov@yandex.ru

Разведение лошадей аборигенных пород, приспособленных к суровым природным условиям, является единственным способом эффективного использования обширных территорий, малодоступных другим видам сельскохозяйственных животных. Коневодство является традиционной отраслью в Республике Саха (Якутия) и остается основным резервом увеличения производства мяса. В экстремальных условиях разведения в популяциях и породах лошадей происходят генетические изменения в результате мутаций и эволюции. Генетическая аттестация позволяет следить за происходящими процессами как внутри популяций, так и пород, и помогает проводить дальнейшую селекционную работу с табунными лошадьми Якутии. Оценка полиморфизма по 15 локусам микросателлитов показала, что лошади якутской, мегежекской и приленской пород имеют определенный генетический профиль. У мегежекской породы установлены аллели, которые не были обнаружены в двух других породах. У лошадей якутской и мегежекской пород в локусе LEX3 обнаружен LEX3^G аллель, который ранее встречался только у арабских лошадей. В мегежекской породе выявлен AHT4^F аллель, ранее встречавшийся только у ахалтекинских породы. По локусам микросателлитов среднее число эффективных аллелей выше у лошадей мегежекской породы и составляет 4,327±0,37. Показатель наблюдаемой гетерозиготности у лошадей всех пород находится практически на одном уровне 0,636–0,651. Самый высокий коэффициент генетического сходства по локусам микросателлитов (0,872) имели мегежекская и якутская породы. Между приленской и мегежекской породами он равен 0,831, между приленской и якутской – 0,780.

MORPHOLOGICAL AND GENETIC FEATURES OF THE YAKUT HORSE BREEDS

Filippova N.P.¹, Stepanov N.P.², Dodokhov V.V.³, Gadgiev A.M.⁴, Marzanov N.S.⁵

¹Yakut Scientific Center of Complex Medical Problems,
 677008, Respublika Sakha (Yakutia), Yakutsk, Sergeliachskoe sh., 4

²Sakhaagroplem, 677001, Respublika Sakha (Yakutia), Yakutsk, ul. Ordjonikidze, 20

³Yakut State Agricultural Academy,
 677007, Respublika Sakha (Yakutia), Yakutsk, Sergeliachskoe sh., 3

⁴Federal Scientific Agroengineering Center VIM,
 109428, Moskva, 1 Institut'skiy pr., 5

⁵Federal Science Center for Animal Husbandry,
 142132, Moskovskaya oblast, Dubrovitsy, 60

E-mail: nmarzanov@yandex.ru

Rearing the horses of indigenous breeds adapted to the extreme natural environments is the only effective way to use the vast areas of lands unsuitable for farming animals of the other species. Horse farming and breeding is a traditional industry in the Sakha Republic (Yakutia), which remains a substantial potential for meat production improvement. Under the extreme environmental conditions, genetic variations caused by mutations and evolution tend to occur within the horse populations and breeds. Genetic testing can provide opportunities to monitor the ongoing processes within both the populations and the breeds, contributing to the subsequent selective breeding practice among the herd horses in Yakutia. Analyses of 15 polymorphic microsatellite loci revealed the genetic breed-specific profiles for the Yakut, Megezhek, and Prilensk horse breeds. Thus, the alleles identified in Megezhek horses were not found in the animals of the other two breeds. Allele LEX3^G at locus LEX3 was recorded in the Yakut and Megezhek horses, which could be previously found only in the Arabian horses. The AHT4^F allele previously found only in the Akhal-Teke horses was identified in Megezhek animals. The effective number of alleles per microsatellite locus was larger in Megezhek horses, with a mean of 4.3. The actual heterozygosity values for the horses of all the breeds were almost the same, ranging from 0.636 to 0.651. The coefficient of genetic similarity at a microsatellite locus was highest between the Megezheksk and Yakut breeds. In addition, the coefficients for genetic similarities between the Prilensk and Megezheksk breeds and the Prilensk and Yakut breeds comprised 0.831 and 0.780, respectively.

Ключевые слова: якутская порода лошадей, приленская порода лошадей, мегежекская порода лошадей, ДНК, полиморфизм, микросателлиты, генетическое разнообразие, генетическая дистанция

Key words: Yakut horse breed, Prilensk horse breed, Megezheksk horse breed, DNA, polymorphism, microsatellites, genetic diversity, genetic distance

История цивилизации тесно связана с одомашниванием животных. По расчетам ученых данный процесс начался 8000-12000 лет назад. Домашние животные сыграли огромную роль в формировании человеческого общества, однако и человек многовековым кропотливым трудом показал свои реальные возможности по преобразованию природы животных. Следствием этого послужило создание 694 локальных пород лошадей в мире [1-8].

Республика Саха (Якутия) вызывает огромный интерес со стороны академической и отраслевой науки, что связано с уникальной окружающей средой и своеобразным животным миром. Якутия отличается резко континентальным климатом: температура воздуха колеблется в восточных горных системах, котловинах и впадинах от -70°C зимой до $+38^{\circ}\text{C}$ летом. По суммарной продолжительности периода с отрицательной температурой (от 6,5 до 9 месяцев в год), регион не имеет аналогов в северном полушарии [9]. Единственным способом эффективного использования обширных и малодоступных территорий Республики Саха (Якутия) является разведение приспособленных к суровым природным условиям аборигенных пород лошадей. Табунное коневодство является одной из важнейших традиционных отраслей животноводства и остается основным резервом увеличения производства мяса для населения республики. На территории Якутии, преимущественно в центральных, западных и северных улусах, разводятся три породы табунных лошадей: якутская, мегежекская и приленская. По состоянию на 1 января 2017 года численность лошадей во всех категориях хозяйств составила 181,5 тыс. голов, в том числе 107 тыс. кобыл. При этом наибольший удельный вес племенного поголовья относится к якутской (65,1%) и мегежекской (27,6%) породам. Доля приленской породы составляет 7,3%. Реализация стратегии развития мясного животноводства в России поставила для Республики Саха (Якутия) задачу сохранения генофонда уникальных пород лошадей [10-14].

Целью исследований было изучение морфологических и генетических особенностей пород лошадей, разводимых в условиях Республики Саха (Якутия).

Методика. Исследования проводили на базе лаборатории селекции и генетики Якутской ГСХА. Объектом исследований послужили лошади разных половозрастных групп якутской ($n=723$), приленской ($n=173$) и мегежекской ($n=343$) пород. Микросателлитный анализ осуществляли в лаборатории ДНК-технологии ФГБНУ «Всероссийский научно-исследовательский институт племенного дела» с использованием набора реагентов для мультиплексного анализа 15 микросателлитных локусов лошади (COrDISHorse, ООО «Гордиз», Москва). Генетико-статистический анализ осуществляли по стандартным методикам. Рассчитывали следующие показатели: частоты аллелей; наблюдаемая (H_o) и ожидаемая (H_e) гетерозиготность; эффективное число аллелей в локусе (N_a); индекс фиксации (F_{is}); индексы генетического сходства и генетические дистанции [15-17]. Кластерный анализ проводили с использованием современных компьютерных программ GenAlEx [18].

Результаты и обсуждение. Якутская порода лошадей отличается крепостью конституции, высокой приспособленностью к зимним холодам при скудности тебеновочных кормов. Все это достигается благодаря способности лошадей нажировываться за короткие лето и осень. В результате многолетней селекционно-племенной работы были выведены два внутрипородных северных типа лошадей якутской породы – янский и колымский, утвержденные в 2010 г. на Научно-техниче-

ском совете Департамента животноводства и племенного дела МСХ РФ. Родоначальником двух северных типов была небольшая группа лошадей из центральных районов Якутии, попавшая туда вместе с якутскими переселенцами. В силу малочисленности родоначальников, в отличие от лошадей центральных районов Якутии, северные типы характеризуются малым разнообразием мастей, однотипностью телосложения и стандартностью. Живая масса племенных жеребцов якутской породы – 450-485 кг, кобыл – 400-420 кг [19].

Мегежекская порода была получена путем прилития к местным якутским лошадям крови кузнецкой породы, выведенной методами народной селекции в Сибири во второй половине XVIII века. Благодаря этому у предшественников мегежекской породы сложился определенный тип мясных животных, отличающихся крупным ростом, массивностью и удлиненным корпусом. В 50-е годы в мегежекской породе было проведено частичное прилитие крови русских тяжеловозов через помесного жеребца Хоройора. Масти у лошадей данной породы разнообразны и в основном распределяются равномерно: саврасая (19,5%), чалая (16,9%), гнедая (16,6%), серая (13,7%) и мышастая (12,3%). Живой масса племенных жеребцов – 470-610 кг, кобыл – 450-580 кг [13; 14].

Лошади приленской породы выведены вводом скрещиванием заводских пород (орловского рысака и русского тяжеловоза) с чистопородными якутскими лошадьми. Характерной особенностью экстерьера лошадей приленской породы является удлиненность корпуса, высокая холка. Основные масти: мышастая, гнедая, чалая, рыжая, пегая, серая разных оттенков. Живая масса племенных жеребцов – 450-560 кг, кобыл – 450-530 кг. По зоометрическим показателям трех пород, разводимых на территории Якутии, наиболее высокие значения имеют лошади мегежекской породы (табл. 1).

У отдельных особей мегежекской породы показатели живой массы достигают 600 кг и выше. Значительная изменчивость показателей промеров и живой массы лошадей, разводимых в Якутии, свидетельствует о широкой возможности их усовершенствования при проведении селекционно-племенной работы. Наибольшие показатели промеров высоты в холке, косой длины туловища и обхвата груди имеют мегежекские лошади и достоверно превосходят животных якутской ($P<0,001$) и приленской ($P<0,01$) пород.

Основной задачей племенного коневодства Республики Саха (Якутия) является создание структурных единиц вновь выведенных пород и типов лошадей с целью поддержания биоразнообразия, дальнейшего совершенствования их продуктивных и племенных качеств. Вторая немаловажная задача племенного коневодства – это совершенствование воспроизводительных и адаптационных качеств лошадей товарного назначения существующих трех пород, направленное на значительное (15-20%) увеличение производства конины. Отличные приспособительные свойства лошадей аборигенных пород являются основой формирования высокой мясной продуктивности, что вызывает особый интерес со стороны селекционеров и специалистов пищевой промышленности, особенно из Сибири и Дальнего Востока. Начиная с 80-х годов прошлого столетия, за пределы Республики Саха (Якутия) вывезено и распространено более 5 тыс. голов лошадей.

В этой связи, учитывая особое внимание к табунному коневодству в Республике Саха (Якутия) встал вопрос проведения масштабных исследований в области биологии лошадей в специфических условиях их разведения. В частности, популяционно-генетическая

Табл. 1. Промеры, живая масса и индексы телосложения аборигенных пород лошадей Якутии

Порода	n	Промер, см			Живая масса, кг	Индекс, %			
		высота в холке	косая длина туловища	обхват груди		формата	массивности	обхвата груди	
Кобылы									
1	Якутская	117	136,0±0,45	143,6±0,59	173,3±0,46	420,9±8,33	105,1	167,7	120,7
2	Мегежекская	632	140,7±0,30*** ^{2-1;} ** 2-3	149,9±0,41*** ^{2-1;} ** 2-3	181,5±0,72*** ^{2-1;} ** 2-3	461,7±3,92*** ^{2-3;} 2-1	106,5	165,8	129,0
3	Приленская	347	138,0±0,81	146,2±1,30	173,9±1,28	431,9±11,2	105,9	164,8	126,1
Жеребцы-производители									
1	Якутская	24	138,7±0,59	147,4±1,31	180,5±1,91	464,5±0,89	106,2	173,3	130,1
2	Мегежекская	101	143,8±0,86*** ^{2-1;} ** 2-3	154,6±1,02*** ^{2-1;} ** 2-3	190,1±1,46*** ^{2-1;} **2-3	514,2±8,09 *** 2-3; 2-1	107,5	173,0	132,2
3	Приленская	36	142,1±0,85	150,4±0,82	182,6±1,22	482,1±0,93	105,8	168,5	128,5

***P<0,001; **P<0,01 между показателями мегежекской и якутской (2-1); мегежекской и приленской пород (2-3)

Табл. 2. Генетический спектр аллелей 15 микросателлитных локусов у местных пород лошадей Якутии

