## M3BECTMЯ

## ТИМИРЯЗЕВСКОЙ СЕЛЬСКОХОЗЯЙСТВЕННОЙ АКАДЕМИИ

Научно-теоретический журнал Российского государственного аграрного университета — МСХА имени К.А. Тимирязева

Сообщаются результаты экспериментальных, теоретических и методических исследований в различных областях сельскохозяйственной науки и практики, выполненных в разных природно-экономических зонах страны

Основан в 1878 году 6 номеров в год

Выпуск

**3** май–июнь

Москва Издательство РГАУ-МСХА 2023

#### РЕДАКЦИОННАЯ КОЛЛЕГИЯ

д.с.-х.н., профессор С.Л. Белопухов; доктор наук, PhD, профессор Р. Валентини (Италия); д.б.н., профессор И.И. Васенев; д.э.н., профессор Р.С. Гайсин; д.э.н., профессор А.В. Голубев; д.с.-х.н., профессор С.А. Грикшас; д.с.-х.н., профессор Ж. Данаилов (Болгария); д.б.н., профессор Ф.С. Джалилов; профессор Д.А. Джукич (Сербия); д.с.-х.н., профессор, академик РАН Н.Н. Дубенок; д.в.н., профессор Г.П. Дюльгер; д.б.н., профессор А.А. Иванов; д.б.н., профессор, академик РАН В.И. Кирюшин; д.б.н., профессор В.Н. Корзун (Германия); д.в.н., профессор Р.Г. Кузьмич (Беларусь); д.б.н., профессор Я.В. Кузяков (Германия); д.с.-х.н., профессор Н.Н. Лазарев; д.с.-х.н., профессор В.И. Леунов; д.с.-х.н., профессор, академик РАН В.М. Лукомец; д.б.н., профессор А.Г. Маннапов; д.б.н., профессор, академик НАНУ и НААНУ Д.А. Мельничук (Украина); к.э.н., PhD MSU, P.A. Мигунов; к.с.-х.н. Г.Ф. Монахос; д.с.-х.н., профессор С.Г. Монахос; д.б.н., профессор В.Д. Наумов; д.т.н., профессор, академик РАН В.А. Панфилов; д.б.н., профессор С.Я. Попов; д.х.н., профессор Н.М. Пржевальский; д.с.-х.н., профессор А.К. Раджабов; д.с.-х.н., профессор Г.В. Родионов; д.б.н., профессор В.С. Рубец; д.э.н., профессор, чл.-корр. РАН Н.М. Светлов; д.б.н., профессор М.И. Селионова; к.б.н., доцент О.В. Селицкая; д.б.н., профессор А.А. Соловьев; д.б.н., профессор И.Г. Тараканов; д.б.н., профессор С.П. Торшин; д.в.н., профессор С.В. Федотов; д.б.н., профессор Л.И. Хрусталева; д.с.-х.н., профессор В.А. Черников; д.э.н., профессор С.А. Шелковников; д.т.н., профессор И.Н. Шило (Беларусь); д.с.-х.н., профессор А.В. Шитикова; д.с.-х.н., профессор А.С. Шувариков; д.с.-х.н., профессор, академик РАН Ю.А. Юлдашбаев

#### Редакция

Научный редактор — Р.А. Мигунов Редактор — В.И. Марковская Перевод на английский язык — Н.А. Сергеева Компьютерная верстка — А.С. Лаврова

Журнал входит в перечень ведущих рецензируемых научных журналов и изданий ВАК

Журнал включен в базы данных BIOSIS (WoS), RSCI (WoS), CA(pt), CrossRef, AGRIS, РИНЦ, ядро РИНЦ

Правила оформления научных статей для опубликования в журнале «Известия TCXA» размещены в Интернете (https://izvestiia.timacad.ru/jour/manager/files/1603286771 treb stat.pdf)

Плата с аспирантов за публикацию статей не взимается

# IZVESTIYA

## of Timiryazev Agricultural Academy

Academic Journal of Russian Timiryazev State Agrarian University

The journal publishes the results of experimental, theoretical and procedural research in different areas of agricultural science and practice carried out in various natural and economic zones of the country

> Founded in 1878 Six issues per year

> > Issue

3 May-June

Moscow
Publishing house of Russian Timiryazev State Agrarian University
2023

#### EDITOR-IN-CHIEF: Prof. Vladimir I. Trukhachev, DSc (Ag), DSc (Econ), Full Member of RAS

#### EDITORIAL BOARD

Prof. Sergey L. Belopukhov, DSc (Ag); Prof. Riccardo Valentini, DSc, PhD (Italy); Prof. Ivan I. Vasenev, DSc (Bio); Prof. Rafkat S. Gaysin, DSc (Econ); Prof. Aleksei V. Golubev, DSc (Econ); Prof. Styapas A. Grikshas, DSc (Ag); Prof. Zhivko Danailov, DSc (Ag) (Bulgaria); Prof. Fevzi S. Dzhalilov, DSc (Bio); Prof. Dragutin A. Djukic (Serbia); Prof. Nikolai N. Dubenok, DSc (Ag), Full Member of RAS; Prof. Georgy P. Dulger, DSc (Vet); Prof. Aleksei A. Ivanov, DSc (Bio); Prof. Valerii I. Kiryushin, DSc (Bio), Full Member of RAS; Prof. Victor N. Korzun, DSc (Bio) (Germany); Prof. Rostislav G. Kuzmich, DSc (Vet) (Belarus); Prof. Yakov V. Kuzvakov, DSc (Bio) (Germany); Prof. Nikolay N. Lazarev, DSc (Ag); Prof. Vladimir I. Leunov, DSc (Ag); Prof. Vyacheslav M. Lukomets, DSc (Ag), Full Member of RAS; Prof. Alfir G. Mannapov, DSc (Bio); Prof. Dmitrii A. Melnichuk, DSc (Bio), Member of NASU and NAASU (Ukraine); Rishat A. Migunov, CSc (Econ), PhD MSU; Grigory F. Monakhos, CSc (Ag); Prof. Sokrat G. Monakhos, DSc (Ag); Prof. Vladimir D. Naumov, DSc (Bio); Prof. Victor A. Panfilov, DSc (Eng), Full Member of of RAS; Prof. Sergei Ya. Popov, DSc (Bio); Prof. Nikolai M. Przhevalskiy, DSc (Chem); Prof. Agamagomed K. Radzhabov, DSc (Ag); Prof. Gennady V. Rodionov, DSc (Ag); Prof. Valentina S. Rubets, DSc (Bio); Prof. Nikolai M. Svetlov, DSc (Econ), Corresponding Member of RAS; Prof. Marina I. Selionova, DSc (Bio); Assoc. Prof. Olga V. Selitskaya, CSc (Bio); Prof. Alexander A. Soloviev, DSc (Bio); Prof. Ivan G. Tarakanov, DSc (Bio); Prof. Sergei P. Torshin, DSc (Bio); Prof. Sergei V. Fedotov, DSc (Vet); Prof. Ludmila I. Khrustaleva, DSc (Bio); Prof. Vladimir A. Chernikov, DSc (Ag); Prof. Sergey A. Shelkovnikov, DSc (Econ); Prof. Ivan N. Shilo, DSc (Eng) (Belarus); Prof. Aleksandra V. Shitikova, DSc (Ag); Prof. Anatolii S. Shuvarikov, DSc (Ag); Prof. Yusupzhan A. Yuldashbayev, DSc (Ag), Full Member of RAS

#### EDITORIAL STAFF

Scientific editor – **Rishat A. Migunov**Editor – **Vera I. Markovskaya**Translation into English – **Natalya A. Sergeeva**Computer design and making-up – **Anneta S. Lavrova** 

The journal is listed in the VAK (Higher Attestation Commission) register of the top peer reviewed journals and editions

The journal is also included in BIOSIS (WoS), RSCI (WoS), CA(pt), CrossRef, AGRIS, Russian Index of Science Citation, Core Collection of Russian Index of Science Citation

Article submission guidelines of the journal "Izvestiya of TAA" are available at https://izvestiia.timacad.ru/jour/manager/files/1603286771\_treb\_stat.pdf

Articles submitted by postgraduates are exempt from the processing charge

- © Federal State Budget Establishment of Higher Education Russian Timiryazev State Agrarian University, 2023
- © Publishing House of Russian Timiryazev Agrarian University, 2023

#### АГРОХИМИЯ, ПОЧВОВЕДЕНИЕ, ЭКОЛОГИЯ

УДК 547.751.04 <u>Известия ТСХА, выпуск 3, 2023</u>

DOI: 10.26897/0021-342X-2023-3-5-24

#### ЦИТОТОКСИЧНОСТЬ ПИРАНОПИРИДОНОВ С ТРИПТАМИНОВЫМ ФРАГМЕНТОМ

Н.М. ПРЖЕВАЛЬСКИЙ<sup>1</sup>, Л.В. АНИКИНА<sup>2</sup>, А.А. ГЛОБА<sup>2</sup>, Г.П. ТОКМАКОВ<sup>1</sup>, Р.К. ЛАЙПАНОВ<sup>1</sup>, Д.А. ВЕРШИНКИН<sup>1</sup>

(¹Р оссийский государственный аграрный университет – MCXA имени К.А. Тимирязева; ²Институт физиологически активных веществ ФГБУН «Федеральный исследовательский центр проблем химической физики и медицинской химии РАН»)

Синтезированы новые пирано[3,2-c]пиридоны III 5, 10, 15, 18 трехкомпонентной реакцией пиридонотриптаминов I, ароматических альдегидов II и нитрила малоновой кислоты. Пиридонотриптамины I получены взаимодействием триптаминов, синтезированных по реакции Грандберга, из арилгидразинов и у-галогенкарбонильных соединений, с 4-гидрокси-6-метил-2H-пиран-2-оном. Ароматические альдегиды II 1, 5, 6, 9 являются коммерческими соединениями. Кипячение смеси указанных компонентов I и II с нитрилом малоновой кислоты в мольном соотношении 1:1,1:1,1 в присутствии триэтиламина в этиловом спирте приводит к целевым соединениям III 5, 10, 15, 18 с выходом 44–75%. Структура пирано[3,2-с]пиридонов III 5, 10, 15, 18 доказана методом ЯМР <sup>1</sup>Н и подтверждена данными элементного анализа. Соединения III 1–4, 6–9, 11–14, 16 и 17 синтезированы ранее по аналогичной методике.

Цитотоксичность синтезированных соединений **III** 1–18 in vitro была определена по MTT-тесту на культуре клеток человека A549 (карцинома легкого) и HCT116 (карцинома кишечника). В качестве препаратов сравнения использовали камптотецин и даунорубицин. Значение концентрации, вызывающее 50%-ное ингибирование роста популяции клеток ( $IC_{50}$ ), было определено на основе дозозависимых кривых с помощью программного обеспечения GraphPad Prism 9. Лучшие результаты по отношению к культурам A549 и HCT116 показали соединения **III** 3 ( $R^1 = R^2 = Br$ , Ar = 2,5-ди-ОМе- $C_6H_3$ ), **III** 4 ( $R^1 = R^2 = Br$ , Ar = 4-F- $C_6H_4$ ), **III** 6 ( $R^1 = Re$ ). Влияние наиболее активных соединений III 3 и III 4 на клеточный цикл и апоптоз было исследовано на культуре клеток Jurkat (T-лимфобластный лейкоз человека). Соединения **III** 3 и **III** 4 по отношению к линии Jurkat в ресазурин-тесте проявили заметную цитотоксичность:  $1,47\pm0,06$  и  $4,56\pm0,19$  мкМ соответственно, сравнимую с цитотоксичность препарата сравнения камптотецина  $1,24\pm0,05$  мкМ. На основании полученных методом проточной цитометрии результатов предполагается, что эффект проявляется в некотором (возможно, обратимом) аресте клеточного цикла в пресинтетическую фазу.

**Ключевые слова:** ароматические альдегиды, индолы, пиранопиридоны, пиридоны, пиридонотриптамины, триптамины, цитотоксичность, MTT-тест, апоптоз, клеточный цикл.

#### Введение

В течение ряда лет проводятся исследования, посвященные синтезу и изучению биологической активности производных индола, содержащих в молекуле фармакофорные триптаминовый и пиранопиридоновый фрагменты [6–9]. Известно,

что система пирано[3,2-с]пиридонов присутствует во многих природных веществах с широким спектром биологической активности [19, 20]. Также хорошо известна разнообразная биологическая активность многочисленных производных триптамина, имеющих скелет индола [2, 12, 13, 15, 16, 18, 21, 23, 28–31].

В последние годы исследователи обнаружили, что галлюциноген псилоцибин можно использовать для лечения депрессии [30]. Мелатонин ингибирует развитие рака легких [16], мелатонин и другие производные индола проявляют антивирусную активность против свиного короновируса [31], являются ингибиторами вируса гепатита В [28]. Метаболиты триптофана оказывают влияние на регуляцию роста клеток рака простаты [23], производные триптамина являются противоопухолевыми агентами [29], обнаруживают токсичность в концентрациях, содержащихся в пищевых продуктах [18]. Аналоги изокриптолепина являются потенциальными противораковыми веществами [12], производные пауллона обладают наномолярной активностью к ряду злокачественных опухолей [13].

В работах [5, 6] описано более 50 синтезированных соединений **III**, с помощью программы PASS [26] получены результаты, предсказывающие их разнообразную биологическую активность. Оказалось, что эти соединения могут проявлять более 100 видов биоактивности с вероятностью  $P_a$  от 0.039 до 0.712. С наибольшей вероятностью ( $P_a \ge 0.30$ ) для пирано[3,2-с]пиридонов с триптаминовым фрагментом **III** возможно проявление цитотоксической активности. Наивысшая активность предсказана для соединений **III 1, 2, 7,** содержащих атомы брома в индольном кольце и в пиранопиридоновой части молекулы [9]. Предварительные результаты испытаний ряда соединений **III** на цитотоксическую активность опубликованы в сборнике тезисов [5].

#### Результаты и их обсуждение

Результаты химических исследований. Развивая эти исследования, мы синтезировали новые пиранопиридонотриптамины III 5, 10, 15 и 18, содержащие атом хлора в арильном кольце пиранового фрагмента и метокси-группу в индольном ядре (III 5), триметиленовую цепочку в структуре индола (III 10), 2 атома брома и тиометильную группу в индольном ядре и пирановом цикле, соответственно (III 15), и триметоксизамещенный арильный цикл в положении 4'- молекулы (III 18). Выбор соединений III 5 и III 18 обусловлен предсказываемой высокой цитотоксической активностью веществ с атомами галогена, молекула III 10 представляет интерес геометрией, отличающей ее от других структур III, пиранопиридонотриптамин III 18 имеет триметоксиарильный радикал, аналогичный содержащемуся в известном противораковом препарате подофиллотоксине.

Пиридонотриптамины **I 1, 3, 5, 7** получали из триптаминов, синтезированных по реакции Грандберга [3], и 4-гидрокси-6-метил-2*H*-пиран-2-она [4].

Трехкомпонентную реакцию (схема) проводили при нагревании смеси пиридонотриптаминов I, ароматических альдегидов II и малононитрила в мольном соотношении 1:1,1:1,1 в этиловом спирте в присутствии триэтиламина. Продукты III 5, 10, 15, 18 образуются в кристаллическом виде. Выход соединений III 5, 10, 15, 18 составляет 44, 55, 75 и 57% соответственно. Структура пиранопиридонотриптаминов III 5, 10, 15, 18 доказана методом <sup>1</sup>Н ЯМР и подтверждена данными элементного анализа (см. экспериментальную часть). Спектры ЯМР <sup>1</sup>Н соединений III 5, 10, 15, 18 (нумерация атомов соединений III 5, 15, 18 приведена на схеме, соединения III 10 — на рисунке 1, названия веществ см. в экспериментальной части) характеризуются наличием сигналов протонов индольного ядра и арильного ядра, находящегося

в положении 4' пиранопиридонового фрагмента. Особенностью спектров веществ **III 5, 10, 15, 18** является неэквивалентность протонов групп  $CH_2$ , что обусловлено присутствием в молекулах хирального центра  $C^*$ -4' [9]. В экспериментальной части дан детальный анализ спектров ЯМР <sup>1</sup>Н веществ **III 5, 10, 15, 18**.

На схеме приведены также структуры соединений **III 1–4, 6–9**, **11–18**, синтезированных ранее и использованных в данной работе в качестве объектов биоиспытаний. Названия этих веществ и ссылки на методики получения даны в экспериментальной части.

Схема. Трехкомпонентный синтез пиранопиридонотриптаминов III

Me 
$$\frac{1}{10^2}$$
  $\frac{1}{3}$   $\frac{1}{3}$ 

I: 1 R<sup>1</sup>=R<sup>2</sup>=H; 2 R<sup>1</sup>=H, R<sup>2</sup>=Br; 3 R<sup>1</sup>=R<sup>2</sup>=Br; 4 R<sup>1</sup>=Br, R<sup>2</sup>=H; 5 R<sup>1</sup>=OMe, R<sup>2</sup>=H; 6 R<sup>1</sup>=Me, R<sup>2</sup>=Br; 7 (рис. 1).

**II:** (Ar): **1** С<sub>6</sub>H<sub>5</sub>; **2**2-фурил; **3**2,5-ди-ОМе-С<sub>6</sub>H<sub>3</sub>; **4**4-F-С<sub>6</sub>H<sub>4</sub>; **5**2-Cl-С<sub>6</sub>H<sub>4</sub>; **6**2,4,5-три-ОМе-С<sub>6</sub>H<sub>2</sub>; **7**4-Вг-С<sub>6</sub>H<sub>4</sub>; **8**2-(5-метилфурил); **9**4-SMe-С<sub>6</sub>H<sub>4</sub>; **10** 2,3-ди-Cl-С<sub>6</sub>H<sub>3</sub>; **11** 2,3-ди-ОМе-С<sub>6</sub>H<sub>3</sub>; **12** 4-пиридил; **13** 4-ОМе-С<sub>6</sub>H<sub>4</sub>.

III: (R¹, R², Ar): 1 Br, H, C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>; **2** Br, H, 2-фурил; **3** Br, Br, 2,5-ди-ОМе-С<sub>6</sub>H<sub>3</sub>; **4** Br, Br, 4-F-C<sub>6</sub>H<sub>4</sub>; **5** OMe, H, 2-Cl-C<sub>6</sub>H<sub>4</sub>; **6** Me, Br, 2, 4, 5-три-ОМе-С<sub>6</sub>H<sub>2</sub>; **7** H, H, 4-Br-C<sub>6</sub>H<sub>4</sub>; **8** H, H, C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>; **9** H, Br, 2-(5-метилфурил); **10** (рис. 1); **11** H, H, 4-SMe-C<sub>6</sub>H<sub>4</sub>; **12** Me, Br, 2,3-ди-Cl-C<sub>6</sub>H<sub>3</sub>; **13** Br, Br, C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>; **14** Br, Br, 2,3-ди-ОМе-С<sub>6</sub>H<sub>3</sub>; **15** Br, Br, 4-SMe-C<sub>6</sub>H<sub>4</sub>; **16** Br, Br, 4-пиридил; **17** Br, Br, 4-ОМе-С<sub>6</sub>H<sub>4</sub>; **18** H, H, 2,4,5-три-ОМе-С<sub>6</sub>H<sub>2</sub>.

Важным аргументом при выборе пиранопиридонов **III** 1–18 для испытаний на цитотоксическую активность явилось их структурное сходство с известными противораковыми препаратами камптотецином и подофиллотоксином (рис. 1). Набор заместителей в пиридонотриптаминах **I** 1–7 и ароматических альдегидах **II** 1–13 объясняется стремлением получить соединения **III**, содержащие в молекуле атомы и группировки, которые входят в биологически активные природные и синтетические вещества [8].

Экспериментальная химическая часть. Спектры ЯМР  $^1$ Н записаны на приборе Bruker-AV-300 (300 МГц) в ДМСО- $d_6$ , внутренний стандарт ТМС. Элементный анализ выполнен на СНN-анализаторе Carlo Erba 1106. Температура плавления определена в незапаянных капиллярах в электронагреваемом блоке.

Контроль за ходом реакций и чистотой соединений осуществляли методом TCX на пластинах Silufol-254: элюент бутанол – уксусная кислота – вода, 7:1:1, проявление – парами иода или УФ-светом.

Рис. 1. Камптотецин, подофиллотоксин и соединения I 7, III 5 и III 10

Пиридонотриптамины I 1, 3, 5, 7 синтезированы по методике [4].

Ароматические альдегиды **II 1, 5, 6, 9** являются коммерческими реагентами («Aldrich»).

Соединения III 1–4, 6–9, 11–14, 16, 17, синтезированы ранее (ссылка на статью – после названия) и протестированы на цитотоксическую активность в данной работе. Соединения III 5, 10, 15, 18 синтезированы и протестированы в данной работе.

2'-Амино-6'-[2-(5-бром-2-метил-1*H*-индол-3-ил)этил]-7'-метил-5'-оксо-4'-фенил-5',6'-дигидро-4'*H*-пирано[3,2-*c*]пиридин-3'-карбонитрил (III 1) [6].

2'-Амино-6'-[2-(5-бром-2-метил-1*H*-индол-3-ил)этил]-7'-метил-5'-оксо-4'-(2-фурил)-5',6'-дигидро-4'*H*-пирано[3,2-*c*]пиридин-3'-карбонитрил (III 2) [6].

- 2'-Амино-6'-[2-(5,7-дибром-2-метил-1*H*-индол-3-ил)этил]-4'-(2,5-диметоксифенил)-7'-метил-5'-оксо-5',6'-дигидро-4'*H*-пирано[3,2-*c*] пиридин-3'-карбонитрил (III 3) [6].
- 2'-Амино-6'-[2-(5,7-дибром-2-метил-1H-индол-3-ил)этил]-7'-метил-5'-оксо-4'-(4-фторфенил)-5',6'-дигидро-4'H-пирано[3,2-c] пиридин-3'-карбонитрил (III 4) [6].
- 2'-Амино-7'-метил-6'-[2-(2-метил-5-метокси-1*H*-индол-3-ил) этил]-5'-оксо-4'-(2-хлорфенил)-5',6'-дигидро-4'*H*-пирано[3,2-c] пиридин-3'-карбонитрил (III 5).

- 2'-Амино-6'-[2-(5,7-дибром-2-метил-1*H*-индол-3-ил)этил]-7'-ме тил-5'-оксо-4'-(2,4,5-триметоксифенил)-5',6'-дигидро-4'*H*-пирано[3,2-*c*] пиридин-3'-карбонитрил (III 6) [6].
- 2'-Амино-4'-(4-бромфенил)-7'-метил-6'-[2-(2-метил-1*H*-индол-3-ил)эт ил]-5'-оксо-5',6'-дигидро-4'*H*-пирано[3,2-*c*]пиридин-3'-карбонитрил (III 7) [6].
- 2'-Амино-7'-метил-6'-[2-(2-метил-1*H*-индол-3-ил)этил]-5'-оксо-4'-фенил-5',6'-дигидро-4'*H*-пирано[3,2-*c*]пиридин-3'-карбонитрил (III 8) [8].
- 2'-Амино-6'-[2-(7-бром-2-метил-1*H*-индол-3-ил)этил]-7'-метил-4'-[2-(5-метил фурил)]-5'-оксо-5',6'-дигидро-4'*H*-пирано[3,2-*c*]пиридин-3'-карбонитрил (III 9) [6].
- 2'-Амино-7'-метил-6'-[2-(2-метил-5,6-дигидро- $4\hat{H}$ -пирроло[3,2,1-ij] хинолин-1-ил)-этил]-5'-оксо-4'-фенил-5',6'-дигидро-4'H-пирано[3,2-c] пиридин-3'-карбонитрил (III 10).

В результате реакции, аналогичной синтезу **III 5**, из 0.16 г (0.5 ммоль) пиридинона **I** 7, 0.036 г (0.55 ммоль) малононитрила и 0.06 г (0.55 ммоль) бензальдегида получили 0.14 г (55%) соединения **III 10**, т. пл. 260–262 °C. Спектр ЯМР <sup>1</sup>H (293 К,  $\delta$ , м.д., Ј/Гц): 1.99–2.30 (м, 2 H, 5-CH<sub>2</sub>); 2.14, 2.17 (оба с, по 3 H, 7'-Me, 2-Me); 2.75–3.03 (м, 4 H, CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>N и 6-CH<sub>2</sub>); 3.80–4.10 (м, 4 H, CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>N и 4-CH<sub>2</sub>); 4.44 (с, 1 H, 4'-H); 5.98 (с, 1 H, 8'-H); 6.75 (д, 1 H, 7-H, J=7.7); 6.87 (т, 1 H, 8-H, J=7.7); 7.01 (уш. с, 2 H, 2'-NH<sub>2</sub>); 7.10–7.26 (м, 5 H 4'-Ph); 7.31(д, 1 H, 9-H, J=7.7). Найдено, %): C, 75.14; H, 5.88; N, 11.51. С<sub>30</sub>H<sub>28</sub>N<sub>4</sub>O<sub>2</sub>. Вычислено, %: C, 75.42; H, 5.92; N, 11.76.

- 2'-Амино-7'-метил-6'-[2-(2-метил-1*H*-индол-3-ил)этил]-4'-(4-метилтиофен ил)-5'-оксо-5',6'-дигидро-4'*H*-пирано[3,2-*c*]пиридин-3'-карбонитрил (III 11) [8].
- 2'-Амино-6'-[2-(7-бром-2,5-диметил-1*H*-индол-3-ил)этил]-4'-(2,3-дихлорфе нил)-7'-метил-5'-оксо-5',6'-дигидро-4'*H*-пирано[3,2-c]пиридин-3'-карбонитрил (III 12) [6].

- 2'-Амино-6'-[2-(5,7-дибром-2-метил-1*H*-индол-3-ил)этил]-7'-метил-5'-о ксо-4'-фенил-5',6'-дигидро-4'*H*-пирано[3,2-*c*]пиридин-3'-карбонитрил (III 13) [6].
- 2'-Амино-6'-[2-(5,7-дибром-2-метил-1H-индол-3-ил)этил]-4'-(2,3-диметоксифенил)-7'-метил-5'-оксо-5',6'-дигидро-4'H-пирано[3,2-c] пиридин-3'-карбонитрил (III 14) [6].
- 2'-Амино-6'-[2-(5,7-дибром-2-метил-1*H*-индол-3-ил)этил]-7'-метил-4'-(4-метилтиофенил)-5'-оксо-5',6'-дигидро-4'*H*-пирано[3,2-c]пиридин-3'-карбонитрил (III 15).

В результате реакции, аналогичной синтезу **III 5**, из 0.23 г (0.5 ммоль) пиридинона **I 3**, 0.036 г (0.55 ммоль) малононитрила и 0.08 г (0.055 ммоль) альдегида **II 9** получили 0.24 г (75%) соединения **III 15**, т. пл. 270–272 °C. Спектр ЯМР ¹H (323 К,  $\delta$ , м.д., Ј/Гц): 2.01, 2.15, 2.44 (все с, по 3 H, 7'-Me, 2-Me, MeS); 2.79–2.95 (м, 2 H, С $\underline{\text{H}}_2\text{CH}_2\text{N}$ ); 3.82–4.08 (м, 2 H, C $\underline{\text{H}}_2\text{CH}_2\text{N}$ ); 4.40 (с, 1 H, 4'-H); 5.91 (с, 1 H, 8'-H); 6.90 (уш. с, 2 H, 2'-N $\underline{\text{H}}_2$ ); 7.16, 7.20 (оба д, по 2 H, 4'-(4-MeSC<sub>6</sub> $\underline{\text{H}}_4$ ), J=8.1); 7.31, 7.51 (оба с, по 1 H, 6-H, 4-H); 11.10 (уш. с, 1 H, 1-H). Найдено, %: C, 52.70; H, 3.63; N, 8.58.  $C_{28}\text{H}_{24}\text{Br}_2\text{N}_4\text{O}_2\text{S}$ . Вычислено, %: C, 52.52; H, 3.78; N, 8.75.

- 2'-Амино-6'-[2-(5,7-дибром-2-метил-1H-индол-3-ил)этил]-7'-метил-5'-ок-со-4'-(4-пиридил)-5',6'-дигидро-4'H-пирано[3,2-c]пиридин-3'-карбонитрил (III 16) [6].
- 2'-Амино-6'-[2-(5,7-дибром-2-метил-1*H*-индол-3-ил)этил]-7'-метил-4'-(4-метоксифенил)-5'-оксо-5',6'-дигидро-4'*H*-пирано[3,2-*c*]пиридин-3'-карбонит-рил (III 17) [6].
- 2'-Амино-7'-метил-6'-[2-(2-метил-1*H*-индол-3-ил)этил]-5'-оксо-4'-(2, 4,5-триметоксифенил)-5',6'-дигидро-4'*H*-пирано[3,2-c]пиридин-3'-карбонитрил (III 18).

В результате реакции, аналогичной синтезу **III 5**, из 0.14 г (0.5 ммоль) пиридинона **I 1**, 0.036 г (0.55 ммоль) малононитрила и 0.11 г (0.55 ммоль) альдегида **II 6** получили 0.15 г (57%) соединения **III 18**, т. пл. 198–200 °C. Спектр ЯМР ¹Н (323 К,  $\delta$ , м.д., Ј/Гц): Спектр ЯМР ¹Н (323 К,  $\delta$ , м.д., Ј/Гц): 2.02, 2.15 (оба с, по 3 H, 7'-Me, 2-Me); 2.79–2.95 (м, 2 H, CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>N); 3.65, 3.74, 3.77 [все с, по 3 H, 4'-(MeO)<sub>3</sub>C<sub>6</sub>H<sub>2</sub>]; 3.83–4.10 (м, 2 H, CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>N); 4.62 (с, 1 H, 4'-H); 5.89 (с, 1 H, 8'-H); 6.57, 6.63 [оба с, по 1 H, 4'-(MeO)<sub>3</sub>C<sub>6</sub>H<sub>2</sub>]; 6.66 (уш. с, 2 H, 2'-NH<sub>2</sub>); 6.88–7.00 (м, 2 H, 5-H, 6-H); 7.21 (д, 1 H, 7-H, J = 7.6); 7.40 (д, 1 H, 4-H, J = 7.6); 10.60 (уш. с, 1 H, 1-H). Найдено (%): С, 68.61; H, 5.78; N, 10.75. С<sub>30</sub>Н<sub>30</sub>N<sub>4</sub>O<sub>5</sub>. Вычислено (%): С, 68.43; H, 5.74; N, 10.64.

#### Выводы

Синтезировано 4 новых пиранопиридонов с триптаминовым фрагментом III. Структура соединений III 5, 10, 15 и 18 доказана методом ЯМР <sup>1</sup>Н и подтверждена данными элементного анализа. Выбор указанных соединений обусловлен наличием в молекулах атомов галогена (Br, Cl), метокси-групп, триметиленовой цепочки в индольной части молекулы и их структурным сходством с известными природными и синтетическими цитотоксическими препаратами.

Результаты биологических исследований. Все синтезированные соединения III 1–18 были подвергнуты тесту in vitro на определение их цитотоксичности в отношении культур опухолевых клеток человека. Были выбраны клеточные культуры, относящиеся к особо эпидемиологически значимым видам онкологических заболеваний человека: карцинома легкого (А549) и карцинома кишечника (НСТ116) [1]. МТТ-тест, лежащий в основе определения цитотоксичности, основан на измерении количества живых, активно метаболизирующих клеток, в культуральной среде после воздействия соединений. Митохондриальные оксидоредуктазы живых клеток

способны восстанавливать тетразолиевый краситель 3-(4,5-диметилтиазол-2-ил)-2,5-дифенил-тетразолия бромид (МТТ) в нерастворимый формазан пурпурного цвета, который остается в лунках в составе клеток и после замещения культуральной среды на диметилсульфоксид (ДМСО) растворяется в последнем с образованием пурпурного окрашивания, интенсивность которого пропорциональна количеству живых клеток в лунке.