Локус	Число аллелей в локусе	Якутская порода (n=43)	Число аллелей в локусе	Мегежекская порода (n=46)	Число аллелей в локусе	Приленская порода (n=14)
АНТ4	9	АНТ4 ^H , АНТ4 ^I , АНТ4 ^J , АНТ4 ^K , АНТ4 ^L , АНТ4 ^M , АНТ4 ^N , АНТ4 ^O , АНТ4 ^P	10	АНТ4 ^F , АНТ4 ^G , АНТ4 ^H , АНТ4 ^I , АНТ4 ^J , АНТ4 ^K , АНТ4 ^L , АНТ4 ^M , АНТ4 ^N , АНТ4 ^O , АНТ4 ^P	8	АНТ4 ^G , АНТ4 ^H , АНТ4 ^I , АНТ4 ^J , АНТ4 ^K , АНТ4 ^M , АНТ4 ^N , АНТ4 ^O
АНТ5	5	АНТ5 ^J , АНТ5 ^K , АНТ5 ^L , АНТ5 ^N , АНТ5 ^O	5	АНТ5 ^J , АНТ5 ^K , АНТ5 ^L , АНТ5 ^N , АНТ5 ^O	5	АНТ5 ^J , АНТ5 ^K , АНТ5 ^L , АНТ5 ^M , АНТ5 ^N
ASB23	6	ASB23 ^I , ASB23 ^K , ASB23 ^L , ASB23 ^S , ASB23 ^T , ASB23 ^U	7	ASB23 ^I , ASB23 ^J , ASB23 ^K , ASB23 ^L , ASB23 ^S , ASB23 ^T , ASB23 ^U	6	ASB23 ^I , ASB23 ^J , ASB23 ^K , ASB23 ^Q , ASB23 ^S , ASB23 ^U
CA425	8	CA425 ^E , CA425 ^F , CA425 ^I , CA425 ^L , CA425 ^K , CA425 ^M , CA425 ^N , CA425 ^O	9	CA425 ^E , CA425 ^F , CA425 ^I , CA425 ^J , CA425 ^K , CA425 ^L , CA425 ^M , CA425 ^N , CA425 ^O	6	CA425 ^E , CA425 ^F , CA425 ^I , CA425 ^M , CA425 ^N , CA425 ^O
HMS1	7	HMS1 ^I , HMS1 ^J , HMS1 ^K , HMS1 ^L , HMS1 ^M , HMS1 ^N , HMS1 ^Q	6	HMS1 ^I , HMS1 ^J , HMS1 ^K , HMS1 ^L , HMS1 ^M , HMS1 ^Q	5	HMS1 ^I , HMS1 ^J , HMS1 ^K , HMS1 ^M , HMS1 ^Q
HMS2	7	HMS2 ^H , HMS2 ^I , HMS2 ^J , HMS2 ^K , HMS2 ^L , HMS2 ^O , HMS2 ^R	9	HMS2 ^H , HMS2 ^I , HMS2 ^J , HMS2 ^K , HMS2 ^L , HMS2 ^O , HMS2 ^P , HMS2 ^Q , HMS2 ^R	6	HMS2 ^H , HMS2 ^I , HMS2 ^K , HMS2 ^L , HMS2 ^O , HMS2 ^Q
HMS3	6	HMS3 ^I , HMS3 ^M , HMS3 ^O , HMS3 ^P , HMS3 ^Q , HMS3 ^R	6	HMS3 ^I , HMS3 ^M , HMS3 ^O , HMS3 ^P , HMS3 ^Q , HMS3 ^R	6	HMS3 ^I , HMS3 ^M , HMS3 ^O , HMS3 ^P , HMS3 ^Q , HMS3 ^R
HMS6	5	HMS6 ^K , HMS6 ^M , HMS6 ^O , HMS6 ^P , HMS6 ^Q	7	HMS6 ^K , HMS6 ^L , HMS6 ^M , HMS6 ^N , HMS6 ^O , HMS6 ^P , HMS6 ^Q	5	HMS6 ^K , HMS6 ^M , HMS6 ^O , HMS6 ^P , HMS6 ^Q
HMS7	6	HMS7 ^I , HMS7 ^L , HMS7 ^N , HMS7 ^O , HMS7 ^P , HMS7 ^Q	6	HMS7 ^I , HMS7 ^L , HMS7 ^M , HMS7 ^N , HMS7 ^O , HMS7 ^Q	5	HMS7 ^I , HMS7 ^L , HMS7 ^M , HMS7 ^N , HMS7 ^O
HTG10	6	HTG10 ^I , HTG10 ^K , HTG10 ^L , HTG10 ^M , HTG10 ^N , HTG10 ^Q	8	HTG10 ^I , HTG10 ^K , HTG10 ^L , HTG10 ^M , HTG10 ^N , HTG10 ^O , HTG10 ^P , HTG10 ^Q	6	HTG10 ^K , HTG10 ^L , HTG10 ^N , HTG10 ^O , HTG10 ^P , HTG10 ^Q
HTG4	4	HTG4 ^K , HTG4 ^L , HTG4 ^M , HTG4 ^O	5	HTG4 ^K , HTG4 ^L , HTG4 ^M , HTG4 ^O , HTG4 ^P	4	HTG4 ^K , HTG4 ^M , HTG4 ^O , HTG4 ^P
HTG6	5	HTG6 ^G , HTG6 ^I , HTG6 ^J , HTG6 ^M , HTG6 ^O	7	HTG6 ^G , HTG6 ^I , HTG6 ^J , HTG6 ^M , HTG6 ^N , HTG6 ^O , HTG6 ^P	6	HTG6 ^G , HTG6 ^I , HTG6 ^J , HTG6 ^M , HTG6 ^O , HTG6 ^P
HTG7	4	HTG7 ^I , HTG7 ^M , HTG7 ^N , HTG7 ^O	4	HTG7 ^I , HTG7 ^M , HTG7 ^N , HTG7 ^O	4	HTG7 ^I , HTG7 ^M , HTG7 ^N , HTG7 ^O
LEX3	9	LEX3 ^F , LEX3 ^G , LEX3 ^H , LEX3 ^I , LEX3 ^K , LEX3 ^L , LEX3 ^M , LEX3 ^N , LEX3 ^P	9	LEX3 ^F , LEX3 ^G , LEX3 ^H , LEX3 ^I , LEX3 ^L , LEX3 ^M , LEX3 ^N , LEX3 ^O , LEX3 ^P	6	LEX3 ^F , LEX3 ^L , LEX3 ^M , LEX3 ^N , LEX3 ^O , LEX3 ^P
VHL20	7	VHL20 ^I , VHL20 ^J , VHL20 ^M , VHL20 ^O , VHL20 ^P , VHL20 ^Q , VHL20 ^R	9	VHL20 ^I , VHL20 ^J , VHL20 ^M , VHL20 ^N , VHL20 ^O , VHL20 ^P , VHL20 ^Q , VHL20 ^R	7	VHL20 ^I , VHL20 ^J , VHL20 ^M , VHL20 ^N , VHL20 ^O , VHL20 ^P , VHL20 ^Q
Среднее число аллелей		6,5±0,14		7,1±0,15		5,5±0,30

оценка изменчивости и консолидации пород по микросателлитным локусам.

В результате проведенных исследований по 15 локусам микросателлитов (АНТ4, АНТ5, ASB23, СА425, HMS1, HMS2, HMS3, HMS6, HMS7, НТГ4, НТГ6, НТГ7, НТГ10, LEX3, VHL20) было установлено, что лошади якутской, мегежекской и приленской пород имеют своеобразный генетический профиль, выражаемый определенным спектром аллелей и генотипов. Общее количество аллелей по 15 изученным микросателлитным локусам лошадей составило 113. Число исследованных аллелей в локусе варьировало от 4 (НТГ4, НТГ4) до 10 (АНТ4). Наиболее широким спектром аллелей по 15 локусам микросателлитов ($n=107$) обладала мегежекская порода. Из них 6 аллелей [АНТ4^F (0,022), СА425^L (0,033), HMS2^P (0,011), HMS6^L (0,011) и HMS6^N (0,011), НТГ6^N (0,185)], не были обнаружены в двух других породах (табл. 2).

У лошадей якутской породы было выявлено 94 аллеля, в том числе 3 из них не встречались в мегежекской и приленской породах [АНТ4^L (0,058), HMS7^P (0,012), LEX3^K (0,035)]. Низкий уровень генетического разнообразия был отмечен у лошадей приленской породы, у которой выявлено 85 аллелей, из них два по встречаемости были редкими [АНТ5^M (0,071), ASB23^Q (0,071)]. Сравнительный анализ биоразнообразия микросателлитных локусов у лошадей разных пород показал, что число аллелей в локусе АНТ4 колебалось от 5 (чистокровная верховая порода) до 9 у якутской и башкирской пород [20].

В наших исследованиях среднее число аллелей на локус составило у лошадей мегежекской породы – $7,1 \pm 0,15$, что достоверно выше ($P < 0,001$), чем у якутской – $6,5 \pm 0,14$ и приленской – $5,5 \pm 0,30$. Аллелофонд в локусе АНТ5 у изученных пород был представлен практически одинаковыми вариантами АНТ5^J, АНТ5^K, АНТ5^L и АНТ5^N, из них самым распространенным был АНТ5^K аллель, частота которого колебалась в зависимости от породы от 0,302 до 0,429. По локусу ASB23 было выявлено 8 аллелей из 16 обнаруженных у различных пород лошадей. При этом у якутской и мегежекской пород отсутствовал аллель ASB23^Q, который выявлен у приленских лошадей и составлял 7,1% от всех обнаруженных аллелей.

В локусе СА425 выявлено 9 из 16 аллелей, при этом только в генотипах лошадей мегежекской породы обнаружен аллель СА425^L (0,033). В локусе HMS1 определено 7 аллелей, из которых HMS1^L, HMS1^J, HMS1^K, HMS1^M и HMS1^Q были типичными для лошадей трех изученных пород. У лошадей приленской породы отсутствовали HMS1^L и HMS1^N аллели, у мегежекских также не обнаружен аллель HMS1^N. Локус HMS2 был представлен 9 аллелями у лошадей мегежекской, 7 – у якутской и 6 – у приленской породы. В приленской породе не обнаружен HMS2^R аллель. Только у лошадей мегежекской породы выявлен редкий HMS2^P аллель (0,011). В HMS3 локусе из 14 известных аллелей было выявлено 6: HMS3^L, HMS3^M, HMS3^O, HMS3^P, HMS3^Q и HMS3^R.

В HMS6 локусе у лошадей мегежекской породы было определено 7 из 9 зарегистрированных аллелей и по 5 аллелей у приленской и якутской пород. Только у мегежекских лошадей обнаружены редкие аллели HMS6^L (0,011) и HMS6^N (0,011). В HMS7 локусе у лошадей изученных пород было обнаружено 7 из 11 известных аллельных вариантов. Только у лошадей якутской породы обнаружен редкий аллель HMS7^P (0,012) и отсутствовал аллель HMS7^M.

По локусу НТГ4 выявлено 5 аллелей, из них НТГ4^K, НТГ4^L, НТГ4^M и НТГ4^O были представлены во всех изученных популяциях лошадей с явным преобладанием НТГ4^M аллеля, частота встречаемости которого составляла в якутской породе лошадей 74%, в приленской – 71%, в мегежекской – 61%. У лошадей якутской породы не обнаружен НТГ4^P аллель. Выявлена низкая частота встречаемости аллеля НТГ4^K (0,012), тогда как его частота составляет 0,141 у лошадей приленской и 0,180 – у мегежекской пород. В приленской породе не выявлен НТГ4^L аллель. В НТГ6 локусе у лошадей изученных пород было определено 7 аллелей. Аллельный вариант НТГ6^N (0,011) был обнаружен только у мегежекских лошадей. НТГ6^P аллель с невысокой частотой встречался у лошадей приленской и мегежекской пород.

При исследовании НТГ7 локуса был установлен сравнительно невысокий уровень генетического разнообразия: было выявлено 4 аллеля (НТГ7^J, НТГ7^M, НТГ7^N и НТГ7^O). Причиной тому явилась частая встречаемость гомозиготных генотипов. В локусе НТГ10 у мегежекской породы было зарегистрировано 8 аллелей. При этом у лошадей якутской и мегежекской пород преобладал аллель НТГ10^N (0,337 – 0,477), который редко встречался в приленской породе. Для исследованной небольшой популяции приленских лошадей по данному локусу характерна высокая встречаемость НТГ10^O аллеля (0,430), который не был обнаружен у якутской породы.

Локус LEX3 расположен на X-хромосоме, благодаря чему характеризует разнообразие популяций лошадей по материнской линии. По данному локусу был выявлен высокий уровень генетического разнообразия: обнаружено 9 аллелей из 14 ранее выявленных. У лошадей всех трех пород были выявлены LEX3^F, LEX3^L, LEX3^M, LEX3^N и LEX3^P аллели, что свидетельствует о наличии общей маточной формы предков. Преобладающими аллелями в изученных породах были LEX3^M (0,357–0,488), LEX3^N (0,105–0,217) и LEX3^P (0,109–0,250). При этом аллель LEX3^K (0,035) был обнаружен только у якутских лошадей. В VHL20 локусе было определено 9 аллелей у животных мегежекской породы и по 7 аллелей у якутских и приленских лошадей. Аллели VHL20^L, VHL20^J, VHL20^M, VHL20^O, VHL20^P и VHL20^Q были обнаружены во всех изученных породах с разной частотой встречаемости. Среди лошадей якутской породы чаще встречался VHL20^Q аллель (0,268). VHL20^L аллель устанавливался у двух других пород: приленской (0,286) и мегежекской (0,228). VHL20^L аллель (0,076) был определен только у лошадей мегежекской породы.