Результаты эксперимента приведены в таблице.

Согласно полученным результатам можно с уверенностью сказать, что для проявления цитотоксичности в группе исследованных пиранопиридонотриптаминов **III** наибольшее значение имеют наличие и число атомов брома в молекуле (в триптаминовом или пиранопиридоновом фрагменте). Среди соединений, не содержащих бром (соединения **III 5, III 8, III 10, III 11, III 18**), нет ни одного соединения со значением полумаксимальной ингибирующей концентрации ( $IC_{50}$ ) ниже 100 мкМ, что традиционно трактуется как отсутствие цитотоксического эффекта. При введении одного атома брома в молекулу (соединения **III 1, III 2, III 6, III 7, III 9, III 12**)  $IC_{50}$  снижается до 6–100 мкМ, причем соединения с ароматическим фурильным радикалом в пиранопиридоновом фрагменте (**III 2, III 9**) проявляют большую цитотоксичность по сравнению с соединением **III 1**, имеющим фенильный радикал. В случае двух атомов брома в триптаминовом фрагменте все 7 соединений III **3, 4, 13–17** обладают цитотоксичностью, причем 5 из них имеют  $IC_{50}$  около 20 мкМ, что приближает их к цитотоксичности, проявленной препаратом сравнения камптотецином.

Влияние числа атомов брома в триптаминовом фрагменте на цитотоксичность выявлено на примере соединений, имеющих один и тот же заместитель в положении 4' пиранопиридонового фрагмента. Вещества **III 1, 8, 10, 13** имеют одинаковый радикал 4'-фенил. Соединения **III 8** и **III 10** не содержат атомов брома и лишены цитотоксичности ( $IC_{50}$  выше 100 мкМ), при наличии одного атома брома в соединении **III 1**  $IC_{50}$  уже ниже 100 мкМ, а при двух атомах брома (соединение **III 13**) имеет  $IC_{50}$  около 20 мкМ, что сравнимо с эталоном – камптотецином. В молекулах **III 6** и **III 18** присутствует радикал (2, 4, 5-три-OMe- $C_6H_2$ )-4'. Сравнение цитотоксичности к HCT116 соединений **III 6** (есть атом брома) и **III 18** (атом брома отсутствует) показывает высокую активность у первого (6,17±0,11) и отсутствие ее у второго (284±5,19).

Наиболее активные соединения содержат два атома брома (III 3, III 4, III 13, III 14, III 16). Наивысшую активность в отношении карциномы HCT116 показало вещество III 3, существенно превосходя активность эталона сравнения – камптотецина.

На основании проведенного эксперимента были выбраны два соединения, проявившие максимальную цитотоксичность — III 3 и III 4, — с целью изучения вероятных механизмов, лежащих в основе их противоопухолевого действия: влияния на апоптоз и клеточный цикл. Поскольку данные исследования проводятся с помощью проточной цитометрии, более удобными для работы с методической точки зрения были культуры клеток, растущих суспензионно в культуральной среде (см. методику биологических исследований). Поэтому в качестве опухолевой культуры клеток для данных тестов была выбрана клеточная культура Jurkat (острая Т-клеточная лейкемия).

Для определения эффективных доз соединений в отношении опухолевой линии клеток Jurkat цитотоксичность была определена с помощью ресазурин-теста. Митохондриальные и цитоплазматические оксидоредуктазы живых клеток способны восстанавливать синий краситель ресазурин (7-гидрокси-3H-феноксазин-3-он-10-окси да натриевая соль) до розово-фиолетового резоруфина, обладающего флуоресценцией в желто-зеленой обрасти спектра. Интенсивность флуоресценции резофурина прямо пропорциональна количеству живых клеток в лунке.

Таблица **Цитотоксичность пиранопиридонотриптаминов в МТТ-тесте** 

Соединение III	IC <sub>50</sub> , мкМ	
	А549 (карцинома легкого человека)	НСТ116 (карцинома кишечника человека)
1	98,86±3,61	44,01±8,71
2	33,11±0,60	29,56±0,90
3	21,46±2,92	4,88±0,63
4	20,85±0,31	21,63±0,74
5	303,11±26,04	236,20±10,52
6	70,12±1,44	6,17±0,11
7	107,15±3,74	89,05±2,40
8	109,39±2,14	177,75±10,19
9	75,06±11,55	38,05±4,49
10	254,30±13,05	214,26±9,71
11	232,17±10,33	225,25±10,17
12	268,00±9,78	73,90±5,62
13	18,28±0,33	20,68±1,07
14	22,53±0,53	16,55±0,35
15	58,48±0,33	110,78±6,07
16	21,60±0,62	26,32±1,26
17	38,59±0,44	122,83±4,68
18	212,63±8,76	284,69±5,19
Камптотецин	8,87±0,02	12,34±0,50
Даунорубицин	0,51±0,01	0,24±0,01

Соединения **III 3** и **III 4** в тесте с ресазурином продемонстрировали высокую цитотоксичность:  $IC_{50}$  составила  $1,47\pm0,06$  мкМ для соединения **III 3** и  $4,56\pm0,19$  мкМ для соединения **III 4**.  $IC_{50}$  препаратов сравнения были определены в данном эксперименте как  $1,24\pm0,05$  мкМ для камптотецина (ингибитор топоизомеразы I) и  $0,011\pm0,001$  мкМ для даунорубицина (интеркалятор, ингибитор

топоизомеразы II). В дальнейших экспериментах мы использовали эти соединения и препараты сравнения в дозах, близких к их  $IC_{50}$  в отношении к культуре клеток Jurkat: 1 мкМ для соединения III 3, 5 мкМ для соединения III 4, 1 мкМ для камптотецина и 0.01 мкМ для даунорубицина.

Апоптоз — это тщательно регулируемый процесс гибели клеток, который является нормальной частью ее развития. Факторы, участвующие в регуляции клеточной гибели, в настоящее время рассматриваются в качестве основных мишеней противоопухолевого воздействия, а характер апоптотических реакций может служить маркером эффективности рациональной химиотерапии и помогать в ее выборе. Апоптоз отличается характерными морфологическими и биохимическими изменениями клетки, в том числе уплотнением и фрагментацией хроматина, «усадкой» цитоплазмы и потерей мембраной асимметрии. Последняя особенность связана с транслокацией фосфатидилсерина на внешней поверхности цитоплазматической мембраны апоптотической клетки [14]. Чтобы определить, была ли активность выбранных соединений связана с индукцией апоптоза, нами использовались рекомбинантный аннексин V, который имеет высокое сродство к фосфатидилсерину, конъюгированный с красителем APC, и краситель SYTOX® Blue (который легко проникает в клетки с нарушенными плазматическими мембранами) [10].

На рисунке 2 представлены популяции клеток, находящихся в процессе апоптоза или некроза через 24, 48 и 72 ч после воздействия исследуемых соединений или препаратов сравнения.

Анализируя количество клеток, находящихся в различных стадиях жизненного цикла, видим влияние на апоптоз такого известного индуктора апоптоза, как камптотецин (СРТ). Процент клеток, находящихся в стадии раннего апоптоза, по отношению ко всем клеткам популяции постепенно растет: от 20% через 24 ч воздействия к 33% через 48 ч воздействия и достигает 48% через 72 ч воздействия камптотецина в дозе 1 мкМ.

Даунорубицин (DNR) является известным интеркалирующим агентом и в нашем эксперименте он, примененный в дозе 0.01 мкМ, повышал фракцию лишь немного апоптозных, а больше – некрозных клеток к 72 ч после воздействия: до 7 и 10% соответственно.

Исследуемые нами соединения не оказывают выраженного влияния на индукцию апоптоза. Результаты при их воздействии на опухолевые клетки практически равны данным контрольной группы клеток, не подвергшейся воздействию. В случае соединения III-3 можно отметить только немного более высокий процент клеток, находящихся в стадии некроза или позднего апоптоза, через 72 ч воздействия: 8% против 2% в контрольной группе.

Нарушения в системе контроля клеточного цикла — одна из основных причин образования злокачественных опухолей. Мутации в генах регуляторных белков клеточного цикла приводят к бесконтрольному делению клеток, дальнейшему накоплению мутаций в клетках, появлению и размножению анеуплоидных клеток с ненормальным содержанием хромосом. В свою очередь, действие многих противоопухолевых препаратов сопровождается замедлением или блокадой клеточного цикла.

Измерение содержания ДНК позволяет изучать клеточные популяции в различных фазах клеточного цикла, а также проводить анализ плоидности ДНК. В конкретной популяции клетки распределяются по трем основным фазам клеточного цикла: фаза G0/G1 (один набор парных хромосом на клетку); фаза S (синтез ДНК с переменным количеством ДНК); фаза G2/M (два набора парных хромосом на клетку до деления клетки) [17].

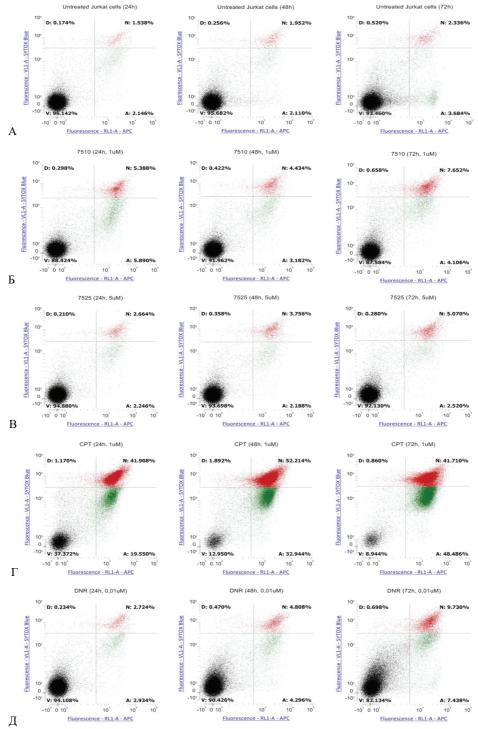


Рис. 2. Дотограммы популяций клеток необработанных (A) после воздействия соединения III 3 (Б), соединения III 4 (В) или препаратов сравнения камптотецина (Γ) и даунорубицина (Д) через 24, 48 и 72 ч (на дотограммах в сегментах указаны проценты популяций клеток, где A – апоптотические клетки, V – жизнеспособные, N – некротические, D – поврежденные клетки, или продукты лизиса)

На рисунке 3 представлены популяции клеток, находящихся в трех основных фазах клеточного цикла, через 24, 48 и 72 ч после воздействия исследуемых соединений или препаратов сравнения.

Для контрольной группы разделение клеток было следующим: в фазе G0 (вне клеточного цикла) находится около 2% всех клеток (что нормально для постоянно делящихся опухолевых клеток); в фазе G0/G1 (пресинтетической) — около 50% всех клеток; в S-фазе (синтетической, удвоения ДНК) — около 30% всех клеток; в постсинтетической фазе G2/M — около 18% всех клеток.

В случае с камптотецином (СРТ) в дозе 1 мкМ на протяжении всего эксперимента наблюдался арест клеточного цикла в фазе G0/G1 (57–79% всей клеточной популяции), клетки не входили в стадию удвоения ДНК, и количество клеток, находящихся в фазе постсинтетической G2/M, составляло не выше 5%.

В случае с даунорубицином (DNR) в дозе 0,01 мкМ арест клеточного цикла происходил на стадии удвоения ДНК. Даунорубицин как известный интеркалятор встраивается между парами азотистых оснований и ингибирует топоизомеразу ІІ, которая должна расплетать нити ДНК в процессе репликации. При воздействии на опухолевые клетки даунорубицином наблюдалось накопление клеток в S-фазе, а особенно в G2/М фазе (до 63% всей клеточной популяции). На фоне этого эффекта популяция клеток пресинтетической фазы значительно обедняется (18–36% от всей популяции клеток).

Соединения **III 3** и **III 4** в дозах 1 и 5 мкМ соответственно не оказывают действия в первые сутки применения, однако после 48 ч воздействия вызывают арест клеточного цикла в фазе G0/G1, не позволяя клеткам перейти к репликации ДНК. В случае соединения **III 3** это составляет 61% клеток популяции, в случае соединения **III 4**—68% клеток популяции, в то время как в контрольной группе количество клеток в пресинтетической фазе цикла составляет 50%.

Экспериментальная биологическая часть. Культуры клеток человека A549 (карцинома легкого, ATCC®CCL-185<sup>TM</sup>) и HCT116 (карцинома кишечника, ATCC®CCL-247<sup>TM</sup>) выращивали в среде DMEM (PanEco, Moscow, Russia), Jurkat (острая Т-клеточная лейкемия, ATCC®TIB-152<sup>TM</sup>) в среде RPMI-1640 (Gibco, Scotland, UK) с добавлением 10% эмбриональной телячьей сыворотки (ThermoFisher Scientific, Paisley, UK), 2мМ L-глутамина (PanEco, Moscow, Russia) и 1% гентамицина (ОАО Дальхимфарм, Россия) в качестве антибиотика при 37 °C и 5% CO<sub>2</sub> во влажной атмосфере.

Цитотоксичность всех синтезированных соединений была определена по МТТ-тесту [14]. Клетки были посеяны в концентрации  $1 \cdot 10^4$  клеток/200 мкл в 96-луночный планшет и культивировались при 37 °C во влажной атмосфере с 5% СО $_2$ . После 24 ч инкубации к культурам клеток были добавлены различные концентрации тестируемых соединений (от 100 до 1,56 мкМ), и далее клетки культивировались в тех же условиях в течение 72 ч. Каждая концентрация была выполнена в трех опытных пробах. Все вещества были растворены в ДМСО, конечная концентрация ДМСО в лунке не превышала 0,1% и не была токсичной для клеток.

В качестве контрольных выступали лунки, в которые добавляли растворитель в конечной концентрации 0,1%. После инкубации в каждую лунку было добавлено 20 мкл МТТ (5 мг/мл), и планшеты инкубировались еще в течение 2 ч. Затем из планшетов была удалена среда, и в каждую лунку добавили 100 мкл ДМСО для растворения образовавшихся кристаллов формазана. С помощью планшетного анализатора Cytation3 (BioTek Instruments, Inc) определяли оптическую плотность при 536 нм [28].

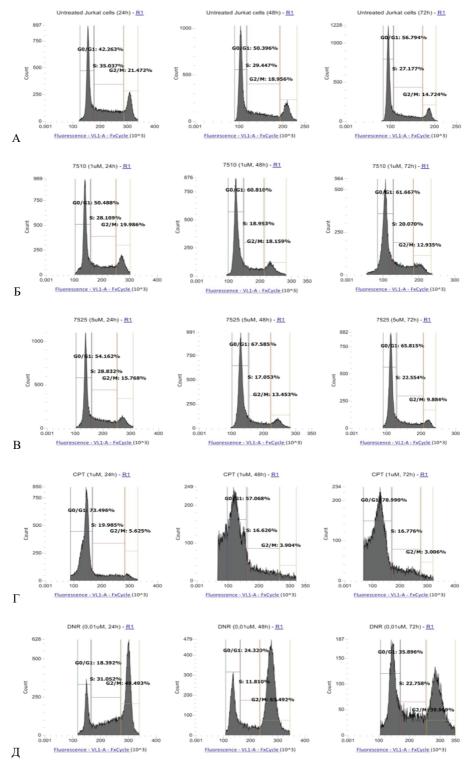


Рис. 3. Гистограммы популяций клеток, находящихся в различных фазах клеточного цикла: необработанных (A), после воздействия соединения III 3 (Б), соединения III 4 (В) или препаратов сравнения камптотецина (Г) и даунорубицина (Д) – через 24, 48 и 72 ч

Цитотоксичность соединений III-3 и III-4 дополнительно определяли с помощью ресазурин-теста [25]. Клетки были посеяны в концентрации 6•10<sup>4</sup> клеток/200 мкл в 96-луночный планшет и культивировались при 37 °C во влажной атмосфере с 5%-ным CO<sub>2</sub> с различными концентрациями тестируемых соединений (от 100 до 1,56 мкМ) в течение 72 ч. Каждая концентрация была выполнена в трех опытных пробах. Все вещества были растворены в ДМСО, конечная концентрация ДМСО в лунке не превышала 0,1% и не была токсичной для клеток. В качестве контрольных выступали лунки, в которые добавляли растворитель ДМСО в конечной концентрации 0,1%. После инкубации в каждую лунку было добавлено 20 мкл ресазурина (7-гидрокси-3H-феноксазин-3-он-10-оксида натриевой соли с конечной концентрацией 50 мкМ), и планшеты дополнительно инкубировали в течение 2 ч. Флуоресценцию восстановленного резоруфина определяли с помощью планшетного анализатора Суtation3 (ВіоТек) при длине волны возбуждения 550 нм, эмиссии 585 нм [11].

В качестве количественного критерия цитотоксичности тестируемых соединений был использован индекс  $IC_{50}$ . Значение концентрации, вызывающее 50%-ное ингибирование роста популяции клеток ( $IC_{50}$ ), было определено на основе дозозависимых кривых с помощью программного обеспечения GraphPad Prism 9. За 100%-ную принимали выживаемость клеток, инкубированных без исследуемых соединений (контроль).

Для детектирования апоптоза в клетках использовали метод проточной цитометрии. Оценивали экстернализацию фосфатидилсерина с помощью теста с аннексином V, а для определения некротической популяции использовали краситель SYTOX Blue [22]. Клетки сеяли в 12-луночный планшет ( $1 \times 10^6$  клеток в 1000 мкл), добавляли растворы исследуемых соединений и препаратов сравнения в дозах, близких к  $IC_{50}$ , и инкубировали в течение 24, 48 и 72 ч. Пробы были подготовлен в соответствии с инструкцией производителя реагентов к набору реагентов Annexin V, APC Ready Flow<sup>TM</sup> Reagent (Invitrogen by ThermoFisher Scientific, USA), а затем проанализированы с помощью проточного цитометра Attune NxT Acoustic Focusing Cytometer при использовании 638 и 405 нм лазеров с 670/14 и 440/50 полосовыми фильтрами соответственно, по достижении 50 000 событий со стандартной скоростью потока 100 мкл/мин [10].

Оценку влияния исследуемых соединений на клеточный цикл проводили с использованием проточной цитофлуориметрии путем измерения содержания ДНК в клетках [27]. Клетки сеяли в 12-луночный планшет (1 × 106 клеток в 1000 мкл), добавляли растворы исследуемых соединений и препаратов сравнения в дозах, близких к IC<sub>50</sub>, затем инкубировали в течение 24, 48 и 72 ч. Клеточный материал был подготовлен в соответствии с инструкцией производителя реагента к набору реагентов FxCycle<sup>TM</sup> Violet stain (Molecular Probes by Life Technologies, USA). Клетки фиксировали холодным этанолом (70%) в течение 15 мин и отмывали фосфатно-солевым буфером. Затем анализировали с помощью проточного цитометра Attune NxT Acoustic Focusing Cytometer, используя 405 нм лазер с 440/50 полосовым фильтром, по достижении 50 000 событий со стандартной скоростью потока 12,5 мкл/мин [10].

#### Выводы

Ряд исследованных пиранопиридонотриптаминов обладает цитотоксичностью по отношению к опухолевым культурам клеток человека А549 и НСТ116. Для проявления цитотоксичности наибольшее значение имеют наличие и число атомов брома в триптаминовом фрагменте.

Пиранопиридонотриптамины, не содержащие бром, демонстрируют отсутствие цитотоксического эффекта. При введении одного атома брома в индольное ядро пиранопиридонотриптамины начинают проявлять цитотоксичность, а в случае двух атомов брома в триптаминовом фрагменте все 7 соединений обладают цитотоксичностью, близкой или даже превышающей цитотоксичность препарата сравнения камптотецина.

Два соединения с цитотоксичностью, близкой к цитотоксичности камптотецина, **III 3** и **III 4**, оказывают примерно равный ему эффект воздействия на клеточный цикл, вызывая арест его в пресинтетической фазе. Однако данные соединения не обладают влиянием на апоптоз, присущий камптотецину, при исследовании в тесте с Аннексином V.

Биологическая часть работы выполнена в рамках Государственного задания  $И\Phi AB\ PAH\ 2023\ z.$  (тема № FFSN-2021–0013 «Природные биологически активные вещества и их аналоги»).

#### Библиографический список

- 1. Аникина Л.В., Семаков А.В., Пухов С.А., Афанасьева С.В., Клочков С.Г. Сравнение цитотоксичности двух антрациклиновых антибиотиков в отношении нормальных и опухолевых линий клеток // Современные проблемы науки и образования. 2016. № 2. URL: https://science-education.ru/ru/article/view?id=24159.
- 2. *Бидыло Т.И., Юровская М.А.* Синтез триптаминов по Фишеру с использованием синтетических предшественников и скрытых форм аминобутаналя (обзор) // Химия гетероциклических соединений. -2008. -№ 4. C. 493–538. https://doi.org/10.1039/B911516C.
- 3. Лайпанов Р.К., Токмаков Г.П., Денисов П.Д., Пржевальский Н.М. Синтез триптаминов по Грандбергу для мультикомпонентных реакций // Известия ТСХА. 2012. Вып. 5. C. 123–129.
- 4. Лайпанов Р.К., Токмаков Г.П., Пржевальский Н.М. Синтез новых биологически активных производных пиридонов-2 с фрагментом триптамина // Известия TCXA.-2014.-Bып 4.-C. 90–101.
- 5. Пржевальский Н.М., Аникина Л.В., Глоба А.А., Токмаков Г.П., Лайпанов Р.К., Вершинкин Д.А. Цитотоксическая активность новых производных триптаминов // Сборник тезисов докладов Всероссийского конгресса по химии гетероциклических соединений «KOST-2021», г. Сочи, 12-16 октября 2021 г. -2021. C. 263. URL: https://kpfu.ru/staff\_files/F764429877/Abstracts\_KOST2021\_final.pdf.
- 6. Пржевальский Н.М., Лайпанов Р.К., Токмаков Г.П., Лукина И.В., Вершинкин Д.А., Тафеенко В.А. Синтез новых потенциально биологически активных пиранопиридонов с фрагментом триптамина // Известия Академии наук. Серия «Химическая». -2021. № 3.- С. 555-561. https://doi.org/10.1007/s11172-021-3124-4.
- 7. Пржевальский Н.М., Лайпанов Р.К., Токмаков Г.П., Нам Н.Л. Реакция Грандберга в синтезе биологически активных соединений // Известия Академии наук. Серия «Химическая». -2016. № 7. -C. 1709—1715. https://doi.org/10.1007/s11172—016—1499—4.
- 8. Пржевальский Н.М., Лайпанов Р.К., Токмаков Г.П., Рожкова Е.Н. Трехком-понентный синтез новых производных пирано[3,2-с] пиридонов // Известия TCXA.-2015.-Bып. 6.-C. 67-78.
- 9. Пржевальский Н.М., Лайпанов Р.К., Токмаков Г.П., Рожкова Е.Н. Синтез потенциально цитотоксических бромопроизводных пирано[3,2-с] пиридонов // Известия TCXA.-2017.-Bып.  $3.-C.\ 146-158.$
- 10. Пухов С.А., Аникина Л.В., Ларин А.А., Ферштат Л.Л., Куликов А.С., Махова Н.Н. Цитотоксический эффект гетерилфуроксанов и индукция апоптоза в культуре

- клеток хронической миелоидной лейкемии К562 // Известия Академии наук. Серия «Химическая». -2019. N 1. C. 158—162.
- 11. Пухов С.А., Неганова М.Е., Аникина Л.В., Шевцова Е.Ф., Афанасьева С.В., Клочков С.Г. Ингибирование роста клеток аденокарциномы молочной железы эпоксиалантолактоном и его производными // Фундаментальные исследования. -2014. -№ 9. С. 1988–1992.
- 12. Aksenov N.A., Aksenov A.V., Kornienko A., Carvalho A., Mathieu V., Aksenov D.A., Ovcharov S.V., Griaznov G.D., Rubin M.A. Nitroalkane based approach to one-pot three-component synthesis of isocryptolepine and its analogs with potent anticancer activities // RSC Advances. − 2018. − № 8. − Pp. 36980–36986. https://doi.org/10.1039/C8RA08155G.
- 13. Aksenov D.A., Akulova A.S., Aleksandrova E.A., Aksenov N.A., Leontiev A.V., Aksenov A.V. An effective synthesis of previously unknown 7-aryl substituted paullones // Molecules. 2023. Vol. 28, № 5. P. 2324. https://doi.org/10.3390/molecules28052324.
- 14. *Allen R.T., Hunter W.J., Agrawal D.K.* Morphological and biochemical characterization and analysis of apoptosis // Journal of Pharmacological and Toxicological Methods. 1997. Vol. 37, № 5. Pp. 215–228. https://doi.org/10.1016/S1056–8719(97)00033–6.
- 15. *Barceloux D.G.* Medical Toxicology of Drug Abuse: Synthesized Chemicals and Psychoactive Plants // John Wiley & Sones. Inc. 2012. Chapter. 11. Tryptamine designer drugs. Pp. 193–199. https://doi.org/10.1002/9781118105955.ch11.
- 16. Chen X., Hao B., Li D., Reiter R.J., Bai Y., Abay B., Chen G., Lin S., Zheng T., Ren Y., Xu X., Li M., Fan L. Melatonin inhibits lung cancer development by reversing the Warburg effect via stimulating the SIRT3/PDH axis // Journal of Pineal Research. 2021. Vol. 71, № 2. P. e12755. https://doi.org/10.1111/jpi.12755.
- 17. Darzynkiewicz Z., Bender E., Smolewski P. Flow cytometry in analysis of cell cycle and apoptosis // Seminars in Hematology. 2001. Vol. 38, № 2. Pp. 179–193. https://doi.org/10.1016/s0037–1963(01)90051–4.
- 18. Del Rio B., Redruello B., Fernandez M., Martin M.C., Ladero V., Alvarez M.A. The biogenic amine tryptamine, unlike β-phenylethylamine, shows in vitro cytotoxicity at concentrations that have been found in foods // Food Chemistry. 2020. Vol. 331. P. 127303. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2020.127303.
- 19. *Gorobets N.Yu., Yousefi B.H., Belaj F., Kappe C.O.* Rapid microwave-assisted solution phase synthesis of substituted 2-pyridone libraries // Tetrahedron. − 2004. − Vol. 60, № 39. − Pp. 8633–8644. https://doi.org/10.1016/j.tet.2004.05.100.
- 20. *Jessen H.J.*, *Gademann K.* 4-Hydroxy-2-pyridone alkaloids: Structures and synthetic approaches // Natural Product Reports. −2010. −Vol. 27, № 8. −Pp. 1168–1185. https://doi.org/10.1039/B911516C.
- 21. *Kochanowska-Karamyan A.J.*, *Hamman M.T.* Marine Indole Alcaloids: Potencial New Drug Leads for the Control of Depression and Anxiety // Chemical Reviews. 2010. Vol. 110, № 8. Pp. 4489–4497. https://doi.org/10.1021/cr900211p.
- 22. Koopman G., Reutelingsperger C.P., Kuijten G.A., Keehnen R.M., Pals S.T., Annexin M.N. van Oers. V for flow cytometric detection of phosphatidylserine expression on B cells undergoing apoptosis // Blood. − 1994. − Vol. 84, № 5. − Pp. 1415–1420. https://doi.org/10.1182/blood.V84.5.1415.1415.
- 23. Li Z., Ding B., Ali M.R.K., Zhao L., Zang X., Lv Z. Dual Effect of Tryptamine on Prostate Cancer Cell Growth Regulation: A Pilot Study // International Journal of Molecular Sciences. 2022. Vol. 23, № 19. P. 11087. https://doi.org/10.3390/ijms231911087.
- 24. *Mosmann T*. Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: application to proliferation and cytotoxicity assay // Journal of Immunological Methods. − 1983. − Vol. 65, № 1–2. − Pp. 55–63. https://doi.org/10.1016/0022–1759(83)90303–4.

- 25. O'Brien J., Wilson I., Orton T., Pognan F. Investigation of Alamar Blue (resazurin) fluorescent dye for the assessment of mammalian cell cytotoxicity // European Journal of Biochemistry. − 2000. − Vol. 267, № 17. − Pp. 5421−5426. https://doi.org/10.1046/j.1432−1327.2000.01606.x.
- 26. *Poroikov V.* Computer-assisted prediction and design of Multitargeted drugs // Invited abstracts. Medicinal Chemistry Research. 2010. Vol. 19 (Suppl 1). P. s30. http://dx.doi.org/10.1007/s00044–010–9296–3.
- 27. *Pozarowski P., Darzynkiewicz Z.* Analysis of cell cycle by flow cytometry // Methods in Molecular Biology. 2004. Vol. 281. Pp. 301–311. https://doi.org/10.1385/1–59259–811–0:301.
- 28. Qu S. J., Wang G. F., Duan W. H., Yao S. Y., Zuo J. P., Tan C. H., Zhu D. Y. Tryptamine derivatives as novel non-nucleosidic inhibitors against hepatitis B virus // Bioorganic & Medicinal Chemistry. 2011. Vol. 19, № 10. Pp. 3120–3127. https://doi.org/10.1016/j.bmc.2011.04.004.
- 29. Simonetti G., Boga C., Durante J., Micheletti G., Telese D., Caruana P., Rorà A.G.L., Mantellini F., Bruno S., Martinelli G., Calonghi N. Synthesis of Novel Tryptamine Derivatives and Their Biological Activity as Antitumor Agents // Molecules. − 2021. Vol. 26, № 3. P. 683. https://doi.org/10.3390/molecules26030683.
- 30. Vargas A.S., Luís Â., Barroso M., Gallardo E., Pereira L. Psilocybin as a New Approach to Treat Depression and Anxiety in the Context of Life-Threatening Diseases. A Systematic Review and Meta-Analysis of Clinical Trials // Biomedicines. − 2020. − Vol. 8, № 9. − P. 331. https://doi.org/10.3390/biomedicines8090331.
- 31. Zhai X., Wang N., Jiao H., Zhang J., Li C., Ren W., Reiter R.J., Su S. Melatonin and other indoles show antiviral activities against swine coronaviruses in vitro at pharmacological concentrations // Journal of Pineal Research. − 2021. − Vol. 71, № 2. − P. e12574. https://doi.org/10.1111/jpi.12754.

#### CYTOTOXICITY OF PYRANOPYRIDONES WITH TRYPTAMINE FRAGMENT

### N.M. PRZHEVAL'SKIY<sup>1</sup>, L.V. ANIKINA<sup>2</sup>, A.A. GLOBA<sup>2</sup>, G.P. TOKMAKOV<sup>1</sup>, R.K. LAYPANOV<sup>1</sup>, D.A. VERSHINKIN<sup>1</sup>

(<sup>1</sup>Russian State Agrarian University – Moscow Timiryazev Agricultural Academy, <sup>2</sup>Institute of Physiologically Active Substances of the Federal Research Center for Problems of Chemical Physics and Medicinal Chemistry of the Russian Academy of Sciences)

New derivatives of pyrano[3,2-c]pyridones III 5, 10, 15, 18 were synthesised by three-component reaction of pyridonotryptamines I, aromatic aldehydes II and malononitril. Pyridonotryptamines I were synthesised by reaction of tryptamines (these compounds were obtained by Grandberg reaction of arylhydrazines with y-halogencarbonyl compounds) with 4-hydroxy-6-methyl-2H-pyran- 2-on. The aromatic aldehydes II 1, 5, 6, 9 are commercially available compounds. Boiling a mixture of compounds I, II and malononitril (molar ratio 1:1.1:1.1) in ethyl alcohol in the presence of triethylamine gives the target compounds III 5, 10, 15, 18. The product yields 44–75%. The structure of pyrano[3,2-c]pyridones with tryptamine fragment III (four compounds) was proved by <sup>1</sup>H NMR and confirmed by elemental analysis. Compounds III 1–4, 6–9, 11–14, 16 and 17 were synthesised earlier by a similar procedure.