Среднее число эффективных аллелей (N_a) по исследованным 15 микросателлитным локусам выше у лошадей мегежекской породы и составляет $4,327 \pm 0,37$. Показатель наблюдаемой гетерозиготности (H_o) по локусам у лошадей всех пород находится практически на одном уровне 0,636–0,651 (табл. 3).

Табл. 3. Генетико-популяционные характеристики пород лошадей, разводимых в Якутии, по 15 локусам микросателлитов

Порода	<i>n</i>	<i>N_a</i>	<i>H_o</i>	<i>H_e</i>	<i>F_{is}</i>
Якутская	43	3,623±0,34	0,636±0,04	0,688±0,03	0,075±0,04
Мегежекская	46	4,327±0,37	0,651±0,04	0,740±0,03	0,124±0,03
Приленская	14	3,660±0,25	0,638±0,05	0,705±0,02	0,104±0,06

Во всех исследованных породах лошадей отмечается положительное значение индекса фиксации. При этом у мегежекских лошадей показатель *F_{is}* (0,124) имеет максимальное значение, что свидетельствует о недостатке гетерозиготных генотипов в популяции. Самый высокий коэффициент генетического сходства по изученным локусам микросателлитов (0,872) имели мегежекская и якутская породы. Между приленской и мегежекской породами он был равен 0,831, между приленской и якутской – 0,780. Оценка различий по показателям генетических дистанций в целом отражала закономерности, установленные при расчете коэффициентов генетического сходства. Наименьшая генетическая дистанция по 15 локусам микросателлитов были установлены между лошадьми мегежекской и якутской пород (0,137), наибольшая (0,248) – между приленской и якутской.

Сопоставление полученных данных с уже опубликованными ранее результатами [20] выявило, что у лошадей якутской и мегежекской пород в локусе LEX3 обнаружен LEX3^G аллель, который ранее встречался только у арабской породы. В мегежекской породе выявлен аллель АНТ4^F, который ранее был обнаружен только у ахалтекинских лошадей. Видимо, это связано с прилитием крови пород, которые оказались носителями данных аллелей. Возможна и другая гипотеза, состоящая в том, что причина данного явления связана с эффектом основателя у лошадей.

Полученные нами материалы отчасти подтверждают результаты, ранее установленные в работе Тихонова В.Н. и др. [21]. Авторами было отмечено некоторое генетическое сходство по ряду признаков аборигенных якутских лошадей с животными совершенно другого экстерьерного типа. В частности с лошадьми европейской селекции: верховыми, высоконогими, нежной конституции и польской аборигенной, а также животными центрально-азиатского происхождения: ахалтекинской и некоторыми другими породами.

Проведенные исследования вносят определенный вклад в изучение генетической изменчивости популяций аборигенных лошадей. Полученные результаты имеют важное научно-практическое значение для разработки стратегических программ по сохранению уникального генофонда пород лошадей Якутии и их совершенствованию на основе использования современных методов исследований. Для каждой породы на основе полученного набора аллелей микросателлитных локусов были составлены молекулярно-генетические паспорта или так называемые «генетические формулы генотипов».

Литература

1. Кестер В. Вступительная статья // Бюллетень стра-тегии. Страсбург. Франция. – 1998. – №9. – С.1-8.
2. Hodges J. Editorial // EAAP News. – 1998. – No.55. – P.163-165.
3. The Global Strategy for the Management of Farm Animal Genetic Resources. –Rome. Italy, 1999. – 43 p.
4. Марзанов Н.С., Саморуков Ю.В., Ескин Г.В., Наси-бов М.Г., Марзанова Л.К., Канатбаев С.Г., Букаров Н.Г. Сохранение биоразнообразия. Генетические маркеры и селекция животных // Сельскохозяй-ственная биология. – 2006. – №4. – С.3-19.
5. Boettcher P.J., Hoffmann I., Baumung R. et al. Genetic resources and genomics for adaptation of livestock to

climate change // *Frontiers in Genetics*. – 2015. – Vol.5. – Art. 461. – P.3.

6. Hristov P., Yordanov G., Ivanova A., Mitkov I., Sirakova D., Mehandzyski I., Radoslavov G. Mitochondrial diversity in mountain horse population from the South-Eastern Europe // *Mitochondrial DNA Part A*. – 2016. – Vol.28(6). – P.787-792.
7. Глинская Н.А., Приловская Е.И., Каспирович Д.А., Епишко О.А., Чебуранова Е.С. Особенности SSR-по-лиморфизма лошадей // *Труды Полесского ГУ, Пинск, 2017*. – С.8-13.
8. Юрьева И.Б., Свищёва Г.Р., Вдовина В.Н., Храброва Л.А., Столповский Ю.А. Генетическое разнообразие мезенской породы лошадей (*Equus ferus caballus*) по микросателлитной ДНК // *Генетика*. – 2018. – Т. 54. – С. 64-69.
9. Винокуров И.Н. Традиционная культура народов Севера: продуктивное коневодство северо-востока Якутии. – Новосибирск: Наука, 2009. – 256 с.
10. Ковешников В.С., Калашиков Р.В. Развитие мясно-го табунного коневодства в России // *Методические рекомендации*. – М.: ФГНУ «Росинформагротех», 2007. – 176 с.
11. Чугунов А.В. Продуктивное животноводство Яку-тии. – М.: КолосС, 2009. – 455 с.
12. Абрамов А.Ф., Иванов Р.В., Алексеев Н.Д. Мясная продуктивность и качество мяса пород лошадей, разводимых в Якутии. – Якутск: ГНУЯНИИСХ СО РАСХН, 2013. – 83 с.
13. Алексеев Н.Д., Степанов Н.П. Лошадь якутской породы: внутривидовые типы, хозяйственные и биологические особенности // *Достижения науки и техники АПК*. – 2006. – №5. – С.8-9.
14. Алексеев Н.Д., Степанов Н.П., Филиппова Н.П., Халдеева М.Н. Племенная работа в коневодстве Республики Саха (Якутия) // *Farm Animals*. – 2013. – №2(3). – С.64-68.
15. Меркурьева Е.К. Биометрия в селекции и генетике сельскохозяйственных животных. – М.: Колос, 1970. – 423 с.
16. Nei M. Genetic distance between populations // *Amer. Naturalist*. – 1972. – Vol.106. – P. 283-292.
17. Храброва Л.А., Зайцев А.М. Методические реко-мендации по ведению генетического мониторинга местных пород лошадей. – Дивово: ВНИИ коневод-ства, 2005. – 50 с.
18. Peakall R., Smouse P.E. GenAlEx 6.5: genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research – an update // *Bioinformatics*. – 2012. – Vol. 28. – P.2537-2539.
19. Степанов Н.П., Мартынов М.Н., Филиппова Н.П. Племенная работа в табунном коневодстве Респу-блики Саха (Якутия). – Якутск: Сфера, 2016. – 92 с.
20. Калашиков В.В., Храброва Л.А., Зайцев А.М., Зай-цева М.А., Калинин А.А. Полиморфизм микроса-теллитной ДНК у лошадей заводских и локальных пород // *Сельскохозяйственная биология*. – 2011. – №2. – С.41-45.
21. Тихонов В.Н., Котрэн Е.Г., Князев С.П. Популяцио-но-генетические параметры аборигенных якутских лошадей в связи с филогенетией современных пород домашней лошади *Equus caballus* L. // *Генетика*. – 1998. – Т. 34. – №6. – С.796-809.

Поступила в редакцию 23.03.20
После доработки 23.04.20
Принята к публикации 25.04.20

**УНИВЕРСАЛЬНАЯ ТЕХНОЛОГИЯ ПОЛУЧЕНИЯ ВИРУССОДЕРЖАЩЕГО МАТЕРИАЛА
ДЛЯ ИЗГОТОВЛЕНИЯ ЖИВЫХ И ИНАКТИВИРОВАННЫХ ВАКЦИН
ПРОТИВ ОСОБО ОПАСНЫХ БОЛЕЗНЕЙ МЕЛКОГО И
КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА***

**В.М. Балышев, доктор ветеринарных наук, С.Г. Юрков, В.И. Балышева, доктора биологических наук,
О.Г. Лаптева, И.А. Сливко, С.П. Живодеров, А.В. Луницин, кандидаты ветеринарных наук**

*Федеральный исследовательский центр вирусологии и микробиологии,
601125, Владимирская область, Петушинский район, п. Вольгинский
E-mail: balyshevvm@rambler.ru*

Описана универсальная технология получения вирусосодержащего сырья, используемого при изготовлении вакцинных препаратов против чумы мелких жвачных животных, оспы овец, оспы коз, блютанга и нодулярного дерматита (заразного узелкового дерматита) крупного рогатого скота. Проанализирована эпизоотическая ситуация по этим болезням в РФ и сопредельных странах, которые представляют наибольшую опасность заноса с их территории вирулентного вируса. Приведены основные технологические параметры, используемые при наработке высокоактивного вирусного сырья, необходимого для изготовления вакцинных препаратов. Показано, что в полученных перевиваемых субиниях культур клеток почки овцы и почки сайги, которые являются взаимозаменяемыми, за один производственный цикл можно получить 48 дм³ вирусосодержащего материала с активностью 5,58-6,67 lg ТЦД₅₀/см³, из которого можно изготовить от 4,5 до 9,0 млн доз вакцины. При использовании вакцин, изготовленных на основе описанной технологии, у животных формировался напряженный иммунитет к указанным болезням.

**MULTIPURPOSE TECHNOLOGY FOR OBTAINING OF VIRUS-CONTAINING MATERIAL
FOR MANUFACTURE OF LIVE AND INACTIVATED VACCINES AGAINST MOST DANGEROUS
DISEASES OF CATTLE AND GOATS**

**Balyshev V.M., Yurkov S.G., Balysheva V.I., Lapteva O.G., Slivko I.A.,
Zhivoderov S.P., Lunitsin A.V.**

*Federal Research Center for Virology and Microbiology,
601125, Vladimirskaya oblast, Petushinskiy rayon, Volginsky
E-mail: balyshevvm@rambler.ru*

This article describes the universal technology of obtaining highly active virus-containing material, which is used for vaccines manufacturing against the Peste des petits ruminants, sheep pox, goat pox, Bluetongue, and Lumpy Skin Disease of cattle. It also contains the analyses of the epizootic situation of these diseases in the Russian Federation and some information about bordering countries that are endemic for these viruses. It shows that sheep kidney and saiga kidney cell culture (which are interchangeable) obtained in FRCVM allows obtaining 48 dm³ of virus-containing material with 5,58-6,83 lg TCD₅₀/cm³ for one production cycle, which is enough for preparation from 4.5 to 9.0 million doses of vaccine. Vaccines based on this technology were used to vaccinate target animals. The animals developed a stable immunity to these diseases.

Ключевые слова: вакцины, вирусосодержащий материал, культуры клеток, мелкий и крупный рогатый скот, особо опасные болезни, технология

Key words: vaccines, virus-containing material, cell cultures, small ruminants and cattle, highly dangerous diseases, technology

Быстро развивающимися отраслями животноводства в РФ являются молочное и мясное скотоводство и овцеводство. Правительственный план поддержки отрасли животноводства наряду с модернизацией технологии содержания животных и повышением их генетического потенциала предусматривает обеспечение практической ветеринарии высокоэффективными вакцинными препаратами [1].

В настоящее время живые и инактивированные вакцины широко применяются в ветеринарной практике многих стран мира [2-5]. Из болезней крупного и мелкого рогатого скота вирусной этиологии наибольшую опасность для РФ представляют оспа овец (ОО), оспа коз (ОК), чума мелких жвачных (ЧМЖ), нодулярный дерматит (заразный узелковый дерматит) крупного рогатого скота (НД) и блютанг, которые способны к быстрому трансграничному распространению и характеризуются высокой заболеваемостью [6-9]. При этом летальность у мелких жвачных животных при оспе овец, коз, чуме и блютанге может достигать 50-100%.

Из сопредельных стран, с которыми РФ имеет общую границу или тесные экономические связи, наибольшую опасность заноса с их территории вирулентного вируса представляют Таджикистан, Киргизия, Казахстан, Узбекистан, Туркменистан, Армения, Грузия, Азербайджан, Турция, Иран, Монголия и Китай [10]. В РФ наиболее напряженная ситуация по оспе овец и коз отмечалась в 1994-1995 гг., когда болезнь была диагностирована в Дагестане, а затем еще в девяти регионах страны, в которых было зарегистрировано 42 эпизоотических очага. В период с 2010 по 2019 гг. на территории России оспу овец и коз регистрировали в Приморском, Забайкальском краях, Амурской области, Дагестане, Калмыкии, Тульской и Московской областях [11].

Впервые заболевание нодулярным дерматитом крупного рогатого скота в России было установлено в 2015 г. Всего в 2015-2017 гг. зарегистрировано 375 вспышек болезни в 21 субъекте 4 федеральных округов РФ: Северо-Кавказском, Южном, Поволжском и Центральном [12-14].

* Исследования выполнены в рамках государственного задания 0451-2019 – 0005.

Проблема блютанга приобрела особую актуальность для России после вспышки этой инфекции в Республике Бурятия в 1993 г. [15]. С 1999 г. эпизоотическая ситуация по блютангу в Европе резко усугубилась [16, 17]. Возможное появление блютанга в РФ прогнозировалась с 2006 г., когда начался импорт крупного рогатого скота из различных стран ЕС, в том числе и из неблагополучных по этой болезни [18].

В настоящее время Россия является благополучной по чуме мелких жвачных животных. Однако в последние годы ее диагностировали в Китае, Монголии, Казахстане, Таджикистане, Турции, Ираке, Пакистане и ряде других стран Азии, где зарегистрировано более 31 тысячи случаев этого заболевания [19-21]. В 2016 г. чума мелких жвачных установлена в Грузии, что указывает на прямую угрозу заноса болезни в Северо-Кавказский федеральный округ России [22].

Сложная эпизоотическая обстановка в мире по оспе овец, оспе коз, чуме мелких жвачных, нодулярному дерматиту крупного рогатого скота и блютангу свидетельствует о необходимости обеспечения практической ветеринарной службы России высокоэффективными вакцинами против этих болезней.

В связи с изложенным, целью исследований являлась разработка универсальной технологии получения вирусного сырья, используемого для изготовления высокоиммуногенных вакцинных препаратов против оспы овец, оспы коз, чумы мелких жвачных, нодулярного дерматита крупного рогатого скота и блютанга на основе перевиваемых клеточных культур и технических приемов выращивания клеток и вирусов.

Методика. В работе использовали перевиваемые линии клеток почки овцы ПО-ВНИИВВиМ (ПО) и почки сайги ПС-ВНИИВВиМ (ПС), которые получали из коллекций клеточных культур ФГБНУ ФИЦВиМ. Использовали вирус ОО, вакцинный штамм «Б-5/96»; вирус ОК, вакцинный штамм «ОК/А-04»; вирус ЧМЖ, вакцинный штамм «45G37/35-К/ПС»; вирус блютанга, вирулентные штаммы 8, 4, 12 серотипов; вирус НД крупного рогатого скота, вирулентный штамм «Волгоградский». Штаммы вирусов получали из «Государственной коллекции микроорганизмов, вызывающих опасные, особо опасные, в том числе зооантропонозные и не встречающиеся на

территории страны болезни животных» (реестровый номер ЦКП – 441429, <http://ckp-rf.ru/ckp/441429/>).

Культуры клеток и вирусы выращивали в синтетической среде Игла МЕМ фирмы NuClone (США) с добавлением фетальной сыворотки крови крупного рогатого скота фирм «Biological Ind.» (Израиль) или «БиолоТ» (Россия). Деагрегацию монослоя культур клеток осуществляли 0,02%-ным раствором версена и 0,25%-ным раствором трипсина.

В исследованиях использовали инвертированные микроскопы Olimpus (Япония), ламинарные шкафы с вертикальным потоком воздуха II класса Nu Aire (США), низкотемпературные холодильники Sanyo (Япония).

При наработке матричных расплодок культур клеток и вирусов их культивирование проводили в пластиковых флаконах фирмы «Corning» (США) с ростовой поверхностью 225,0 см², а при получении производственных серий вирусосодержащих материалов – в стеклянных сосудах емкостью 3,0 дм³ на ролирных установках производства ФГБНУ ФИЦВиМ [23].

Для получения матричных расплодок культур клеток в культуральные флаконы со средой Игла МЕМ на солевом растворе Эрла с 7-10% фетальной сыворотки крупного рогатого скота добавляли клетки, хранящиеся в жидком азоте (температура минус 196 °С) в концентрации 0,1-0,12 млн/см³ и инкубировали в статических условиях при температуре 37 ± 0,5 °С в течение 5-7 суток. Концентрацию и жизнеспособность клеток определяли методом витального окрашивания трипановым синим в камере Горяева.

Аналогично готовили матричные расплодки вирусных штаммов. С этой целью лиофилизированные штаммы вирусов, по 4 ампулы каждого, разводили питательной средой Игла МЕМ (рН 7,2 ± 0,2) с 2,0% сыворотки крови крупного рогатого скота. Суспензии ампул каждого штамма объединяли и вносили на суточный монослой клеток ПС или ПО, выращенный в культуральных флаконах, из расчета 0,001-0,05 ТЦД₅₀/кл. Адсорбцию вируса в культурах клеток осуществляли при 37,0 ± 0,5 °С в течение 60 мин. Затем во флаконы вносили поддерживающую среду Игла МЕМ с 2,0% фетальной сыворотки крупного рогатого скота и инкубировали в течение 4-7 суток до развития цитопатогенного действия (ЦПД) у 70-80% клеток. Затем культуральные флаконы замораживали при температуре минус 40 ± 0,5 °С, после размораживания их содержимое объединяли и определяли инфекционную активность каждого вируса. После этого их использовали в качестве матричных расплодок при наработке производственных серий вирусосодержащего материала. Вирус блютанга не замораживали и хранили до использования при температуре 4 ± 2 °С.

Титр вируса определяли по методу Рида и Менча в модификации Ашмарина и выражали в lg ТЦД₅₀/см³. Результаты обрабатывали статистически с использованием программы Microsoft Excel. Достоверность статистической разности между средними величинами определяли по разностному методу Стьюдента-Фишера.

Результаты и обсуждение. Обоснованием для разработки технологии получения вирусного сырья с использованием универсальной системы культивирования клеток и технических приемов выращивания вирусов ОО, ОК, ЧМЖ, блютанга 4, 8 и 12 серотипов и НД крупного рогатого скота явилось получение нами методом клонирования и селективных пассажей при низкой посадочной концентрации высокотехнологичных, быстро растущих и генетических более однородных сублиний перевиваемых культур клеток ПО-ВНИИВВиМ и ПС-ВНИИВВиМ, которые размножались в среде опре-

Табл. 1. Характеристика перевиваемых сублиний культур клеток

Показатель	Наименование культуры (сублинии)	
	ПС-ВНИИВВиМ	ПО-ВНИИВВиМ
Период адаптации и селекции, пассажей	20	38
Максимальный пассаж	60	50
Среда культивирования	Игла МЕМ на солевом растворе Эрла	Игла МЕМ на солевом растворе Эрла
Концентрация сыворотки крови крупного рогатого скота, %	5	10
Индекс пролиферации	3-5	2-4
Формирование монослоя, ч	48	48
Морфология клеток	эпителиоподобные	эпителиоподобные
Размах варьирования числа хромосом	43-56	53-71
Модальное число хромосом (группа)	50 (2n=60)	59-61 (2n=54)
Величина модального класса, %	40	46

деленного химического состава и были чувствительны к этим вирусам, обеспечивая их высокое накопление при культивировании стационарным методом. Созданы криобанки полученных сублиний культур клеток, которые паспортизированы и заложены в жидкий азот с концентрацией 12-15 млн клеток/см³. Основные паспортные характеристики полученных сублиний культур клеток приведены в таблице 1.

Поскольку культивирование вирусов в стационарном режиме не может удовлетворить крупномасштабное производство вирусных вакцин, были проведены исследования по масштабированию процесса культивирования производственных штаммов вирусов ОО, ОК, ЧМЖ и блютанга 1, 4 и 8 серотипов, применяя роллерный метод выращивания клеток и вирусов.

Полученные сублинии клеток использовали при крупномасштабном культивировании в 3,0-х литровых сосудах на роллерных установках с посадочной концентрацией матричных расплодок клеток 300 тыс. кл/см³ (0,120 млн/см³). Скорость вращения роллерных сосудов составляла 12 об/час. После образования клеточного монослоя из роллерных бутылок удаляли ростовую среду и вносили матричные расплодки вирусов. Время контакта вируса с клетками во вращающихся сосудах при температуре 37,0 ± 0,5 °С составляло 60 мин. Затем в культуральные сосуды вносили поддерживающую среду аналогичного состава и продолжали проводить культивирование до образования ЦПД у 70-80% клеток.

Учитывая, что при разработке технологии получения вирусного сырья первоочередное значение имеют множественность заражения, состав питательной среды, концентрация водородных ионов, способ заражения и длительность культивирования, проводили исследования по определению этих параметров, результаты которых приведены в таблице 2.

Аналогичные результаты получены при культивировании этих вирусов в перевиваемой сублинии клеток ПС-ВНИИВВиМ.

Таким образом, на основании проведенных исследований разработаны следующие технологические параметры получения вирусосодержащего материала для изготовления вакцинных препаратов против оспы овец, оспы коз, чумы мелких жвачных и блютанга в перевиваемых сублиниях культур клеток ПО-ВНИИВВиМ и ПС-ВНИИВВиМ: среда для культивирования вирусов – Игла МЕМ на солевом растворе Эрла с 2-4% сыворотки крови крупного рогатого скота; множественность

Табл. 3. Характеристика вакцин, изготовленных на основе перевиваемых сублиний культур клеток ПО-ВНИИВВиМ и ПС-ВНИИВВиМ

Наименование	Титр вирусвакцины, lg ТЦД ₅₀ /см ³	Прививная доза	Титр ВНА* на 21 сут после прививки
Вирусвакцина против оспы овец сухая культуральная	4,52±0,17	300 ТЦД ₅₀	1:2-1:8
Вирусвакцина против оспы коз сухая культуральная	4,5±0,25	1000 ТЦД ₅₀	1:2-1:8
Вирусвакцина против чумы мелких жвачных животных культуральная	4,83±0,14	1000 ТЦД ₅₀	1:8-1:32
Ассоциированная вирусвакцина против оспы овец и чумы мелких жвачных животных	4,67±0,14 (вирус ЧМЖ)	1000 ТЦД ₅₀	1:8-1:32;
	4,75±0,25 (вирус ОО)	1000 ТЦД ₅₀	1:2-1:4
Инактивированная вакцина против блютанга 8, 4 и 12 серотипов	6,5±0,16	2,0 см ³ – овцам; 3,0 см ³ – крупному рогатому скоту	1:16-1:32 1:16-1:32

*ВНА – вируснейтрализующие антитела.

заражения 0,01-0,0001 ТЦД₅₀/кл; продолжительность культивирования – 3-7 суток; рН среды – 7,0-7,4; объем заполнения сосудов емкостью 3,0 дм³ – 0,5 дм³; температура культивирования – 37,0±0,5 °С.

Эти же параметры были эффективны и при выращивании вирулентного штамма Волгоградский вируса НД крупного рогатого скота, взятого в качестве контрольного. Его накопление в этих культурах клеток составляло 5,5±0,23ТЦД₅₀/см³.

Культивирование производственных штаммов в сублинии клеток ПО-ВНИИВВиМ и ПС-ВНИИВВиМ на роллерной установке во вращающихся сосудах объемом 3,0 дм³ позволяет получать за один производственный цикл 48 дм³ вирусосодержащего материала с инфекционной активностью 5,13- 5,58 lg ТЦД₅₀/см³ для вирусов ОО, ОК, ЧМЖ и 6,67-6,83 lg ТЦД₅₀/см³ для вируса блютанга, из которого можно приготовить от 4,5 до 9,0 млн доз вакцины.

Разработанную технологию применяли при получении вирусосодержащего материала для изготовления вакцин против особо опасных болезней мелкого и крупного рогатого скота. Основные характеристики вакцин приведены в таблице 3.

Эти вакцины применяют в России и ряде других стран (Таджикистан, Казахстан, Киргизия, Молдавия и другие) при профилактике и борьбе с указанными особо опасными болезнями мелкого и крупного рогатого скота. Так, только за 2016-2019 гг. ФГБНУ ФИЦВиМ изготовил более 100 млн доз вирусвакцины против оспы овец сухой культуральной, которая также использовалась и для профилактики нодулярного дерматита крупного рогатого скота в 10-кратной «овечей» дозе. Высокая эффективность этой вирусвакцины была показана во время вспышки заболевания в 2016-2017 гг. в Волгоградской области.

На основании проведенных исследований разработана универсальная роллерная технология

Табл. 2. Зависимость титра вируса от технологических параметров культивирования в перевиваемой сублинии клеток ПО-ВНИИВВиМ

Параметр	Значение	Титр вируса (lg ТЦД ₅₀ /см ³)			
		блютанг	ОО	ОК	ЧМЖ
Объем заполнения, дм ³	0,25	7,00±0,08	6,25±0,07	6,0±0,25	6,33±0,14
	0,50	6,83±0,14	5,45±0,25	5,5±0,23	6,0±0,14
	0,75	6,52±0,16	5,25±0,06	5,25±0,25	5,5±0,00
Множественность заражения, ТЦД ₅₀ /кл	0,1-0,5	6,08±0,23	5,25±0,20	5,22±0,17	4,58±0,14
	0,01-0,05	6,53±0,13	5,53±0,13	5,75±0,25	5,5±0,25
	0,001-0,005	6,67±0,14	5,58±0,14	5,5±0,25	5,25±0,35
	0,0001-0,0005	5,56±0,17	4,83±0,16	5,5±0,25	5,67±0,14
Содержание сыворотки в среде, %		2	2	2	4
Длительность культивирования, сут		3-4	5-7	5-7	5-7

получения высокоактивного вирусосодержащего сырья, которое используется при производстве высокоиммуногенных вакцин против особо опасных болезней мелкого и крупного рогатого скота, представляющих угрозу животноводству РФ – вирусвакцины против оспы овец сухой культуральной, экспериментальной вирусвакцины против оспы коз сухой культуральной, сухой культуральной вирусвакцины против чумы мелких жвачных животных, ассоциированной вакцины против оспы и чумы мелких жвачных животных, а также инактивированной вакцины против блютанга.