The cytotoxicity of the synthesised compounds III 1–18 was determined in vitro using the MTT test on human cell cultures A549 (lung carcinoma) and HCT116 (colorectal carcinoma). Camptothecin and daunorubicin were used as reference drugs. The value of the concentration inducing 50% inhibition of the cell growth (IC<sub>50</sub>,  $\mu$ M) was determined from the dose-response curves

using GraphPad Prism 9 software. Compounds III 3 ( $R^1=R^2=Br$ , Ar=2,5-di-OMe- $C_6H_3$ ,) III 4 ( $R^1=R^2=Br$ , Ar=4-F- $C_6H_4$ ), III 6 ( $R^1=Me$ ,  $R^2=H$ , Ar=2,4,5-tris-OMe- $C_6H_2$ ), III 13 ( $R^1=R^2=Br$ , Ar=Ph), III 14 ( $R^1=R^2=Br$ , Ar=2,3-di-OMe- $C_6H_3$ ) and III 16 ( $R^1=R^2=Br$ , Ar=Py) showed the best results for A549 and HCT116 cultures. The effect of the most active compounds III 3 and III 4 on the cell cycle and apoptosis was studied on Jurkat cell culture (human acute T-cell leukemia). Compounds III 3 and III 4 showed significant cytotoxicity against the Jurkat line in the resazurin test  $-1.47\pm0.06$  and  $4.56\pm0.19$   $\mu$ M, respectively, comparable to the cytotoxicity of the reference drug camptothecin of  $1.24\pm0.05$   $\mu$ M. Based on the flow cytometry results, it is suggested that the effect is manifested by some (possibly reversible) cell cycle arrest in the presynthetic phase.

**Key words:** aromatic aldehydes, indoles, pyranopyridones, pyridones, pyridonotryptamines, tryptamines, cytotoxicity, MTT test, apoptosis, cell cycle.

#### References

- 1. Anikina L.V., Semakov A.V., Pukhov S.A., Afanas'eva S.V., Klochkov S.G. Comparison of Cytotoxicity of Two Anthracycline Antibiotics against Normal and Tumour Cell Lines. Sovremennye problemy nauki i obrazovaniya. 2016; No 2. URL: https://science-education.ru/ru/article/view?id=24159 (In Rus.)
- 2. *Bidylo T.I., Urovskaya M.A.* Synthesis of Tryptamines by the Fisher Method Using Synthetic Precursor and Latent Forms of Amino-Butanal (Review). Khimiya geterotsiklicheskikh soedineniy. 2008; 4: 493–538. URL: https://doi.org/10.1039/B911516C (In Rus.)
- 3. Laypanov R.K., Tokmakov G.P., Denisov P.D., Przhevalskiy N.M. Grandberg Synthesis of Tryptamines for Multicomponent Reactions. Izvestiya TSKhA. 2012; 5: 123–129. (In Rus.)
- 4. Laypanov R.K., Tokmakov G.P., Przhevalskii N.M. Synthesis of New Biologically Active Pyridone-2 Derivatives with a Tryptamine Fragment. Izvestiya TSKhA. 2014; 4: 90–101. (In Rus.)
- 5. Przhevalskiy N.M., Anikina L.V., Globa A.A., Tokmakov G.P., Laypanov R.K., Vershinkin D.A. Cytotoxic Activity of New Derivatives of Tryptamines. Sbornik tezisov dokladov Vserossiyskogo kongressa po khimii geterotsiklicheskikh soedineniy "KOST-2021". Sochi. 12–16 oktyabrya 2021 g. 2021: 263. URL: https://kpfu.ru/staff\_files/F764429877/Abstracts\_KOST2021\_final.pdf. (In Rus.)
- 6. Przhevalskiy N.M., Laypanov R.K., Tokmakov G.P., Lukina I.V., Vershinkin D.A., Tafeenko V.A. Synthesis of New Potentially Biologically Active Pyranopyridones with Tryptamine Fragment. Izvestiya Academii nauk. Seriya Chimicheskaya. 2021; 3: 555–561. URL: https://doi.org/10.1007/s11172–021–3124–4. (In Rus.)
- 7. Przhevalskiy N.M., Laypanov R.K., Tokmakov G.P., Nam N.L. Grandberg Reaction in the Synthesis of Biological Active Compounds. Izvestiya Academii nauk. Seriya Khimicheskaya. 2016; 7: 1709–1715. URL: https://doi.org/10.1007/s11172–016–1499–4. (In Rus.)
- 8. *Przhevalskiy N.M.*, *Laypanov R.K.*, *Tokmakov G.P.*, *Rozhkova E.N*. Three-Component Synthesis Of Novel Pyrano[3,2-C]Pyridone Derivatives. Izvestiya TSKhA. 2015; 6: 67–78. (In Rus.)
- 9. Przhevalskiy N.M., Laypanov R.K., Tokmakov G.P., Rozhkova E.N. Synthesis of Potentially Cytotoxic Bromo Derivatives of Pyrano[3,2-C]Pyridines. Izvestiya TSKhA. 2017; 3: 146–158. (In Rus.)
- 10. Pukhov S.A., Anikina L.V., Larin A.A., Fershtat L.L., Kulikov A.S., Makhova N.N. Cytotoxic Effect of Heterylfuroxanes and Induction of Apoptosis in Chronic

- Myeloid Leukaemia K562 Cell Culture. Izvestiya Academii nauk. Seriya Khimicheskaya. 2019; 1: 158–162. (In Rus.)
- 11. Pukhov S.A., Neganova M.E., Anikina L.V., Shevtsova E.F., Afanas'eva S.V., Klochkov S.V. Inhibition of Breast Adenocarcinoma Cell Growth by Epoxyalantolactone and Its Derivatives. Fundamental'nye issledovaniya. 2014; 9: 1988–1992. (In Rus.)
- 12. Aksenov N.A., Aksenov A.V., Kornienko A., De Carvalho A., Mathieu V., Aksenov D.A., Ovcharov S.V., Griaznov G.D., Rubin M.A. Nitroalkane based approach to one-pot three-component synthesis of isocryptolepine and its analogs with potent anticancer activities. RSC Advances. 2018; 8: 36980–36986. URL: https://doi.org/10.1039/C8RA08155G
- 13. Aksenov D.A., Akulova A.S., Aleksandrova E.A., Aksenov N.A., Leontiev A.V., Aksenov A.V. An effective synthesis of previously unknown 7-aryl substituted paullones. Molecules. 2023; 28; 5: 2324. URL: https://doi.org/10.3390 molecules28052324
- 14. *Allen R.T., Hunter W.J., Agrawal D.K.* Morphological and biochemical characterization and analysis of apoptosis. Journal of Pharmacological and Toxicological Methods. 1997; 37; 5: 215–228. URL: https://doi.org/10.1016/S1056–8719(97)00033–6
- 15. *Barceloux D.G.* Medical Toxicology of Drug Abuse: Synthesized Chemicals and Psychoactive Plants. John Wiley & Sones, Inc.: 2012. Chapter 11. Tryptamine designer drugs. Pp. 193–199. URL: https://doi.org/10.1002/9781118105955.ch11
- 16. Chen X., Hao B., Li D., Reiter R.J., Bai Y., AbayB., ChenG., Lin S., Zheng T., Ren Y., Xu X., Li M., Fan L. Melatonin inhibits lung cancer development by reversing the Warburg effect via stimulating the SIRT3/PDH axis. Journal of Pineal Research. 2021; 71; 2: e12755. URL: https://doi.org/10.1111/jpi.12755
- 17. Darzynkiewicz Z., Bender E., Smolewski P. Flow cytometry in analysis of cell cycle and apoptosis. Seminars in Hematology. 2001; 38; 2: 179–193. URL: https://doi.org/10.1016/s0037–1963(01)90051–4
- 18. Del Rio B., Redruello B., Fernandez M., Martin M.C., Ladero V., Alvarez M.A. The biogenic amine tryptamine, unlike  $\beta$ -phenylethylamine, shows in vitro cytotoxicity at concentrations that have been found in foods. Food Chemistry. 2020; 331: 127303. URL: https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2020.127303
- 19. *Gorobets N.Yu.*. *Yousefi B.H.*, *Belaj F.*, *Kappe C.O.* Rapid microwave-assisted solution phase synthesis of substituted 2-pyridone libraries. Tetrahedron. 2004; 60: 8633. URL: https://doi.org/10.1007/s11172-016-1499-4
- 20. *Jessen H.J., Gademann K.* 4-Hydroxy-2-pyridonealkaloids: Structures and synthetic approaches. Natural Product Reports. 2010; 27: 1168–1185. URL: https://doi.org/10.1039/B911516C
- 21. *Kochanowska-Karamyan A.J., Hamman M.T.* Marine Indole Alcaloids: Potencial New Drug Leads for the Control of Depression and Anxiety. Chemical Reviews. 2010; 110; 8: 4489–4497. URL: https://doi.org/10.1021/cr900211p
- 22. Koopman G., Reutelingsperger C.P., Kuijten G.A., Keehnen R.M., Pals S.T., van Oers M.N. Annexin V for flow cytometric detection of phosphatidylserine expression on B cells undergoing apoptosis. Blood. 1994; 84; 5: 1415–1420.
- 23. Li Z., Ding B., Ali M.R.K., Zhao L., Zang X., Lv Z. Dual Effect of Tryptamine on Prostate Cancer Cell Growth Regulation: A Pilot Study. International Journal of Molecular Sciencies. 2022.; 23; 19: 11087. URL: https://doi.org/10.3390/ijms231911087
- 24. *Mosmann T.* Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: application to proliferation and cytotoxicity assay. Journal of Immunological Methods. 1983; 65; 1–2: 55–63. URL: https://doi.org/10.1016/0022–1759(83)90303–4
- 25. O'Brien J., Wilson I., Orton T., Pognan F. Investigation of Alamar Blue (resazurin) fluorescent dye for the assessment of mammalian cell cytotoxicity. European Journal of Biochemistry. 2000; 267; 17: 5421–5426. URL: https://doi.org/10.1046/j.1432–1327.2000.01606.x

- 26. *Poroikov V.* Computer-assisted prediction and design of Multitargeted drugs. Invited abstracts. Medicinal Chemistry Research. 2010; 19(1): 30. URL: http://dx.doi.org/10.1007/s00044-010-9296-3
- 27. *Pozarowski P., Darzynkiewicz Z.* Analysis of cell cycle by flow cytometry. Methods in Molecular Biology. 2004;281:301–311. URL: https://doi.org/10.1385/1-59259-811-0:301
- 28. Qu S. J., Wang G. F., Duan W. H., Yao S. Y., Zuo J. P., Tan C. H., Zhu D. Y. Tryptamine derivatives as novel non-nucleosidic inhibitors against hepatitis B virus. Bioorganic & Medicinal Chemistry. 2011; 19; 10: 3120–3127. URL: https://doi.org/10.1016/j. bmc.2011.04.004
- 29. Simonetti G., BogaC., DuranteJ., Micheletti G., TeleseD., Caruana P., di Rorà A.G.L., Mantellini F., Bruno S., Martinelli G., Calonghi N. Synthesis of Novel Tryptamine Derivatives and Their Biological Activity as Antitumor Agents. Molecules. 2021; 26: 3: 683. URL: https://doi.org/10.3390/molecules26030683
- 30. Vargas A.S., Luís Â., Barroso M., Gallardo E., Pereira L. Psilocybin as a New Approach to Treat Depression and Anxiety in the Context of Life-Threatening Diseases. A Systematic Review and Meta-Analysis of Clinical Trials. Biomedicines. 2020; 8; 9: 331. URL: https://doi.org/10.3390/biomedicines8090331
- 31. Zhai X., Wang N., Jiao H., Zhang J., Li C., Ren W., Reiter R.J., Su S. Melatonin and other indoles show antiviral activities against swine coronaviruses in vitro at pharmacological concentrations. Journal of Pineal Research. 2021; 71; 2: e12574. URL: https://doi.org/10.1111/jpi.12754

**Пржевальский Николай Михайлович,** д-р хим. наук, профессор кафедры химии РГАУ-МСХА имени К.А. Тимирязева; 127434, Российская Федерация, г. Москва, Тимирязевский пр-д, 2/4; e-mail: prjevalski@mail.ru; тел.: (903) 681–48–23

Аникина Лада Владимировна, канд. биол. наук, ведущий научный сотрудник лаборатории природных соединений Института физиологически активных веществ РАН; 142432, Российская Федерация, Московская область, Черноголовка, Северный пр-д, 1; e-mail: anikina1970@gmail.com; тел.: (919) 712–01–70

**Глоба Анастасия Алексеевна,** младший научный сотрудник лаборатории природных соединений Института физиологически активных веществ РАН; 142432, Российская Федерация, Московская область, Черноголовка, Северный пр-д, 1

**Токмаков Геннадий Петрович,** канд. хим. наук, профессор кафедры химии РГАУ-МСХА имени К.А. Тимирязева; 127434, Российская Федерация, г. Москва, Тимирязевский пр-д, 2/4

**Лайпанов Рустам Казиевич,** соискатель кафедры химии РГАУ-МСХА имени К.А. Тимирязева; 127434, Российская Федерация, г. Москва, Тимирязевский пр-д, 2/4

**Вершинкин Данила Александрович,** научный сотрудник УН ЦКП «Сервисная лаборатория комплексного анализа химических соединений»; 127434, Российская Федерация, г. Москва, Тимирязевский пр-д, 2/4

Nikolay M. Przhevalskiy, DSc (Chem), Professor of the Department of Chemistry, Russian State Agrarian University – Moscow Timiryazev Agricultural Academy (49, Timiryazevskaya Str., Moscow, 127434, Russian Federation; phone: (903) 681–48–23; E-mail: prjevalski@mail.ru)

Lada V. Anikina, CSc (Bio), Leading Research Associate, Laboratory of Natural Compounds, Institute of Physiologically Active Substances of the Federal Research Center for Problems of Chemical Physics and Medicinal Chemistry of the Russian Academy

of Sciences (1-iy Severniy Passage, Chernogolovka, Moscow region, 142432, Russian Federation; phone: (919) 712–01–70; E-mail: anikina1970@gmail.com)

Anastasiya A. Globa, Junior Research Associate, Laboratory of Natural Compounds, Institute of Physiologically Active Substances of the Federal Research Center for Problems of Chemical Physics and Medicinal Chemistry of the Russian Academy of Sciences (1-iy Severniy Passage, Chernogolovka, Moscow region, 142432, Russian Federation)

Gennadiy Petrovich Tokmakov, DSc (Chem), Professor of the Department of Chemistry, Russian State Agrarian University – Moscow Timiryazev Agricultural Academy (49, Timiryazevskaya Str., Moscow, 127434, Russian Federation)

**Rustam K. Laypanov**, external post-graduate student, Department of Chemistry, Russian State Agrarian University – Moscow Timiryazev Agricultural Academy (49, Timiryazevskaya Str., Moscow, 127434, Russian Federation)

**Danila A. Vershinkin,** Research Associate, Service Laboratory for Complex Analysis of Chemical Compounds, Russian State Agrarian University – Moscow Timiryazev Agricultural Academy (49, Timiryazevskaya Str., Moscow, 127434, Russian Federation)

УДК 631.11:631.17 DOI: 10.26897/0021-342X-2023-3-25-39

## РОЛЬ АГРОХИМИЧЕСКОГО ОБЕСПЕЧЕНИЯ В ПЕРЕХОДЕ К МОДЕЛИ УСТОЙЧИВОГО ЗЕМЛЕДЕЛИЯ

## С.В. МИТРОФАНОВ $^1$ , Н.В. ОРЛОВА $^1$ , И.Ю. БОГДАНЧИКОВ $^2$ , М.Е. ЧАПЛЫГИН $^3$ , А.А. ШЕВЧУК $^4$

 $(^{1}$ Высшая школа экономики  $^{2}$ Рязанский государственный агротехнологический университет имени П.А. Костычева  $^{3}$  Федеральный научный агроинженерный центр ВИМ  $^{4}$  Государственный университет по землеустройству)

Статья посвящена изучению роли агрохимического обеспечения в переходе к модели устойчивого земледелия, выявлению перспективных направлений научных исследований в рамках данной концепции. Установлено, что агрохимическое обеспечение играет важнейшую роль в обеспечении глобальной продовольственной безопасности. Применение агрохимикатов и пестицидов существенно влияет на повышение урожайности сельскохозяйственных культур, улучшение качества посевов и защиту растений от вредителей и болезней. Однако интенсификация сельского хозяйства в ряде случаев приводит к увеличению потерь продукции, а также антропогенному загрязнению окружающей среды и продуктов питания, что может привести к заболеваниям у людей включая рак, бесплодие, рождение мертворожденных детей и проблемы с нервной системой. Анализ научных исследований показал, что с целью формирования устойчивого земледелия необходимо уделить повышенное внимание разработке и освоению альтернативных методов ведения сельского хозяйства: методам, основанным на максимальном использовании биологических факторов; технологиям, обеспечивающим бездефицитный баланс гумуса; сортовым технологиям, позволяющим максимально реализовывать генетический потенциал сортов; геопространственным методам и оборудованию для прецизионного внесения средств химизации с целью обеспечения их эффективного использования; применению добавок к удобрениям (биостимуляторов, ингибиторов нитрификации, ингибиторов уреазы), повышающих их эффективность и снижающих негативное воздействие на окружающую среду; инновационным методам удобрения и защиты растений, обеспечивающим сохранение почв, окружающей среды, животных, а также здоровье и безопасность человека.

**Ключевые слова:** устойчивое земледелие, агрохимическое обеспечение, удобрения, пестициды.

#### Введение

Сельскохозяйственное производство, и особенно растениеводство, являются незаменимым продовольственным и ресурсно-сырьевым базисом цивилизации.

Рост населения на Земле является одной из наиболее серьезных глобальных проблем нашего времени. Количество людей на планете значительно увеличивается каждый год, что приводит к ухудшению экологической ситуации, нехватке ресурсов и к другим социально-экономическим проблемам. Согласно отчету ФАО население Земли в 2020 г. составляло 7,8 млрд чел., а к 2050 г. данный показатель может достигнуть 9,7 млрд чел. Это означает, что за 30 лет население Земли может увеличиться на 1,9 млрд что эквивалентно населению современной Индии.

Существующая тенденция роста населения Земли требует соответствующего количества продовольствия. Однако уже на сегодняшний день более 690 млн

людей в мире страдают от голода, а 3 млрд чел. испытывают проблемы с доступом к достаточному количеству пищи. Прогноз ООН от 11 июля 2022 г. указывает на увеличение спроса на продовольствие к середине столетия [1] более чем на 50%, а на продукты животного происхождения — почти на 70%. В то же время наблюдается сокращение посевной площади в расчете на одного человека. Кроме того, растениеводческая продукция все чаще используется в различных отраслях промышленности и в биоэнергетике, что обусловливает необходимость повышения объемов ее производства [2].

Одновременно с этим сельское хозяйство должно принять меры для снижения негативного влияния на окружающую среду — такие, как уменьшение деградации почв, ограничение выбросов парниковых газов и прекращение расширения сельско-хозяйственных угодий за счет уничтожения лесов. Однако по прогнозам, к 2050 г. площадь сельскохозяйственных угодий может увеличиться на 593 млн га, что превышает площадь Индии. Такое расширение может привести к дополнительным выбросам парниковых газов (11 Гт), которые превысят уровень, необходимый для удержания глобального потепления ниже 2°C.

Возникающие климатические изменения, по мнению экспертов, могут привести к снижению продуктивности сельскохозяйственных угодий на 10–20%. Поэтому необходимы дополнительные усилия и стратегии для устранения этих негативных последствий сельского хозяйства и уменьшения его воздействия на окружающую среду [3]. В связи с этим в настоящее время необходимо решить проблему обеспечения устойчивого развития сельского хозяйства, которое сможет удовлетворять потребности настоящих и будущих поколений в продуктах питания, при этом сохраняя баланс экологии, социальной справедливости и экономической эффективности.

**Цель исследований:** изучение роли агрохимического обеспечения в переходе к модели устойчивого земледелия, выявление перспективных направлений научных исследований в рамках данной концепции.

#### Материал и методы исследований

В исследованиях применялись монографический метод, а также методы анализа, систематизации, сравнения, обобщения. Поиск источников данных осуществлялся в научных электронных библиотеках и поисковых системах eLIBRARY.RU, Science Direct, Scopus, на портале ResearchGate. Также при проведении исследования использовались база данных FAOSTAT Продовольственной и сельскохозяйственной организации Объединенных Наций и данные International Fertilizer Association.

#### Результаты и их обсуждение

Сегодня устойчивое сельское хозяйство является одним из ключевых элементов устойчивого развития. Оно предполагает рациональное использование природных ресурсов, сохранение биоразнообразия, защиту почвы и водных ресурсов, использование экологически чистых методов производства, развитие сельского туризма и поддержку малых сельскохозяйственных предприятий. Одним из главных принципов устойчивого сельского хозяйства является принцип экологической целостности, который предполагает сохранение баланса между сельскохозяйственными системами и окружающей средой. Для этого необходимо использование интегрированных методов управления агроэкосистемами, которые позволяют учитывать взаимодействие всех компонентов сельскохозяйственной системы. Еще один принцип устойчивого сельского хозяйства — это принцип социальной справедливости,

который предполагает обеспечение равных возможностей для всего занятого в сельском хозяйстве населения независимо от социального статуса и положения.

Кроме того, устойчивое сельское хозяйство должно быть экономически эффективным и прибыльным. Для этого необходимы использование инновационных технологий, усовершенствование системы управления и маркетинга в сельском хозяйстве. В целом устойчивое сельское хозяйство является важным элементом устойчивого развития, которое позволяет обеспечивать продовольственную безопасность, экономическую стабильность и охрану окружающей среды. Сегодня мировое сообщество признает необходимость перехода к устойчивому сельскому хозяйству и работает над разработкой и внедрением соответствующих стратегий и программ.

Опираясь на данные концепции и принципы, на сегодняшний день активно проводят исследования в области изучения влияния дестабилизирующих факторов на устойчивость сельского хозяйства. Однако подавляющая часть из них не имеет системного характера либо носит оценочный характер. В имеющейся литературе чаще всего анализируется роль экономических и социальных факторов, что определено большей простотой в их оценке.

Оценка экологической устойчивости является более сложной задачей ввиду отсутствия научно обоснованных и апробированных стратегий развития экологизации сельского хозяйства. На сегодня выдвигаются три варианта: 1) снизить общую экологическую нагрузку от ведения сельского хозяйства независимо от производственных последствий; 2) обеспечить максимальное возможное получение продукции при сохранении объемов применения средств интенсификации (например, удобрений, пестицидов, энергии) и объемов выделяемых газов при сокращении масштабов производства; 3) принять консенсус, заключающийся в том, что неблагоприятные для окружающей среды ресурсы, используемые в сельскохозяйственном производстве, должны компенсироваться за счет агроэкологической деятельности, которая создает экологические общественные блага – так называемую экоэффективность [4].

Внимание заслуживает работа польских ученых А. Nowak, А. Krukowski, М. Rozanska-Boczula [5], в рамках которой проведена оценка уровня устойчивости сельского хозяйства в 28 государствах — членах Европейского союза. Оценки проводились на основе синтетической методики (TOPSIS). Этот метод синтезирует факторы различной природы и присваивает им синтетическую совокупную меру. Анализ позволил составить рейтинг государств — членов ЕС — в соответствии с различным уровнем мер и отнести их к одной из четырех групп, характеризующихся различными уровнями устойчивости в сельском хозяйстве. Дифференцированные значения синтетических показателей показали различия в уровне устойчивости сельского хозяйства между государствами, что обусловлено разным уровнем интенсивности производства и связанного с этим воздействия на окружающую среду.

Большинство исследований, посвященных вопросам изучения факторов, оказывающих влияние на устойчивость сельского хозяйства, обладает региональным компонентом, привязано к отдельным странам или регионам. Например, исследование Z. Ahmed и S. Ambinakudige [6] посвящено вопросам влияния на устойчивость сельского хозяйства юго-западного прибрежного района Бангладеша изменений в землепользовании, а также заболачивания и засоления почв, характерных для данного региона. В исследовании Rahman S. [7] рассматривается потенциал устойчивости сельского хозяйства в Бангладеше путем анализа экономических, экологических и социальных проблем на макроуровне. Экономические вопросы были рассмотрены путем оценки вклада сельскохозяйственного сектора в валовой внутренний продукт, тенденций в урожайности зерновых, занятости рабочей силы в сельском хозяйстве

и индекса внутренних цен на продовольствие, охватывающего 38-летний период (1980–2017 гг.).

Экологические проблемы были изучены путем ретроспективного анализа использования удобрений, пестицидов, орошения, интенсивности посевов и выбросов  ${\rm CO_2}$  в сельском хозяйстве. Социальный контекст устойчивости сельского хозяйства был проанализирован путем изучения таких атрибутов, как использование пахотных земель для урбанизации и других промышленных целей, недоступность пахотных земель, тенденции увеличения импорта продовольственного зерна и изменчивость производства продуктов питания.

Ученым Института сельскохозяйственной экономики Болгарии Храбрином Башевым проведено комплексное исследование [8], включающее в себя как аналитические исследования (оценку устойчивости АПК Болгарии и эффективности управления в сельском хозяйстве), так и практические рекомендации, содержащие механизмы повышения устойчивости сельского хозяйства страны.

В исследовании ученых S. Bulut и Z. Gökalp [9] установлено, что ключевым фактором, влияющим на устойчивость сельского хозяйства Турции, является эрозия почв. Около 86% турецких почв подвержены эрозии, количество почвы, теряемой в результате эрозии за год в Турции, оценено в 500 млн т. В качестве мер по предотвращению эрозии почв авторы рекомендуют почвозащитные системы обработки почв.

Результаты многочисленных международных исследований в подавляющем большинстве случаев не могут использоваться для трансформации АПК России ввиду существенного отличия систем ведения сельского хозяйства и производства продовольствия, что обусловлено природно-климатическими и почвенными условиями, ярко выраженной сезонностью, более сложной логистикой и другими факторами. Данная позиция подтверждается исследованиями ученого Вагенингенского университета А. Gerritsen [10], а также ученых Крымского федерального университета им. В.И. Вернадского Г.В. Ольховой и Э.Э. Шамилевой [11], посвященных роли регионального компонента в вопросах устойчивости сельского хозяйства.

Отечественные исследования в области устойчивого развития сельского хозяйства ориентированы прежде всего на экономическую составляющую понятия устойчивости. Однако очевидно, что переход к устойчивой модели сельского хозяйства невозможен без комплексного анализа основных дестабилизирующих факторов отрасли — в частности, вопросов экологии и технологичности отрасли.

Почвы — фундаментальная основа производства продукции растениеводства, обеспечивающая глобальную продовольственную безопасность. В связи с этим устойчивое управление почвами является стратегическим приоритетом для аграрного сектора. Однако во всем мире почвы обладают разным уровнем плодородия. В некоторых регионах мира почвы по своей природе являются неплодородными и практически непригодными для ведения сельского хозяйства; в других регионах низкое плодородие почв стало следствием их деградации. В обоих случаях урожайность культур ограничена дефицитом питательных веществ в почве. Это в полной мере касается и Российской Федерации. Дифференцированность природных условий в различных частях страны приводит к широкому многообразию почв на ее территории, которые сегодня насчитывают 76 видов почв и 25 видов почвенных комплексов.

Одной из основных проблем, связанных с использованием почвы для производства продовольствия и поддержания экосистемных услуг, является необходимость оптимального использования питательных элементов. Однако зачастую степень мобилизации этих веществ в почве не соответствует возрастающей потребности растений в них, особенно при увеличении урожайности. Для обеспечения роста

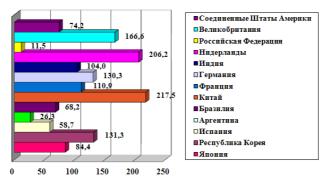
и развития сельскохозяйственных культур необходимо вернуть в почву необходимые питательные вещества. Поэтому производство продукции растениеводства требует использования удобрений.

Рост урожайности и валового производства продукции растениеводства и животноводства невозможен без интенсификации сельского хозяйства, использования средств химизации. Сохранение устойчивости почв возможно лишь при научно обоснованном применении минеральных и органических удобрений, а также при проведении мероприятий по мелиорации земель, снижению ветровой и водной эрозии, улучшению их водного режима. Это в свою очередь в долгосрочной перспективе позволит не нарушать природные экосистемы и прочие виды землепользования, используемые в настоящее время для обеспечения экосистемных услуг, и избежать перепрофилирования данных земель для использования в АПК.

Применение удобрений значительно повышает доступность питательных веществ для растений, тем самым улучшая экосистемные услуги почвы, которые прямо или косвенно обеспечивают около 95% мирового производства продовольствия. Рациональное применение питательных элементов способствует производству большей биомассы растений, увеличивает содержание органического вещества в почве [12].

С другой стороны, в отдельных странах (Китай, Нидерланды, Великобритания, Республика Корея и др.) интенсификация производства, чрезмерное внесение удобрений привели к загрязнению почвы, воздуха и воды, к серьезным нарушениям разнообразия биоценозов (рис. 1). Эти крайне контрастные сценарии дисбаланса питательных веществ способствуют снижению продовольственной безопасности, экологической и экономической устойчивости, социальной справедливости. Они усугубляют глобальное изменение климата, приводят к усилению выбросов парниковых газов.

Наряду с внесением удобрений устойчивость отрасли растениеводства во многом определяется негативным действием болезней и вредителей культур. Без надлежащих мероприятий по защите сельхозкультур потери урожая от вредных организмов составляют порядка 25%, в том числе от вредителей — 8%. В связи с этим в большинстве стран-производителей сельскохозяйственной продукции, например, в Российской Федерации, Германии, Аргентине, Индии и др., наблюдается тенденция увеличения объемов применения средств защиты растений (рис. 2), а в ряде стран (Япония, Нидерланды, Республика Корея, Бразилия и др.) применение пестицидов достигло такого уровня, что несет угрозу окружающей среде и здоровью населения.



**Рис. 1.** Внесение азотных удобрений на площадь пахотных земель в основных странах-производителях продукции растениеводства, кг д.в/га\*

<sup>\*</sup> Составлено авторами на основе данных FAOSTAT.

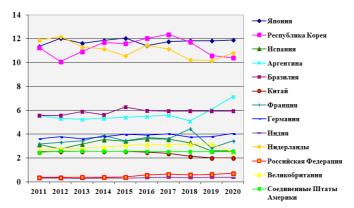


Рис. 2. Использование пестицидов на площадь пахотных земель, кг д.в/га\*\*

Ожидается, что дальнейший интенсивный характер ведения сельского хозяйства приведет к увеличению потерь продукции ввиду создания благоприятных условий для роста и развития сорной растительности, вредных организмов, а также снижения буферного действия биологических факторов борьбы с болезнями.