Универсальность разработанной технологии заключается в том, что полученные сублиннии перевиваемых клеток ПО-ВНИИВВиМ и ПС-ВНИИВВиМ адаптированы к выращиванию при единых технологических параметрах культивирования на роллерных установках в среде определенного состава (Игла MEM) с 5-10% сыворотки крови крупного рогатого скота. Это дает возможность быстрого перехода культивирования одной клеточной линии (и вируса) к другой, что особенно важно при необходимости срочной наработки вакцин против оспы овец, коз, чумы мелких жвачных животных, нодулярного дерматита и всех серотипов вируса блютанга в зависимости от эпизоотической ситуации в РФ по указанным болезням.

Приготовленный по этой технологии вирусосодержащий материал отвечает рекомендациям международного эпизоотического бюро, предъявляемым к вирусному сырью, используемому при производстве аналогичных вакцин.

Литература

1. О Государственной программе развития сельского хозяйства и регулирования рынков сельскохозяйственной продукции, сырья и продовольствия на 2013-2020 годы. Постановление Правительства РФ от 14.07.2012 г. №714 [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <http://ivo.garant.ru/#/document/70210644/paragraph/23505545:0>.
2. Юров К.П., Шуляк А.Ф., Готов А.Г., Заерко В.И. Вакцина «Тривак» против инфекционного ринотрахеита, вирусной диареи – болезни слизистых оболочек и парагриппа-3 крупного рогатого скота // *Ветеринария*. – 2015. – № 3. – С. 17-23.
3. Бальшиева В.И., Нестеров Е.А., Луницин А.В., Живодеров С.П., Горшкова Т.Ф., Лаптева О.Г., Бальшиев В.М., Колбасов Д.В. Эффективность трехвалентной инактивированной вакцины против блютанга для мелкого и крупного рогатого скота // *Доклады РАСХН*. – 2013. – № 4. – С. 49-51.
4. Barkhouse D.A., Faber M., Hooper D.C. Pre- and post-exposure safety and efficacy of attenuated rabies virus vaccines are enhanced by their expression of IFN // *Virology*. – 2015. – № 474. – P. 174-180.
5. Hermann M., BeacHemann M., Beach N.M., Meng X.J., Wang C., Halbur P.G., Opriessnig T. A live-attenuated and an inactivated chimeric porcine circovirus (PCV) 1-2 vaccine are both effective at inducing a humoral immune response and reducing PCV2 viremia and intrauterine infection in female swine of breeding age // *Can. J. Vet. Res.* – 2014. – №78 (1) – P. 8-16.
6. Самуйленко А.Я., Соловьев Б.В., Непоклонов Е.А., Воронин Е.С. Инфекционная патология животных. М.: «Академкнига», 2006. – 910 с.
7. Kirkland P.D., Zyng N., Hawkes R.A. Studies on the epidemiology of bluetongue virus in *Cyina* // *Epidemiol. Infect.* – 2002. – №128 (2). – P. 257-263.
8. Щербинин С.В., Караулов А.К., Захаров В.М. Анализ угрозы заноса чумы мелких жвачных на территорию Российской Федерации // *Ветеринария сегодня*. – 2017. – №4 (23). – С. 17-20.
9. Журавлёва В.А., Бальшиев В.М., Книзе А.В., Гузалова А.Г., Сидлик М.В., Пивова Е.Ю., Луницин А.В. Анализ и прогноз мировой эпизоотической обстановки по нодулярному дерматиту крупного рогатого скота на период до 2030 г. // *Научный журнал КубГАУ*. – 2018. – №139(5). – С. 83-98.
10. Книзе А.В., Болгова М.В., Тураев Р.А., Абдулов А.О. Бальшиев В.М. Анализ эпизоотической ситуации и моделирование потенциальных нозоареалов оспы и чумы мелких жвачных животных до 2020 года. // *Ветеринарный врач*. – 2016. – № 1. – С. 11-16.
11. *Sheep pox and goat pox. Summary of Immediate notifications and Follow-ups. OIE* [Электронный ресурс]. – Режим доступа: [http://www.oie.int/wahis_2/public/wahid.php/Disease information/ Immunsummary](http://www.oie.int/wahis_2/public/wahid.php/Disease%20information/Immunsummary).
12. Кононов А.В., Кононова С.В., Шумилова И.Н. Нестеров А.А., Шишков А.В., Диев В.И. Культурально-биологические свойства возбудителя нодулярного дерматита крупного рогатого скота, выделенного на территории Российской Федерации в 2015 году // *Ветеринария сегодня*. – 2016. – № 3. – С. 8-18.
13. Борисевич С.В., Сизикова Т.Е., Петров А.А., Карулин А.В., Лебедев В.Н. Нодулярный дерматит: появление новой поксвирусной инфекции в России // *Проблемы особо опасных инфекций*. – 2018. – № 1. – С. 5-11.
14. Usadov T., Morgunov J., Zhivoderov S., Pivova E., Balysheva V., Lunitsyn A. Investigation of pathogenicity of limpy skin disease virus for sheep // *Episone – 11th Annual Meeting «Crossing Barriers»*. ANSES. Paris, 2017. – 131 p.
15. Левченко В.П., Узрюмов Г.А., Гончиков В.Г. Вспышка катаральной лихорадки овец в Бурятии // *Ветеринария*. – 1995. – № 4. – С. 7-8.
16. Mintiens K., Méroc E., Faes C., Abrahantes J.C., Hendrickx G., Staubach C., Gerbier G., Elbers A.R., Aerts M., De Clercq K. Impact of human interventions on spread of bluetongue virus serotype 8 during the 2006 epidemic in north-western Europe // *Prev. Vet. Med.* – 2008. – № 87 (1-2). – P. 145-161.
17. Meiswinkel R., Baldet T., de Deken R., Takken W., Delécolle J.C., Mellor P.S. The 2006 outbreak of bluetongue in Northern Europe – the entomological perspective // *Prev. Vet. Med.* – 2008. – № 87 (1-2). – P. 55-63.
18. Вялых И.В., Фёдоров Г.П., Ногина И.В., Куриннов В.В., Новикова М.Б. Выделение вируса блютанга от импортированного крупного рогатого скота // *Ветеринария*. – 2010. – № 8. – С. 23-26.
19. Guler L., Evik M., Hasoksuz M. Phylogenetic analysis of peste des petits ruminants virus from outbreaks in Turkey during 2008–2012 // *Turkish Journal of Biology*. – 2014. – № 38. – P. 671- 678.
20. Закутский Н.И., Бальшиев В.М., Книзе А.В., Юрков С.Г. Чума мелких жвачных животных (современное состояние, эпизоотология, специфическая профилактика и меры борьбы) // *Научный журнал КубГАУ*. – 2012. – № 83(09). – С. 429-443.
21. Zahur A., Ullah A., Irshad H., Farooq M., Hussain M. and Jahangir M. Epidemiological investigations of a peste des petits ruminants (PPR) outbreak in Afghan sheep in Pakistan // *Vet. J. Pakistan*. – 2009. – № 29 (4). – P. 174-178.
22. Луницин А.В., Гогин А.Е., Ильясов П.В. Чума мелких жвачных животных // *Ветеринария*. – 2017. – №5. – С. 3-9.
23. Буреев И.А., Гавриченко В.А., Жестерев В.И., Калантаненко Ю.Ф. Устройство для культивирования клеток и вирусов // Патент РФ на изобретение № 2171838, 2001. Оpubл. 08.10.2001. Бюл. № 22.

Поступила в редакцию 12.03.20
После доработки 17.04.20
Принята к публикации 20.04.20

РЕЗУЛЬТАТЫ РАЗРАБОТКИ ВАКЦИНЫ ПРОТИВ САЛЬМОНЕЛЛЕЗНОГО АБОРТА ЛОШАДЕЙ

М.П. Неустроев, доктор ветеринарных наук,
С.Г. Петрова, кандидат ветеринарных наук

*Якутский научно-исследовательский институт сельского хозяйства имени М.Г. Сафронова,
677001, Якутск, ул. Бестужева-Марлинского, 23/1
E-mail: mneyc@mail.ru*

*В целях специфической профилактики сальмонеллезного аборта лошадей разработана инактивированная вакцина из штамма *Sal. abortus equi* БН-12 с фугатом штамма *Bac. Subtilis* ТНП-3 в качестве иммуномодулятора. Доклинические испытания проведены на лабораторных белых мышах, клинические – на лошадях. Установлено отсутствие токсичности препарата. Иммуногенность на белых мышах составила 90%, на кобылах – 100%. Производственные испытания вакцины показали, что после иммунизации деловой выход жеребят повышается на 13,8%. Экономическая эффективность использования вакцины с фугатом штамма *Bac. Subtilis* ТНП-3 на 1 руб. затрат составила 14,1 руб., что выше в 1,8 раза по сравнению с применением вакцины с полирибонатом. Установлено, что введение инактивированной вакцины со штаммом бактерий *Bac. subtilis* ТНП-3 является эффективным методом профилактики инфекционных абортов. По результатам исследований разработана научно-техническая документация и представлена для рассмотрения в Россельхознадзор. Утверждена Инструкция по применению вакцины и выдано Регистрационное удостоверение (71-1-10.19-4495.№ПВР-1-1.6/01631, от 10 июня 2019 г.).*

HORSE SALMONELLA ABORTION VACCINE DEVELOPMENT RESULTS

Neustroev M.P., Petrova S.G.

*Yakut Scientific Research Institute of Agriculture named after Safronov M.G.,
677001, Yakutsk, ul. Bestuzheva-Marlinskovo, 23/1
E-mail: mneyc@mail.ru*

*In order to specifically prevent salmonella abortion in horses, an inactivated vaccine from *Sal. abortus equi* BN-12 strain has been developed. with a fugate of strain *Bac. Subtilis* TNP-3 as an immunomodulator. Preclinical trials were performed on white mice and clinical trials – on horses. The absence of toxicity in white mice and mares was established. Immunogenicity on laboratory white mice was 90%, and on mares 100%. In the controlled experience after immunization, the business output increases by 13.8%. Production tests confirmed the results of laboratory and scientific experiments. Economic efficiency per 1 ruble of expenses amounted to 14.1 ruble or is 1.8 times higher compared to the vaccine with polyribonate. According to the results of preclinical trials on white mice and production tests, it was found that the introduction of an inactivated vaccine against salmonella abortion with a strain of bacteria *Bac. subtilis* TNP-3 is an effective method of preventing infectious abortion. Based on the research, scientific and technical documentation was developed and submitted for consideration to the Rosselkhoznadzor. At present, the Instructions for the use of the vaccine have been approved and a Registration Certificate (71-1-10.19-4495.№PVR-1-1.6/01631, dated June 10, 2019) has been issued.*

Ключевые слова: сальмонеллезный аборт, вакцина, токсичность, иммуногенность

Key words: salmonella abortion, vaccine, toxicity, immunogenicity

Сальмонеллезный аборт лошадей преимущественно распространен в азиатских и африканских странах, единично выявляется в странах Европы, США и Аргентине [1-4]. Высокую смертность жеребят от кишечной инфекции, вызванной *Sal. abortus equi*, отмечали в Италии [5]. Особой тяжестью отличаются вирусно-бактериальные аборты, вызванные вирусом ринопневмонии и возбудителем сальмонеллезного аборта кобыл [6]. Смешанные инфекции особенно тяжело протекают у молодняка лошадей, при которых летальность может достигать до 22% [7]. Доказано носительство возбудителя сальмонеллеза здоровыми животными [8-9].

Наиболее эффективным методом профилактики сальмонеллеза лошадей является иммунизация вакцинами. Б.А. Матвиенко с соавторами [10] разработана сухая живая вакцина из штамма ТРЕ-841 АЗВИ, которая эффективно применялась в условиях Казахстана. Предложена комплексная иммунизация ринопневмонии и сальмонеллезного аборта живыми вакцинами [11-13]. В настоящее время в Казахстане ТОО «КазНИВИ» производит вакцину против сальмонеллезного аборта кобыл из аттенуированного штамма В-0147 *Sal. abortus equi* 841 [14].

В табунном коневодстве России применяется инактивированная вакцина против сальмонеллезного аборта лошадей, разработанная Якутским НИИСХ совместно с отделом вирусологии ВИЭВ [15]. Однако ее высокая цена, обусловленная иммуномодулятором полирибонат, сдерживает широкое использование вакцины. Более того, истек срок регистрации полирибоната. Необходимость разработки средств специфической профилактики сальмонеллезного аборта лошадей возрастает в период распространения новых вирусных болезней, в том числе COVID-19. Появилось сообщение о распространении коронавирусной болезни среди лошадей в штате Колорадо (США) с клиническими признаками, сходными с сальмонеллезным абортom [16].