В Обзоре состояния и загрязнения окружающей среды в Российской Федерации за 2021 г., представленном Росгидрометом, приводятся результаты выборочного обследования почв 39 субъектов Российской Федерации. Общая обследованная площадь составляла 29,8 тыс. га, в том числе земли сельскохозяйственного назначения. Установлено, что на территории 5 субъектов Российской Федерации (с учетом ДДТ 10 субъектов) почва не соответствовала установленным гигиеническим нормативам, в частности: далапоном загрязнены 11,5% от обследованной площади 532 га (в 2020 г. -3,86% от площади 726 га, в 2019 г. -43,5% от площади 600 га); ПХБ -3% от обследованной площади 874 га (в 2020 г. -1,1% от площади 897 га, причем в последний раз загрязненные территории установлены в 2016 г. -4,6% от площади 578 га).

Расширенное использование средств химизации привело к общемировой проблеме антропогенного загрязнения окружающей среды и продуктов питания. Доля сельскохозяйственного производства в загрязнении окружающей среды весьма ощутима и, по мнению многих исследований, достигает 30%, водоемов и рек – 40%.

Остатки средств химизации включаются в экологические пищевые цепочки, попадая через воду и продукты в организмы животных, птиц, и на конечном этапе — в организм человека, что способствует росту заболеваемости людей. Данные Всемирной организации здравоохранения свидетельствуют о том, что экологические проблемы способствуют повышению риска возникновения у людей более 100 опасных заболеваний. В результате этих заболеваний ежегодно умирают около 12,6 млн чел. [13]. Остатки пестицидов и удобрений могут вызывать различные заболевания — такие, как рак, бесплодие, рождение мертворожденных детей и др. Важно отметить, что дети являются наиболее уязвимой группой населения по отношению к воздействию остатков пестицидов и удобрений. Ряд исследований показал, что дети, проживающие в районах с высоким содержанием пестицидов в почве, имеют более высокий риск развития лейкемии. Кроме того, остатки пестицидов и удобрений могут накапливаться в организме человека и вызывать хронические заболевания. Например, длительное воздействие пестицидов может привести к нарушению работы нервной системы и развитию болезни Паркинсона.

<sup>\*\*</sup> Составлено авторами на основе данных FAOSTAT.

Интенсивное использование средств химизации в сельскохозяйственных предприятиях Российской Федерации не всегда дает ожидаемый эффект. Так, в СССР в период 1980—1986 гг., несмотря на значительное наращивание количества используемой сельскохозяйственной техники, объемов внесения удобрений, пестицидов и проводимых мелиоративных работ, урожайность основных сельскохозяйственных культур увеличивалась крайне медленно, а по некоторым данным даже снижалась, что, как следствие, привело к необходимости импорта зерна и другой сельскохозяйственной продукции. Это обусловлено тем, что несмотря на сосредоточенность порядка 52% общемировых запасов черноземов, значительная часть территорий находится в зонах с дефицитом тепла либо острой нехватки атмосферных осадков, особенно в теплый период. Природный биоклиматический потенциал страны, особенно гидротермический, в 2,4—3,2 раза ниже, чем в США и странах Западной Европы [14].

Международный и отечественный передовой опыт, накопленный за последние десятилетия, показывает, что развитие отрасли растениеводства и повышения конкурентоспособности получаемой продукции как на внутреннем, так и на международном рынке, обусловлено внедрением в производство инновационных технологий, отвечающих концепции устойчивости, адаптированных к ландшафтно-климатическим условиям и технико-экономическим показателям определенного сельхозпредприятия [15].

Переход к устойчивому земледелию является одним из ключевых факторов в обеспечении продовольственной безопасности России. В Стратегии научно-технологического развития, утвержденной Указом Президента РФ от 1 декабря 2016 г. № 642, подчеркивается важность инновационного развития в сельском хозяйстве включая использование устойчивых, экологически чистых и энергоэффективных технологий. Федеральная научно-техническая программа развития сельского хозяйства на 2017-2025 гг., утвержденная постановлением Правительства Российской Федерации от 25 августа 2017 г. № 996, также подчеркивает необходимость перехода к устойчивому земледелию и развития биологизированных технологий в сельском хозяйстве. Кроме того, в России действуют программы субсидирования фермеров, внедряющих устойчивые и биологизированные технологии: например, программы по субсидированию затрат на приобретение и установку сельскохозяйственной техники включая технику, работающую на энергии альтернативных источников, - например, солнечной энергии. Также в ряде субъектов РФ сельхозтоваропроизводителям предоставляются субсидии на приобретение семян, удобрений, препаратов и других ресурсов, необходимых для органического земледелия.

Концепция устойчивого земледелия стала весьма важной темой исследований в области агрохимического обеспечения. Научные исследования в этой области направлены на создание новых методов и технологий, которые позволят сельскому хозяйству производить продукцию без нанесения вреда окружающей среде.

Одной из инновационных технологий, используемых в удобрении почв, является применение удобрений с медленным высвобождением. Удобрения с медленным высвобождением содержат питательные вещества, которые высвобождаются в почву постепенно в течение длительного периода. Это позволяет обеспечить растения необходимыми элементами питания на протяжении всего цикла роста и развития, а также на 30–50% уменьшить количество удобрений, которые необходимо использовать в течение сезона, что позволяет сократить расходы на удобрения и снизить негативное воздействие на окружающую среду [16]. Кроме того, удобрения с медленным высвобождением могут быть более эффективными в улучшении структуры почвы, что может увеличить ее водопроницаемость и уменьшить риск эрозии почвы.

Также активно проводятся исследования в области разработки и применения биологических удобрений, содержащих бактерии, грибы и вирусы. Одним

из наиболее популярных видов биологических удобрений являются микробиологические препараты. Они содержат микроорганизмы, которые положительно влияют на почву и стимулируют рост и развитие растений. Согласно ряду исследований применение микробиологических удобрений повышает урожайность на 15–30% в зависимости от культуры, увеличивает содержание органического вещества в почве на 20–30%. Кроме того, использование биологических удобрений позволяет уменьшить затраты на химические удобрения и пестициды на 30–50% [17–20].

Одним из перспективных направлений исследований является использование биоразлагаемых удобрений. Биоразлагаемые удобрения производятся из растительных и животных отходов, которые разлагаются в почве и улучшают ее структуру. Они представляют собой эффективную альтернативу химическим удобрениям и могут повысить урожайность без нанесения вреда окружающей среде. Биоразлагаемые удобрения содержат множество питательных веществ, которые могут улучшить качество почвы. Также они содержат микроорганизмы, которые могут помочь улучшить структуру почвы и увеличить ее плодородие. Исследования показывают, что использование биоразлагаемых удобрений может увеличить количество органического вещества в почве на 20-30%. Использование биоразлагаемых удобрений может привести к существенному улучшению состояния окружающей среды. Согласно отчету, опубликованному в журнале Environmental Science & Technology, использование данных удобрений может снизить выбросы паров аммония на 33%, выбросы оксида азота – на 72%, фосфора – на 78% по сравнению с использованием химических удобрений [21]. Согласно отчету, опубликованному в журнале Agriculture, Ecosystems & Environment, использование биоразлагаемых удобрений может снизить затраты на производство на 20-30% по сравнению с использованием химических удобрений [22].

Вызывают также интерес исследования в области использования наноудобрений. Наноудобрения представляют собой частицы, размер которых — меньше 100 нанометров. Они имеют большую поверхностную энергию и более быстро растворимы, что повышает эффективность их использования. Кроме того, они могут иметь специфические свойства — такие, как фотокатализ и магнитные свойства, которые могут быть использованы в сельском хозяйстве. Наночастицы удобрений могут проникать в клетки растений и обеспечивать для них необходимые питательные вещества в нужном количестве.

Исследования показывают, что наноудобрения могут повысить урожайность на 15–30% и снизить потребление удобрений на 20–30% [23]. Примером инновационных наноудобрений могут служить наночастицы серебра, которые можно использовать как антибактериальное средство для предотвращения заболеваний растений. Исследования показали, что использование наноудобрений серебра может снизить заболеваемость растений на 30% [24].

Кроме того, проводятся исследования, нацеленные на решение двух глобальных проблем: утилизацию отходов и поиск альтернативных источников удобрений для почв. В рамках данных исследований изучается использование компостов из растительных и других органических отходов в качестве удобрений. По результатам исследований, проведенных в США, установлено, что использование компоста из органических отходов увеличивает урожайность сельхозкультур на 20% по сравнению с использованием минеральных удобрений [25].

Производство компоста может быть дешевле, чем производство минеральных удобрений, так как он производится из бесплатных материалов. Однако несмотря на все преимущества, использование компоста и других органических удобрений не лишено недостатков. Один из главных недостатков заключается в том, что компосты могут содержать вредные бактерии и вирусы, которые могут нанести вред

растениям и здоровью человека. Но благодаря современным технологиям обработки, можно обеспечить безопасность компоста и других органических удобрений перед их использованием.

Одним из наиболее перспективных направлений в сельском хозяйстве является использование биомодифицированных удобрений. Согласно исследованиям, проведенным в последние годы, биомодифицированные удобрения могут увеличить урожайность на 25–30%, сократить затраты на удобрения до 50% и снизить негативное воздействие на окружающую среду. Кроме того, они могут улучшить качество почвы и увеличить устойчивость растений к болезням и вредителям [26–28].

Важным направлением исследований в области агрохимического обеспечения сельского хозяйства является также разработка новых методов защиты растений от вредителей и болезней. На сегодня эксперты сходятся во мнении о том, что для защиты сельхозкультур должна применяться система интегрированной защиты растений (Integrated Pest Management, IPM). Этот подход к защите растений комбинирует различные методы защиты растений, чтобы свести к минимуму воздействие вредителей на культуры. IPM использует все возможные методы защиты растений включая биологические, химические, культурные и механические методы, обеспечивая эффективную защиту растений при минимальном использовании химических пестицидов. Целью ІРМ является поддержание баланса между вредителями и их естественными врагами, а также минимизация ущерба от вредителей на культурах. Для реализации этой цели IPM использует мониторинг вредителей и определение порога вредоносности, то есть минимального уровня наличия вредителей, при котором они могут нанести ущерб культурам. Когда уровень наличия вредителей достигает порога вредоносности, IPM применяет методы контроля вредителей – такие, как биологические агенты, химические пестициды или механические методы, чтобы снизить ущерб от вредителей.

Интегрированная защита растений может быть эффективным способом их защиты и снижения затрат на нее, поскольку комплексно использует различные методы для защиты растений. Кроме того, она может уменьшить риск развития устойчивости вредителей к химическим пестицидам и негативное воздействие на окружающую среду и человеческое здоровье. Согласно исследованиям применение IPM в сельском хозяйстве может снизить затраты на защиту растений на 30–50% и увеличить урожайность на 20–30% [29]. Исследование, опубликованное в журнале Crop Protection в 2018 г., показало, что IPM может быть эффективным способом защиты растений от вредителей и болезней в хлопковых культурах [30].

Одним из ключевых элементов IPM является использование биологических препаратов. Они могут быть произведены из различных источников включая бактерии, грибы, вирусы и насекомые хищники. Наиболее часто для производства биопестицидов используются бактерии *Bacillus thuringiensis*, гриб *Trichoderma*, вирус *Baculovirus*.

К наиболее интересным видам защиты растений относится использование эндофитных бактерий. Они живут внутри растений и помогают им бороться с вредителями и болезнями. Исследования показывают, что использование эндофитных бактерий может уменьшить потребность в пестицидах на 50–90% в зависимости от культуры [31].

Проводятся также исследования по применению в качестве средств защиты растений растительных экстрактов. Некоторые исследования показывают, что использование растительных экстрактов и биологических препаратов на их основе может быть эффективной альтернативой химическим пестицидам. Например, исследование, проведенное в Китае, показало, что использование растительных экстрактов может снизить затраты на пестициды на 30–50% [32].

#### Выволы

Таким образом, с целью формирования устойчивого земледелия необходимо уделить повышенное внимание разработке и освоению альтернативных методов ведения сельского хозяйства: методам, основанным на максимальном использовании биологических факторов; технологиям, обеспечивающим бездефицитный баланс гумуса; сортовым технологиям, позволяющим максимально реализовывать генетический потенциал сортов; геопространственным методам и оборудованию для прецизионного внесения средств химизации с целью обеспечения их эффективного использования; применению добавок к удобрениям (биостимуляторов, ингибиторов нитрификации, ингибиторов уреазы), повышающих их эффективность и снижающих негативное воздействие на окружающую среду; инновационным методам удобрения и защиты растений, обеспечивающим сохранение почв, окружающей среды, животных, а также здоровье и безопасность человека.

#### Библиографический список

- 1. Население планеты скоро вырастет до 8 миллиардов и что тогда? URL: https://www.un.org/ru/184344.
- 2. Сычев В.Г., Шафран С.А., Виноградова С.Б. Плодородие почв России и пути его регулирования // Агрохимия. 2020. № 6. С. 3—13. DOI: 10.31857/S0002188120060125.
- 3. Ranganathan J., Waite R., Searchinger T., Hanson C. How to Sustainably Feed 10 Billion People by 2050. URL: https://www.wri.org/insights/how-sustainably-feed-10-billion-people-2050–21-charts.
- 4. *Czyżewski B., Matuszczak A., Muntean A.* Approaching environmental sustainability of agriculture: environmental burden, eco-efficiency or eco-effectiveness // Agricultural Economics. −2019. −№ 7. −Pp. 299–306. −URL: https://doi.org/10.17221/290/2018-AGRICECON.
- 5. Nowak A., Krukowski A., Rozanska-Boczula M. Assessment of Sustainability in Agriculture of the European Union Countries // Agronomy. 2019. № 9. DOI: 10.3390/agronomy9120890.
- 6. Ahmed Z., Ambinakudige S. Does land use change, waterlogging, and salinity impact on sustainability of agriculture and food security? Evidence from southwestern coastal region of Bangladesh // Environ Monit Assess. − 2023. − № 195. − URL: https://doi.org/10.1007/s10661-022-10673-w.
- 7. Rahman S. Bangladesh Agricultural Sustainability: Economic, Environmental and Social Issues // In book: Bangladesh: Economic, Political and Social Issues. Publisher: Nova Science Publishers, 2018. Pp. 1–25.
- 8. Bashev H. Agricultural Economics, Governance and Innovation in Bulgaria. Vol. 2. KSP Books. URL: https://www.researchgate.net/publication/356740174\_Agricultural Economics Governance and Innovation in Bulgaria Vol2.
- 9. Bulut S., Gökalp Z. Agriculture and environment interaction//Current Trends in Natural Sciences. −2022. –№ 11(21). –Pp. 372–380. –URL: https://doi.org/10.47068/ctns.2022. v11i21.041.
- 10. Gerritsen A. Territorial knowledge governance Pursuing sustainability in agriculture and food clusters // PhD thesis, Wageningen University, Wageningen, The Netherlands. 2019. 196 p. URL: https://doi.org/10.18174/499274.
- 11. Ольховая  $\Gamma$ .В., Шамилева Э.Э. Устойчивость сельского хозяйства как социо-эколого-экономической системы: региональный аспект // Экономика строительства и природопользования. -2021. № 3 (80). С. 64–77. DOI: 10.37279/2519–4453–2021–3–64–77.