Целью исследований была разработка и испытания экологически безвредного и эффективного вакцинного препарата для специфической профилактики сальмонеллезного аборта лошадей.

Методика. Работа проведена в лаборатории ветеринарной биотехнологии ЯНИИСХ, ООО НПЦ Хоту-Бакт и коневодческих хозяйствах Республики Саха (Якутия).

Для приготовления вакцины против сальмонеллезного аборта лошадей использовали штамм бактерий

Sal. abortus equi БН-12, который депонирован во Всероссийском государственном научно-исследовательском институте контроля, стандартизации и сертификации ветеринарных препаратов. В составе вакцины применяли культуральную жидкость (КЖ или фугат) штамма бактерий *Bac. subtilis* ТНП-3, депонированного в ВГНКИ ветеринарных препаратов (06.02.2001 г.).

Изучение токсичности вакцины при однократном внутрижелудочном введении белым беспородным мышам проведены согласно «Санитарным правилам СП 3.3.2.561-96» (утв. Постановлением Госсанэпиднадзора РФ от 31.10.96 г., №33). Для опыта были сформированы по принципу аналогов три группы мышей массой 11-18 г. Животным 1 группы вводили культуральную жидкость из штамма бактерий *Bacillus subtilis* ТНП-3; 2 группы – вакцину; 3 группы (контрольной) – дистиллированную воду. Препараты вводили в дозе 1 мл внутрижелудочно, утром натощак. В течение последующих 7 дней вели клиническое наблюдение, после чего животных умертвили спирт-эфиром для патологоанатомических исследований. Патоморфологические исследования проведены по общепринятым методикам.

Для изучения токсичности кобылам (по 4 головы) вводили вакцину внутримышечно в область шеи в дозе 2, 3 и 6 мл. Затем за животными вели клиническое наблюдение в течение 1 месяца.

В целях изучения напряженности иммунитета сформировали три группы белых мышей по 20 голов в каждой. 1 группу иммунизировали инактивированной вакциной с культуральной жидкостью бактерий *Bac. subtilis* в дозе 0,2 мл; 2 группу – инактивированной вакциной с иммуномодулятором полирибонат в дозе 0,2 мл подкожно в область спины. Животным 3 (контрольной) группы препараты не вводили. Через 14 дней после иммунизации мышей заражали подкожно в область спины суточной культурой патогенного штамма *Sal. abortus equi* в дозе 5 LD₅₀. За белыми мышами вели наблюдения в течение 10 дней.

Для изучения напряженности иммунитета вакцины в ноябре-декабре 2015 г. были сформированы три группы кобыл по 20 голов в каждой коневодческого звена ОПХ «Покровское». Животных 1 группы обработали инактивированной вакциной с *Bac. Subtilis*; 2 группы – вакциной с полирибонатом; 3 (контрольной) группы – не иммунизировали. Препараты вводили в дозе 2 мл внутримышечно в область верхней трети шеи. Через 30 дней после иммунизации из всех групп отобраны по 3 головы жеребых кобыл, которых заражали минимальной инфицирующей дозой патогенной культуры *Sal. abortus equi*. За животными вели клиническое наблюдение.

В целях испытания инактивированной вакцины в ноябре 2016 г. подобрано 219 голов кобыл 4-5-месячной жеребости в двух звеньях ОПХ «Покровское». Кобыл перед опытом дегельментизировали препаратом ивомек. Животных разделили на три группы. Кобылам 1 группы вводили инактивированную вакцину с полирибонатом; 2 группы – вакцину со штаммом бактерий *Bac. Subtilis* ТНП-3; 3 (контрольной) группы – вакцину не вводили.

Производственные испытания препарата осуществляли в ранее неблагополучных по сальмонеллезному аборту лошадей хозяйствах Якутии. Испытания вакцины и оформление научно-технической документации проводили согласно Федеральному закону от 12.04.2010 № 61-ФЗ «Об обращении лекарственных средств» и приказу Минсельхоза РФ от 22 августа 2017 г., № 430. Цифровые материалы обработаны биометрически.

Результаты и обсуждение. За время опыта общее состояние подопытных белых мышей было удовлетворительным, двигательная активность и реакция на внешние раздражители сохранились, аппетит не нару-

шился, шерстный покров оставался гладким, консистенция кала не изменялась. К концу опыта прирост массы тела мышей 1 группы составил 2,01 г, 2 группы – 2,6 г, 3 группы – 1,4 г.

При патологоанатомическом исследовании трупов белых мышей опытных и контрольной групп патологических изменений органов и тканей не выявлено, структура органов не нарушена. По результатам гистологического исследования установлены острый венозный застой в паренхиматозных органах и отек легких. Картина изменений характерна для посмертного изменения при асфиксии. Изменения в слизистой оболочке желудка у опытных мышей характерны для гастрита, возникшего в ответ на введение препаратов. Гистоструктура паренхиматозных органов не изменена.

Результаты наблюдения иммунизированных кобыл показали, что на месте введения препарата иногда отмечалась припухлость тестоватой консистенции, которая проходила в течение 2-4 суток. За весь период наблюдений не выявлено отказа от корма, признаков угнетенности.

После заражения вирулентной культурой в 1 группе иммунизированных белых мышей погибло 2 головы, во 2 – 4, в 3 (контрольной) – 18.

У вакцинированных кобыл 1 и 2 групп после заражения аборт не наблюдался. Невакцинированные кобылы 3 группы после заражения абортывали. От абортированных плодов выделен патогенный возбудитель *Sal. abortus equi*.

Результаты биохимических исследований крови кобыл показали, что на 30 и 90 дни после иммунизации содержание общего белка и его фракций существенно не изменилось. При этом отмечено некоторое повышение альфа-глобулиновой и снижение гамма-глобулиновой фракции белка у кобыл 1 опытной группы. У животных 1 и 2 групп на 150 день после вакцинации регистрировано повышение содержания общего белка, альбуминовой и гамма-глобулиновой фракций. Этот период совпадает с максимальным синтезом агглютинирующих антител.

Результаты производственных испытаний в хозяйстве «Немюгюнцы» показали, что введение инактивированной вакцины против сальмонеллезного аборта со штаммом бактерий *Bac. subtilis* ТНП-3 является эффективным методом профилактики инфекционных абортов, поскольку ведет к увеличению делового выхода жеребят на 13,8% (табл.). У животных 1 группы зафиксировано 19 абортов, однако их сальмонеллезная этиология не установлена. В контрольной группе из 11 абортов в 3 пробах выделен возбудитель сальмонеллезного аборта лошадей. Производственные испытания были продолжены в хозяйствах Таттинского, Мегино-Кангаласского улусов и пригороде г. Якутска, где иммунизировано 1169 голов жеребых кобыл. Деловой выход молодняка составил 58,0, 70,9 и 48,4%, что существенно выше показателей предыдущих лет, колебавшихся на уровне 34,0-44,0%.

По результатам клинических наблюдений, патологоанатомического вскрытия и гистологических исследований культуральная жидкость из штамма бактерий *Bacillus subtilis* ТНП-3 и вакцина против сальмонеллезного аборта с фугатом не влияют отрицательно на общее состояние животных, не обладают аллергизирующими свойствами, не вызывают патологических изменений в органах и тканях, не оказывают токсического действия на организм лабораторных и целевых животных.

По результатам доклинических испытаний на белых мышях и производственных испытаний на лошадях установлено, что введение инактивированной

Результаты производственных испытаний инактивированной вакцины с штаммом *Bac. subtilis* против сальмонеллезного аборта лошадей

Хозяйство, группа	Вид вакцины	Кол-во гол.	Получено приплода, гол.	Зафиксировано абортов	Аборты сальмонеллезной этиологии	Деловой выход жеребят,%
«Немюгюнды», 1 группа	Вакцина + полирибонат	101	75	19	–	74,2
«Немюгюнды», 2 группа	Вакцина + <i>Bac. subtilis</i>	53	44	–	–	83,0
«Немюгюнды», 3 группа	–	65	45	11	3	69,2
Таттинский улус	Вакцина +	370	186	–	–	50,2
В т ч:						
КХ «Таатта»	<i>Bac. subtilis</i>	234	101	–	–	43,2
КХ «Кордугэн»		36	27	–	–	75,0
КХ «Победа»		100	58	–	–	58,0
Пригород г. Якутска	Вакцина + <i>Bac. subtilis</i>	124	88	–	–	70,9
Мегино-Кангаласский улус	Вакцина + <i>Bac. subtilis</i>	675	327	–	–	48,4

вакцины против сальмонеллезного аборта со штаммом бактерий *Bac. subtilis* ТНП-3 является эффективным методом профилактики инфекционных абортов.

При введении вакцины с полирибонатом экономический эффект на 1 руб. затрат составляет 7,8 руб. При внедрении способа иммунизации вакциной с фугатом *Bac. subtilis* ТНП-3 эффект на 1 руб. затрат возрастает в 1,8 раза и составляет 14,1 руб.

Следует отметить, что в предыдущих исследованиях нами установлена нецелесообразность использования живых вакцин при сальмонеллезном аборте и ринопневмонии из-за экстремальных климатических условий содержания табунных лошадей в Якутии. Разработанная нами вакцина не уступает по эпизоотической эффективности живым вакцинам, предложенным в Казахстане [14]. Таким образом, разработанный нами метод специфической профилактики сальмонеллезного аборта лошадей инактивированной вакциной с культуральной жидкостью из штамма *Bac. subtilis* ТНП-3 является экономически эффективным и его следует рекомендовать для широкого внедрения в табунном коневодстве.

Высокую эффективность инактивированной вакцины, по нашему мнению, можно объяснить антигенной активностью вакцинного штамма и иммуномодулирующим компонентом – культуральной жидкостью (фугатом) штамма бактерий *Bacillus subtilis* ТНП-3. Возможность применения пробиотиков и других биологически активных веществ в качестве иммуномодуляторов отмечена при иммунизации животных против бруцеллеза [17], сальмонеллеза коров [18], сальмонеллеза песцов [19]. Нами доказана возможность использования фугата штамма бактерий *Bac. subtilis* в качестве иммуномодулятора при разработке инактивированной вакцины против ринопневмонии лошадей. Штамм бактерий *Bacillus subtilis* ТНП-3 может индуцировать синтез интерферона и стимулировать иммунобиологическую реактивность организма, усиливать иммуногенность инактивированных бактериальных и вирусных вакцин [16, 20].

По результатам исследований разработана научно-техническая документация и представлена для рассмотрения в Россельхознадзор. В настоящее время утверждена Инструкция по применению вакцины и выдано Регистрационное удостоверение (71-1-10.19-4495№ПВР-1-1.6/01631, от 10 июня 2019 г.).

Литература

1. Bustos C.P., Gallardo J., Retamar G., Lanza N.S., Falzoni E., Caffer M.I., Picos J., Munoz A.J., Perez A., Moras E.V., Mesplet M., Guida N. *Salmonella enterica serovar Abortusequi asan emergent pathogen causing equine abortion in Argentine // J. Equine Vet. Sci. – 2016. – № 39. – S.58-59.*
2. Llorente L.A., Ivanissevich A., Camina S., Marco L., Vissani A., Olguin C., Herrera M., Barrandeguy M. *Occurrence of multiple abortions due to Salmonella enterica serovar Abortusequi infection // J. Equine Vet. Sci. – 2016. – №39. – S.58.*
3. Marenzoni M.L. *Causes of equine abortion, stillbirth and neonatal death in central Italy // Vet. Rec. – 2012. – 170. – P. 262.*
4. Rodriguez A. *Prevalence of Salmonella in diverse environmental farm samples // J. Food Prot. – 2006. – № 69. – P. 2576–2580.*
5. Grandolfo E., Parisi A., Ricci A., Lorusso E., Rocco de Siena, Trotta A., Buonavoglia D., Martella V., Corrente M. *High mortality in foals associated with Salmonella enterica subsp. Enterica Abortusequi infection in Italy // Journal of Veterinary Diagnostic Investigation. – 2018. – Vol. 30(3). – P. 483–485.*
6. Юров К.П. *Инфекционные болезни лошадей. – М.: Росагропромиздат, 2000. – С. 126-130.*
7. Неустроев М.П., Петрова С.Г. *Особенности эпизоотологии сальмонеллезного аборта лошадей в Якутии // Сельскохозяйственные науки и агропродовольственный комплекс на рубеже веков: Сборник материалов XX международной научно-практической конференции. – Новосибирск, 2017. – С.93-97.*
8. Литвинова З.А. *Патологоанатомическое проявление и лечение тромбгеморрагического синдрома при сальмонеллезе у телят // Дальневосточный аграрный вестник. – 2016. – № 2 (38). – С. 56-62.*
9. Swerczek T.W. *Identifying the bacterial causes of abortion in mares // Vet. Med. – 1991. – № 86. – P. 1210-1216.*
10. Матвиенко Б.А., Всеволодов Б.П., Куляшбекова Р.К. *Характеристика живой сухой вакцины против паратифозного аборта кобыл из штамма E-841 // Вестник сельскохозяйственной науки. – 1973. – № 4. – С. 107-110.*

11. Ахметсадыков Н.Н. Комплексная иммунопрофилактика ринопневмонии и сальмонеллезного аборта кобыл живыми вакцинами: Автореф. дис. ... канд. вет. наук. – Алма-Ата, 1988. – 22 с.
12. Ахметсадыков Н.Н., Бияшев К.Б. Биологические и иммуногенные свойства вакцинных штаммов против сальмонеллезного аборта и ринопневмонии лошадей // Диагностика, лечение и профилактика инфекционных болезней животных Казахстана. – Алма-Ата, 1989. – С. 94-99.
13. Юров К.П. Инфекционные болезни лошадей. – М.: Росагропромиздат, 1991. – С. 114-118.
14. Мусаева А.К., Егорова Н.Н. Специфическая профилактика сальмонеллезного аборта кобыл в Казахстане // Аграрная наука – сельскохозяйственному производству Сибири, Казахстана, Монголии, Белоруссии и Болгарии: Материалы XXI Международной научно-практической конференции (Новосибирск 16-17 ноября 2017 г.). – Новосибирск, 2018. – С. 197-198.
15. Неустроев М.П., Тарабукина Н.П., Петрова С.Г. Способ повышения эффективности вакцинации против инфекционных аборт в табунном коневодстве // Российская сельскохозяйственная наука. – 2019. – № 1. – С. 49-52.
16. Manship A.J., Bliklager A.T., Elfenbein J.R. Disease features of equine coronavirus and enteric salmonellosis are similar in horses // Journal of Veterinary Medicine. – 2019. – V. 33. 2. – P. 912-917.
17. Львова О.В., Ощепков В.Г., Попова Т.Г., Бронников В.С., Гуськова Т.В. Возможность применения пробиотиков при вакцинации животных различными противобруцеллезными вакцинами // Материалы шестой межрегиональной конференции, посвященной 85-летию СибНИВИ ВНИИТБЖ (г. Омск, 7-8 декабря 2007 г.). – Новосибирск, 2007. – Вып. 2. – С. 111-114.
18. Шахов А.Г., Масьянов Ю.Н., Бригадиров Ю.Н., Перишина С.И., Бирюкова М.В., Золотарев А.И., Кардашов А.М., Батищева Е.В. Применение иммуномодуляторов при вакцинации животных против сальмонеллеза // Ветеринария. – 2006. – № 6. – С. 21-26.
19. Соловьева А.С., Овсянников Ю.С., Домский И.А., Бельтюкова З.Н. Применение субалина при вакцинации щенков песца против сальмонеллеза // Ветеринарная медицина. – 2011. – № 3-4. – С. 124-126.
20. Осмаев И.А., Юров К.П., Неустроев М.П. Иммуномодулирующие свойства эндогенного интерферона у телят // Ветеринария. – 2007. – № 1. – С. 11-13.

Поступила в редакцию 23.03.20
После доработки 15.05.20
Принята к публикации 18.05.20

Механизация

УДК 631.361.43

DOI:10.31857/S2500262720040171

**МОДЕЛИРОВАНИЕ ТРАЕКТОРИИ ДВИЖЕНИЯ ЗЕРНА
ПО РАБОЧИМ ОРГАНАМ ПНЕВМОМЕХАНИЧЕСКОГО ШЕЛУШИТЕЛЯ**

Ю.Ф. Лачуга¹, академик РАН,
Р.И. Ибятгов², **Б.Г. Зиганшин²**, доктор технических наук,
Ю.Х. Шогенов¹, член-корреспондент РАН,
А.В. Дмитриев², кандидат технических наук

¹Российская академия наук,
119991, Москва, Ленинский проспект, 32а
²Казанский государственный аграрный университет,
420015, Казань, ул. К. Маркса, 65
E-mail: zigan66@mail.ru

Целью исследований было определение возможности управления работой пневмомеханического шелушителя зерна крупяных культур изменением угловых скоростей вращения его основных рабочих органов – лопастного диска (ротора) и деки для обеспечения оптимальных условий шелушения (снятия цветковой оболочки с зерна). На основе модельного представления потока воздуха изучено изменение и направление скорости зерна под действием воздушного потока противоположного направления, создаваемого реверсивной декой. Представлена математическая модель движения зерна в рабочем пространстве пневмомеханического шелушителя, учитывающая реальную аэродинамику вращающегося воздушного потока, где эффективность шелушения определяется скоростью и направлением полета зерна. На основе численной реализации этой модели сделан вывод о том, что величина скорости зерна при ударе о деку в основном обусловлена угловой скоростью вращения диска и практически не зависит от угловой скорости вращения деки. Направление скорости зерна при ударе преимущественно связано с угловой скоростью вращения деки и кривизны лопасти у кромки диска. Модель дает возможность управлять работой шелушителя, изменяет угловые скорости вращения диска и деки, влияет на направление удара зерна о деку и величину ударного взаимодействия, что позволяет создать оптимальные условия для шелушения.

**MODELING OF GRAIN MOTION TRAJECTORY BY WORKING ELEMENTS OF
PNEUMOMECHANICAL PEELING MACHINE**

Lachuga Yu.F.¹, Ibyatov R.I.², Ziganshin B.G.², Shogenov Yu.H.¹, Dmitriev A.V.²

¹Russian Academy of Sciences, 119991, Moskva, Leninskiy prosp., 32a
²Kazan State Agrarian University, 420015, Kazan, ul. K. Marxa, 65
E-mail: zigan66@mail.ru

Efforts are underway to determine governing parameters of the pneumomechanical peeling machine for grain crops. The rotor speed of blade disk (rotor) and deck are changing to provide the optimum conditions for peeling (removal of films (outer shells) from the grain. The airflow modeling is to find variation in velocity and motion direction of the grains when the gas flows in the opposite direction produced by a variable deck. A mathematical model of grain motion in the working space of the pneumomechanical machine is presented, taking into account real flow dynamics of rotating airflow, where the peeling efficiency depends on the speed and flight direction of the grain. The simulation results of the mathematical model of grain motion trajectory by working elements of the pneumomechanical machine reveal that the grain velocity on its impact with the deck is most determined by the disc speed and is mainly independent of the deck speed. In contrast, the direction of the grain velocity, in this case, depends primarily on the deck speed and curvature of the blade at the disc edge. The developed model makes it possible to control the operation of the peeling machine by changing the speeds of the disc and deck, influencing the direction of the grain impact on the deck and the value of impact interaction, which allows to create the optimum conditions for peeling.

Ключевые слова: шелушение зерна, пневмомеханический шелушитель, лопастной диск, удар, траектория, зерно

Key words: grain peeling, pneumomechanical peeling machine, blade disk, impact, trajectory, grain

Основной рабочий орган машин для пневмомеханического шелушения зерна – лопастной диск, который вращается внутри закрытой сверху цилиндрической поверхности (деки). На вращающийся диск подается зерновой материал, разгоняемый и выбрасываемый в направлении рабочей поверхности (деки), при ударе о которую происходит шелушение. Дека может быть неподвижна или иметь обратное вращение вокруг лопастного диска [1-3].

Теоретические исследования движения зерна по рабочим органам машин, в том числе по лопастному диску, и взаимодействия с рабочими поверхностями представлены в работах [4-10]. Однако при функционировании пневмомеханического шелушителя с вращающейся декой движение зерна после отрыва от лопастного диска имеет сложный характер и изучен недостаточно. Эффективность

эффективность шелушения в этом случае в большей степени определяется скоростью и направлением полета зерна в момент его соударения со стенкой деки, что в свою очередь зависит от скорости вращения ротора и деки. Выбор оптимальных конструктивных и технологических параметров возможен при наличии математической модели полета зерна, учитывающей реальную аэродинамику вращающегося воздушного потока, приближенную к реальной [11-13].

Целью настоящего исследования было определение возможности управления работой пневмомеханического шелушителя зерна крупяных культур изменением угловых скоростей вращения его основных рабочих органов – лопастного диска (ротора) и деки для обеспечения оптимальных условий шелушения (снятия цветковых оболочек зерна).

Методика. Свободный полет зерна после его срыва с ротора можно считать горизонтальным из-за достаточно большой скорости и малой рабочей зоны $R_2 - R_1$. Падение зерна вниз под действием сил гравитации и движения воздушного потока незначительное, его влиянием на время полета и эффективность шелушения можно пренебречь. Тогда математическую модель движения зерна можно строить в упрощенной двухмерной постановке.

Движение воздушного потока между вращающимися ротором и декой является осесимметричным и стационарным. Несмотря на небольшое расстояние между вращающимися частями, поток имеет трехмерный характер. Вблизи ротора преобладает вращательно-радиальное течение потока воздуха, а около деки оно становится вращательно-осевым. На аэродинамические характеристики потока влияют как режимные параметры, так и конструктивные особенности установки. Причем в большей степени следует учитывать особенности верхней части деки, а также угол наклона ее образующей. Поэтому расчет реальной аэродинамической обстановки возможен при решении уравнений Навье-Стокса в трехмерной постановке, что вызывает небольшие осложнения. В данной работе на основе модельного представления потока воздуха исследовано изменение скорости зерна и ее направления под действием воздушного потока противоположного направления, создаваемого реверсивной декой.

Конструкция деки заметно ограничивает приток воздуха в рабочую зону аппарата. Поэтому можно считать, что между ротором и декой тангенциальная компонента скорости потока преобладает над другими составляющими. Тогда тангенциальная компонента скорости движения потока W_θ в полярных координатах (r, φ) может быть описана соотношением [14, 15]:

$$W_\theta = \frac{r^2 - R_1^2}{R_2^2 - R_1^2} \frac{\omega_2 R_2^2}{r} + \frac{R_2^2 - r^2}{R_2^2 - R_1^2} \frac{\omega_1 R_1^2}{r},$$

где R_1, R_2 – радиусы лопастного диска и деки, м; ω_1, ω_2 – частота вращения лопастного диска и деки, c^{-1} .

Поскольку ротор и дека вращаются в противоположных направлениях, между ними существует поверхность $r = r_0$, где тангенциальная скорость равняется нулю. Множество таких точек в двухмерном представлении назовем нулевой линией. Положение нулевой линии определим с учетом условия $W_\theta(r_0) = 0$:

$$r_0 = R_1 R_2 \sqrt{\frac{\omega_2 - \omega_1}{\omega_2 R_2^2 - \omega_1 R_1^2}}.$$

Наличие двух зон с противоположным направлением движения воздушного потока оказывает достаточное влияние на траекторию полета зерна. Управляя положением нулевой линии и временем нахождения движущейся частицы в разных зонах, можно воздействовать на скорость и направление полета зерна в момент его удара о движущуюся стенку деки. Эти величины – основные при построении модели упругого удара зерна и собственно процесса шелушения.

Скорость потока в радиальном направлении можно представить в виде функции:

$$V_r = V_0 f\left(\frac{R_2 - r}{R_2 - R_1}\right).$$

Она меняется от максимального значения V_0 у кромки диска до нуля на стенке деки.

Движение зерна в кольцевой щели после отрыва от ротора можно описать с помощью следующих дифференциальных уравнений [9]:

$$\frac{dW_3}{dt} = K_n |W_\theta - W_3| (W_\theta - W_3), \quad (1)$$

$$\frac{dV_3}{dt} = -K_n (V_\theta - V_3)^2, \quad (2)$$

где $K_n = 3c \rho_a \rho_z / 4d\rho_z$ – коэффициент парусности зерна; c – коэффициент аэродинамического сопротивления; ρ_a – плотность воздуха, $кг/м^3$; ρ_z – плотность зерна, $кг/м^3$; d – эквивалентный диаметр зерна, м; (V_3, W_3) – компоненты скорости зерна в радиальном и окружном направлениях, м/с.

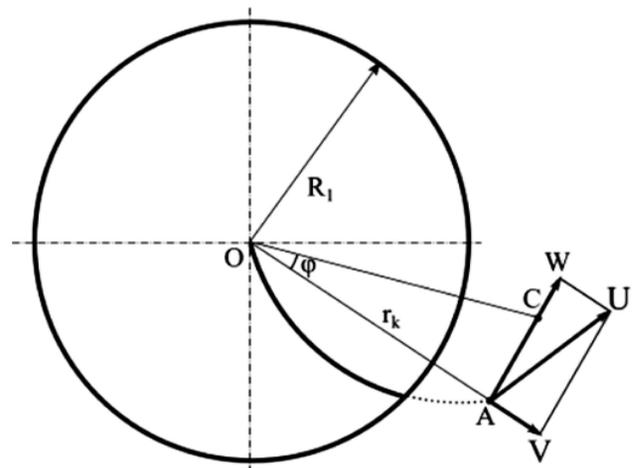


Рис. 1. Траектория движения зерна (пояснения в тексте).

По известным скоростям можно определить траекторию движения зерна. Изменение координаты зерна за время Δt в тангенциальном направлении составит $AC = W_3 \Delta t$ (рис. 1). Из треугольника OAC определим тангенс элементарного угла $\Delta\varphi$:

$$\operatorname{tg} \Delta\varphi = \frac{W_3 \Delta t}{r}.$$

Отсюда после предельного перехода $\Delta t \rightarrow 0$ получим уравнения движения зерна по тангенциальному направлению:

$$\frac{d\varphi}{dt} = \frac{W_3}{r}. \quad (3)$$

Перемещение частицы в сторону деки по радиальному направлению – следствие компонентов скоростей V_3 и W_3 . Вклад каждой из этих составляющих следует определять отдельно.

Удаление зерна от центра за счет радиальной составляющей скорости является тривиальным, оно описывается уравнением:

$$\frac{dr}{dt} = V_3, \quad (4)$$

Для определения вклада тангенциальной составляющей скорости на перемещение частицы по радиаль-

ному направлению воспользуемся треугольником OAC . Обозначим через $r_k = OA$ текущую радиальную координату зерна. При повороте радиус-вектора r_k на угол φ длина текущего радиуса увеличится до значения:

$$r = \frac{r_k}{\cos \varphi}.$$

Найдем производную от функции r по переменной φ :

$$\frac{dr}{d\varphi} = \frac{r_k \sin \varphi}{\cos^2 \varphi}.$$

Отсюда с учетом

$$\frac{dr}{dt} = \frac{dr}{d\varphi} \cdot \frac{d\varphi}{dt}$$

получим:

$$\frac{dr}{dt} = \frac{W_3 \sin \varphi}{\cos^2 \varphi}. \quad (5)$$

Перемещения, вызванные радиальными и тангенциальными составляющими скоростей, складываются. Объединяя уравнения (4) и (5), окончательно получим:

$$\frac{dr}{dt} = V_3 + \frac{W_3 \sin \varphi}{\cos^2 \varphi}. \quad (6)$$

Таким образом, расчет траектории зерновки в области между ротором и декой сводится к решению системы четырех дифференциальных уравнений (1), (2), (3), (6) при начальных условиях:

$$t = 0: \quad r = R_1, \quad \varphi = \varphi_H, \quad W_3 = W_{3H}, \quad V_3 = V_{3H},$$

где φ_H – начальная координата, град; (V_{3H} , W_{3H}) – компоненты начальной скорости зерна в полярной системе координат, м/с.

Как показали экспериментальные исследования, качество шелушения зависит от направления и величины вектора скорости зерна в момент соударения со стенкой деки. Для определения этих параметров были проведены численные расчеты. Некоторые результаты численных расчетов приведены на рисунках 2-4.

Результаты и обсуждение. Обозначим через β значения угла между радиус-вектором и направлением вектора скорости в момент срыва зерна с кромки диска, через α – значения угла между нормалью к стенке деки и вектора скорости в момент удара. Допустим, что в принятой цилиндрической системе координат угол α имеет положительное значение. При вращении деки в обратном направлении возникает зона воздушного потока с противоположным направлением движения. Под влиянием воздушного потока меняется траектория полета и уменьшается угол удара. Благоприятный для шелушения удар происходит при значении угла $\alpha = 0$.

На рис. 2 приведена зависимость угла падения зерна от скорости вращения диска при различных значениях скорости вращения деки. Из рисунка видно, что при больших значениях скорости вращения диска значение угла α становится больше нуля. Удар под прямым углом отмечен при скорости вращения диска около 27 с^{-1} для $\omega_2 = -15 \text{ с}^{-1}$ и при скорости вращения диска около 18 с^{-1} для $\omega_2 = -10 \text{ с}^{-1}$.

Направление вектора скорости зерна в момент его срыва с кромки диска также сильно влияет на угол удара α . Направление скорости зерна в начале полета задает

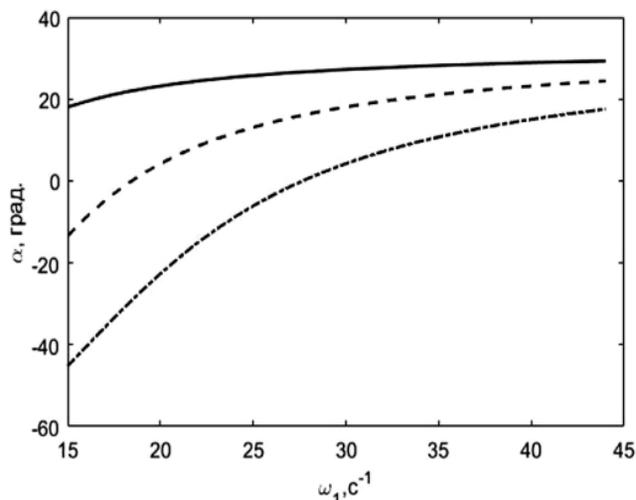


Рис. 2. Зависимость угла падения зерна от скорости вращения диска при различных значениях скорости вращения деки для $\beta = 15^\circ$: штрихпунктирная линия – $\omega_2 = -15 \text{ с}^{-1}$, разрывная – $\omega_2 = -10 \text{ с}^{-1}$, сплошная – $\omega_2 = -5 \text{ с}^{-1}$.

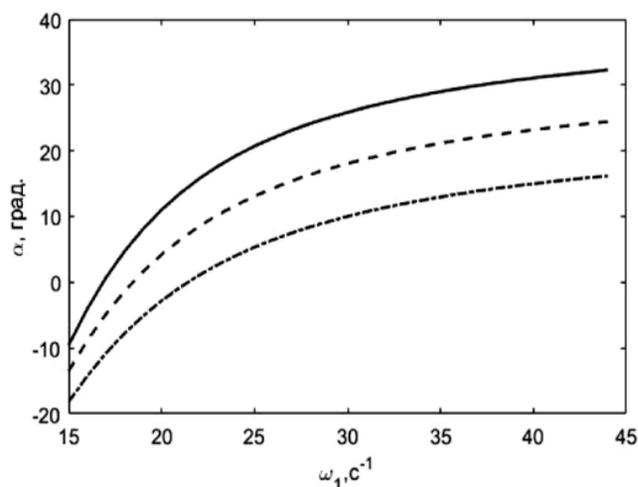


Рис. 3. Зависимость угла падения зерна от скорости вращения диска при различных значениях направления бросковой лопасти для $\omega_2 = -10 \text{ с}^{-1}$: штрихпунктирная линия – $\beta = 5^\circ$, разрывная – $\beta = 15^\circ$, сплошная – $\beta = 25^\circ$.

ся геометрией бросковой лопасти, форма которой также может стать объектом оптимизации.

Некоторые результаты численных расчетов показаны на рис. 3. Как видим, при малых углах β воздушный поток, создаваемый вращением деки, легко поворачивает траекторию зерна. Следовательно, удар зерна под прямым углом можно обеспечить при небольших скоростях вращения деки.

На рис. 4 представлена зависимость нормальной составляющей скорости зерна в момент удара от скорости вращения диска при различных значениях угла срыва β . Как видим, нормальная составляющая скорости зерна в момент удара прямо пропорциональна скорости вращения диска. В то же время для обеспечения необходимого удара по нормальному направлению при малых углах β требуются более высокие значения скорости вращения диска. Поскольку скорость зерна при ударе определяется скоростью вращения диска и практически не зависит

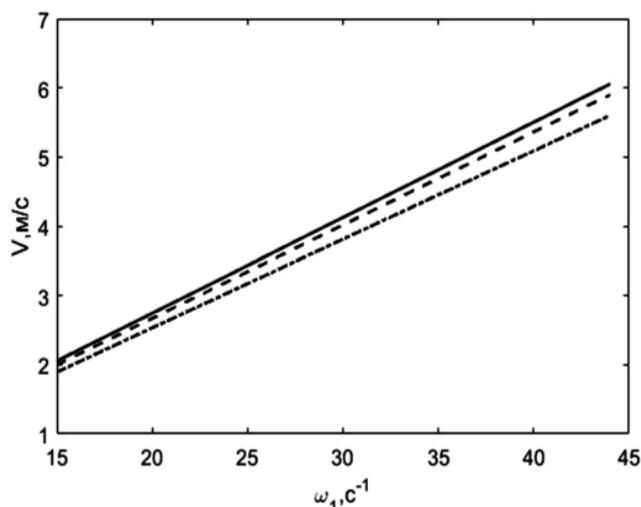


Рис. 4. Зависимость нормальной составляющей скорости зерна в момент удара от скорости вращения диска для $\omega_2 = -5 \text{ с}^{-1}$: сплошная линия – $\beta = 10^\circ$; разрывная – $\beta = 20^\circ$; штрихпунктирная – $\beta = 30^\circ$.

от скорости вращения деки, появляется возможность оптимального управления работой пневмомеханического шелушителя.

На основе численной реализации представленной математической модели можно сделать следующий вывод. Величина скорости зерна при его ударе о деку в большей степени определяется угловой скоростью вращения диска и практически не зависит от угловой скорости вращения деки; направление скорости зерна при ударе преимущественно обусловлено угловой скоростью вращения деки и кривизной лопасти у кромки диска.

Использование модели дает возможность управлять работой шелушителя, изменяет угловые скорости вращения диска и деки, влияя тем самым на направление удара зерна о деку и величину ударного взаимодействия, что позволяет создать оптимальные условия для шелушения.

Литература

- Ибяттов Р.И., Дмитриев А.В., Лотфуллин Р.Ш. Исследование движения зерна в рабочем пространстве пневмомеханического шелушителя // *Техника и оборудование для села*. – 2018. – N 2. – С 18-21.
- Лотфуллин Р.Ш., Ибяттов Р.И., Дмитриев А.В. К определению силы удара зерна о деку пневмомеханического шелушителя // *Техника и оборудование для села*. – 2015. – N 10. – С 38-40.
- Нуруллин Э.Г. Пневмомеханические шелушители зерна (теория, конструкция, расчет). – Казань: Казан. Ун-т, 2011. – 308 с.
- Халиуллин Д.Т., Дмитриев А.В., Хафизов Р.Н., Яровой М.Н. Исследование движения воздушно-зерновой смеси в рабочей зоне семенорушки аэромеханического типа // *Вестник Воронежского государственного аграрного университета*. – 2019. – N 4 (63). – С. 27-37.
- Халиуллин Д.Т., Лукманов Р.Р. Теоретическое обоснование некоторых параметров семенорушки пневмомеханического типа // *Журнал Фундаментальные исследования*. – 2015. – N 11 (часть 3). – С. 516-519.
- Бадретдинов И.Д., Мударисов С.Г. Оптимизация параметров пневматической системы зерноочистительной машины // *Механизация и электрификация сельского хозяйства*. – 2011. – N 1. – С. 6-7.
- Belinsky A., Ziganshin B., Valiev A., Haliullin D., Galiev I., Adigatov N. Theoretical investigation of increasing efficiency of combine harvester operation on slopes. Paper presented at the Engineering for Rural Development. – 2006. – V. 18. – С. 206-213. doi:10.22616/ERDev2019.18.N252.
- Лачуга Ю.Ф., Измайлов А.Ю., Лобачевский Я.П., Шогенов Ю.Х. Развитие интенсивных машинных технологий, роботизированной техники, эффективного энергообеспечения и цифровых систем в агропромышленном комплексе // *Техника и оборудование для села*. – 2019. – N 7(265). – С. 2-7. ISSN 2072-9642.
- Патент № 179017 РФ. Дозирующая система пневматического высевающего устройства / Ахалая Б.Х., Шогенов Ю.Х., Гайко О.А. // Патент на полезную модель RU 179017 U1, 25.04.2018. Заявка № 2017130910 от 01.09.2017.
- Халиуллин Д.Т., Нуруллин Э.Г. Исследование движения зерна в конфузоре пневмомеханического обрушивателя семян подсолнечника // *Вестник Казанского государственного аграрного университета*. – 2010. – Т. 5. – N 4 (18). – С. 122-124
- Шогенов Ю.Х., Васильев В.А., Третьяков Н.Н., Миронова Е.А., Моисеев В.Ю., Романовский Ю.М. Математическое моделирование электрических сигналов в проводящей системе растения // *Известия ТСХА*. – 1999. – Вып. 2. – С. 114-128.
- Холпанов Л.П., Ибяттов Р.И. Моделирование гидродинамики многофазных гетерогенных сред в центробежном поле // *Теоретические основы химической технологии*. – 2009. – Т.43. – N 5. – С.534-546.
- Нигматуллин Р.И. Динамика многофазных сред. Ч.1. – М.: Наука, 1987. – 464 с.
- Kholpanov L.P., Ibyatov R.I. Mathematical modeling of the dispersed phase dynamics // *Theoretical Foundations of Chemical Engineering*. – 2005. – Т. 39. – N 2. – С. 190-199.
- Лачуга Ю.Ф., Ксендзов В.А. Теоретическая механика. – 3-е изд., перераб. и доп. – М.: КолосС, 2010. – 576 с. (учебники и учебные пособия для студентов высш. учеб. заведений). ISBN 978-5-9532-0798-0.

Поступила в редакцию 21.03.20
После доработки 10.04.20
Принята к публикации 05.05.20