- 12. ФАО, 2019. Международный кодекс поведения в области устойчивого использования удобрений и управления ими. Рим. URL: https://www.fao.org/3/ca-5253ru/CA5253RU.pdf.
- 13. Джувеликян Х.А., Черепухина И.В. Современные проблемы природного и техногенного загрязнения окружающей среды: Обзор // Живые и биокосные системы. -2017. -№ 22. URL: http://www.jbks.ru/archive/issue-22/article-8.
- 14. Гордеев А.В. и др. Биоклиматический потенциал России: теория и практика. М.: Т-во научных изданий КМК, 2006. 512 с.
- 15. Папаскири Т.В. Экономическое обоснование проектов землеустройства в системе адаптивно-ландшафтного земледелия на основе автоматизации // Актуальные проблемы природообустройства, кадастра и землепользования: Сборник материалов Международной научно-практической конференции, посвященной 95-летию факультета землеустройства и кадастров ВГАУ. 2016. С. 210–216.
- 16. Gupta S.K., Gupta P., Yadav A.D., Gangwar N. Slow-Release Fertilizer: A Review // Journal of Agricultural Science and Technology. 2019. Vol. 3, № 8. Pp. 647–658.
- 17. *Liu T. et al.* The use of biological fertilizers in improving crop yield and quality // Agriculture, Ecosystems & Environment. 2019. № 284. P. 106585. DOI: 10.1016/j.agee.2019.106585.
- 18. *Кузьмина Л.Ю.*, *Румянцева Н.А*. Микробиологические удобрения и их влияние на урожайность // Вестник ВГУ. Серия «Биология, экология». -2019. -№ 1. C. 45–50. DOI: 10.20914/2310-1202-2019-1-45-50.
- 19. *Liu Y. et al.* The role of endophytic bacteria in improving soil quality and crop productivity // European Journal of Soil Biology. 2018. № 84. Pp. 1–13. DOI: 10.1016/j.ejsobi.2017.11.005.
- 20. *Каменских М.В.*, *Ягодкин А.В.* Сравнительный анализ использования биологических и химических удобрений в сельском хозяйстве // Вестник научных конференций. -2018. -№ 2 (22). C. 77-81.
- 21. Khan S., Mulvaney R., Hicks L., Niboyet A. A simpler method for estimating the contribution of nitrogen from the atmosphere to agricultural soils // Environmental Science & Technology. 2010. 44 (21). Pp. 8191–8195. DOI: 10.1021/es1023255.
- 22. Zhang X. et al. The use of biodegradable fertilizers to improve crop yield and quality // Agriculture, Ecosystems & Environment. 2020. № 293. P. 106862. DOI: 10.1016/j.agee.2019.106862.
- 23. Wang P., Lombi E. Nanotechnology for sustainable agriculture: Recent advances and future prospects // Environmental Science: Nano. −2019. − № 6 (6). − Pp. 1735–1751. DOI: 10.1039/C9EN00343C.
- 24. Gogos A., Knauer K., Bucheli T.D., Dobrowolski R. Nanomaterials in plant protection and fertilization: Current state, foreseen applications, and research priorities // Journal of Agricultural and Food Chemistry. − 2012. − № 60 (39). − Pp. 9781–9792. DOI: 10.1021/jf300964w.
- 25. *Kumar A. et al.* Composting of organic waste: A review // Environmental Science and Pollution Research. 2017.  $N_{\odot}$  24 (19). Pp. 15235–15255. DOI: 10.1007/s11356–017–9026–9.
- 26. Митрофанов С.В., Орлова Н.В. Использование биомодификации удобрений с целью повышения устойчивости растениеводства // Агрохимический вестник. -2023. -№ 1. C. 23–30. DOI: 10.24412/1029-2551-2023-1-004.
- 27. Pandey R.K., Singh S.K., Kumar R., Kumar A. Biologically modified fertilizers: a review of innovative methods and technologies // Agriculture and Agricultural Science Procedia. 2017. № 11. Pp. 438–445. DOI: 10.1016/j.aaspro.2016.07.043.

- 28. Kumar A., Pandey R.K., Singh S.K. Biological Nitrogen Fixation for Sustainable Agriculture: A Perspective // Journal of Pure and Applied Microbiology. 2015. № 9 (1). Pp. 377–386. DOI: 10.22207/JPAM.9.SPL1.47.
- 29. *Hassanali A. et al.* Integrated pest management: the push-pull approach for controlling insect pests of cereals, and its potential for other agricultural systems including animal husbandry // Philosophical Transactions of the Royal Society. − 2008. − № 363. − Pp. 611–621. DOI: 10.1098/rstb.2007.2173.
- 30. Lu Y. et al. Effects of integrated pest management (IPM) on cotton pests and their natural enemies in China // Crop Protection. -2018. No 112. Pp. 11-18.
- 31. Köberl Martina et al. Exploring the plant-associated microbiome in oilseed rape associations between bacterial communities, nutrient availability and plant heal-th // Frontiers in plant science. 2018. DOI: 10.3389/fpls.2018.01189.
- 32. *Yang Bi-Jun et al.* Plant extracts reduce pesticide use and increase crop yield in China // Proceedings of the National Academy of Sciences. 2019. № 116 (44). Pp. 22068–22073. DOI: 10.1073/pnas.1909865116.

## IMPORTANCE OF AGROCHEMICAL SUPPORT IN THE TRANSITION TO A SUSTAINABLE FARMING MODEL

S.V. MITROFANOV<sup>1</sup>, N.V. ORLOVA<sup>1</sup>, I.YU. BOGDANCHIKOV<sup>2</sup>, M.E. CHAPLYGIN<sup>3</sup>, A.A. SHEVCHUK<sup>4</sup>

(<sup>1</sup>H igher School of Economics, <sup>2</sup>R yazan State Agrotechnological University named after P.A. Kostychev, <sup>3</sup>F ederal Scientific Agroengineering Center VIM, <sup>4</sup>S tate University of Land Use Planning)

This work is devoted to studying the role of agrochemical support in the transition to a sustainable farming model, identifying promising areas of research within the framework of this concept. It has been established that agrochemical support plays a crucial role in ensuring global food security. The use of agrochemicals and pesticides has a significant effect on increasing crop yields, improving crop quality and protecting plants from pests and diseases. However, the intensification of agriculture in some cases leads to increased production losses, as well as anthropogenic pollution of the environment and food, which can lead to human diseases, including cancer, infertility, stillbirth, and nervous system problems. The use of agrochemicals and pesticides has a significant impact on increasing crop yields, improving crop quality and protecting crops from pests and diseases. However, agricultural intensification in some cases leads to increased production losses, as well as anthropogenic pollution of the environment and food, which can lead to human diseases, including cancer, infertility, stillbirths and nervous system problems. The analysis of scientific research has shown that in order to create a sustainable agriculture, it is necessary to pay more attention to the development and adoption of alternative farming methods: methods based on the maximum use of biological factors; technologies that ensure a deficit-free humus balance; varietal technologies that allow for the maximum realisation of the genetic potential of varieties; geospatial methods and equipment for the precision application of chemicals to ensure their effectiveness; the use of fertiliser additives (biostimulants, nitrification inhibitors, urease inhibitors) that increase their efficiency and reduce theirthe negative impact on the environment; innovative methods of fertilisation and plant protection that ensure the preservation of soils, environment, animals, as well as the human health and safety.

Key words: sustainable agriculture, agrochemical supply, fertilizers, pesticides.

#### References

- 1. The Global Population Will Soon Reach Eight Billion What Then? URL: htt-ps://www.un.org/ru/184344 (In Rus.)
- 2. *Sychev V.G., Shafran S.A., Vinogradova S.B.* Soil Fertility in Russia and Ways of Its Regulation. Agrokhimia. 2020; 6: 3–13. DOI: 10.31857/S0002188120060125 (In Rus.)
- 3. Ranganathan J., Waite R., Searchinger T., Hanson C. How to Sustainably Feed Ten Billion People by 2050. URL: https://www.wri.org/insights/how-sustainably-feed-10-billion-people-2050–21-charts
- 4. *Czyżewski B., Matuszczak A., Muntean A.* Approaching environmental sustainability of agriculture: environmental burden, eco-efficiency or eco-effectiveness. Agricultural Economics. 2019; 7: 299–306. URL: https://doi.org/10.17221/290/2018-AGRICECON
- 5. Nowak A., Krukowski A., Rozanska-Boczula M. Assessment of Sustainability in Agriculture of the European Union Countries. Agronomy. 2019; 9. DOI: 10.3390/agronomy9120890
- 6. Ahmed Z., Ambinakudige S. Does land use change, waterlogging, and salinity impact on sustainability of agriculture and food security? Evidence from southwestern coastal region of Bangladesh. Environ Monit Assess. 2023; 195. URL: https://doi.org/10.1007/s10661-022-10673-w
- 7. Rahman S. Bangladesh Agricultural Sustainability: Economic, Environmental and Social Issues. Bangladesh: Economic, Political and Social Issues. Nova Science Publishers, 2018: 1–25.
- 8. Bashev H. Agricultural Economics, Governance and Innovation in Bulgaria. Vol. 2. KSP Books. URL: https://www.researchgate.net/publication/356740174\_Agricultural\_Economics\_Governance\_and\_Innovation\_in\_Bulgaria\_Vol2
- 9. Bulut S., Gökalp Z. Agriculture and environment interaction. Current Trends in Natural Sciences. 2022; 11(21): 372–380. URL: https://doi.org/10.47068/ctns.2022.v11i21.041
- 10. Gerritsen A. Territorial knowledge governance Pursuing sustainability in agriculture and food clusters. PhD thesis, Wageningen University, Wageningen, The Netherlands, 2019: 196. URL: https://doi.org/10.18174/499274
- 11. *Ol'khovaya G.V., Shamileva E.E.* Sustainability of Agriculture as a Socio-Ecological and Economic System: The Regional Aspect. Ekonomika stroitel'stva i prirodopol'zovaniya. 2021; 3 (80): 64–77. DOI: 10.37279/2519–4453–2021–3–64–77 (In Rus.)
- 12. FAO, 2019. International Code of Conduct for the Sustainable Use and Management of Fertilizers. Rome. URL: https://www.fao.org/3/ca5253ru/CA5253RU.pdf (In Rus.)
- 13. Dzhuvelikyan Kh.A., Cherepukhina I.V. Modern Problems of Natural and Man-Made Environmental Pollution (Review). Zhivye i biokosnye sistemy. 2017; 22. URL: http://www.jbks.ru/archive/issue-22/article-8 (In Rus.)
- 14. *Gordeev A.V. et al.* Bioclimatic Potential of Russia: Theory and Practice. M.: T-vo nauchnykh izdaniy KMK, 2006: 512. (In Rus.)
- 15. *Papaskiri T.V.* Economic Justification of Land Management Projects in the System of Adaptive Landscape Farming Based on Automation. Aktual'nye problemy prirodo-obustroystva, kadastra i zemlepol'zovaniya. Materialy mezhdunarodnoy nauchno-prakticheskoy konferentsii, posvyashchennoy 95-letiyu fakul'teta zemleustroystva i kadastrov VGAU. 2016: 210–216. EDN: XQUFWX (In Rus.)
- 16. Gupta S.K., Gupta P., Yadav A.D., Gangwar N. Slow-Release Fertilizer: A Review. Journal of Agricultural Science and Technology. 2019; 3; 8: 647–658.
- 17. Liu T. et al. The use of biological fertilizers in improving crop yield and quality. Agriculture, Ecosystems & Environment. 2019; 284; 106585. DOI: 10.1016/j.agee.2019.106585

- 18. *Kuzmina L. Yu., Rumyantseva N.A.* Microbiological Fertilizers and Their Effect on Yield. Vestnik VGU. Seriya: Biologiya, ekologiya. 2019; 1: 45–50. DOI: 10.20914/2310–1202–2019–1–45–50 (In Rus.)
- 19. *Liu Y. et al.* The role of endophytic bacteria in improving soil quality and crop productivity. European Journal of Soil Biology. 2018; 84: 1–13. DOI: 10.1016/j.ejsobi.2017.11.005
- 20. Kamenskikh M.V., Yagodkin A.V. Comparative Analysis of the Use of Biological and Chemical Fertilizers in Agriculture. Vestnik nauchnykh konferentsiy. 2018; 2(22): 77–81. (In Rus.)
- 21. Khan S., Mulvaney R., Hicks L., Niboyet A. A simpler method for estimating the contribution of nitrogen from the atmosphere to agricultural soils. Environmental Science & Technology. 2010; 44(21): 8191–8195. DOI: 10.1021/es1023255
- 22. Zhang X. et al. The use of biodegradable fertilizers to improve crop yield and quality. Agriculture, Ecosystems & Environment. 2020; 293; 106862. DOI: 10.1016/j.agee.2019.106862
- 23. Wang P., Lombi E. Nanotechnology for sustainable agriculture: Recent advances and future prospects. Environmental Science: Nano. 2019; № 6(6): 1735–1751. DOI: 10.1039/C9EN00343C
- 24. Gogos A., Knauer K., Bucheli T.D., Dobrowolski R. Nanomaterials in plant protection and fertilization: Current state, foreseen applications, and research priorities. Journal of Agricultural and Food Chemistry. 2012; 60(39): 9781–9792. DOI: 10.1021/jf300964w
- 25. *Kumar A. et al.* Composting of organic waste: A review. Environmental Science and Pollution Research. 2017; 24(19): 15235–15255. DOI: 10.1007/s11356–017–9026–9
- 26. *Mitrofanov S.V., Orlova N.V.* Use of Biomodification of Fertilizers in order to Increase Sustainability of Crop Production. Agrokhimicheskiy vestnik. 2023; 1: 23–30. DOI: 10.24412/1029–2551–2023–1–004 (In Rus.)
- 27. Pandey R.K., Singh S.K., Kumar R., Kumar A. Biologically modified fertilizers: a review of innovative methods and technologies. Agriculture and Agricultural Science Procedia. 2017; 11: 438–445. DOI: 10.1016/j.aaspro.2016.07.043
- 28. Kumar A., Pandey R.K., Singh S.K. Biological Nitrogen Fixation for Sustainable Agriculture: A Perspective. Journal of Pure and Applied Microbiology. 2015; 9 (1): 377–386. DOI: 10.22207/JPAM.9.SPL1.47
- 29. *Hassanali A. et al.* Integrated pest management: the push-pull approach for controlling insect pests of cereals, and its potential for other agricultural systems including animal husbandry. Philosophical Transactions of the Royal Society. 2008; 363: 611–621. DOI: 10.1098/rstb.2007.2173
- 30. Lu Y.et al. Effects of integrated pest management (IPM) on cotton pests and their natural enemies in China. Crop Protection. 2018; 112: 11–18.
- 31. Köberl, Martina, et al. Exploring the plant-associated microbiome in oilseed rape—associations between bacterial communities, nutrient availability, and plant health. Frontiers in plant science. 2018. DOI: 10.3389/fpls.2018.01189
- 32. *Yang Bi-Jun et al.* Plant extracts reduce pesticide use and increase crop yield in China. Proceedings of the National Academy of Sciences. 2019; 116(44): 22068–22073. DOI: 10.1073/pnas.1909865116

**Митрофанов Сергей Владимирович,** канд. с.-х. наук, научный сотрудник Института аграрных исследований Высшей школы экономики; 109028, Российская Федерация, г. Москва, Покровский бульвар, 11; e-mail: f-mitrofanoff2015@yandex.ru; тел.: (958) 657–47–01

**Орлова Надежда Владимировна,** заведующий отделом экономии инноваций в сельском хозяйстве Института аграрных исследований Высшей школы экономики; 109028, Российская Федерация, г. Москва, Покровский бульвар, 11; e-mail: nvorlova@hse.ru; тел.: (903) 147–99–29

**Богданчиков Илья Юрьевич,** канд. техн. наук, доцент Рязанского государственного агротехнологического университета им. П.А. Костычева; 390044, Российская Федерация, г. Рязань, ул. Костычева, 1; e-mail: smus62@yandex.ru; тел.: (910) 645–12–24

**Чаплыгин Михаил Евгеньевич,** канд. техн. наук, старший научный сотрудник Федерального научного агроинженерного центра ВИМ; 109428, Российская Федерация, г. Москва, 1-й Институтский пр-д, 5, стр. 1; e-mail: misha2728@yandex.ru; тел.: (918) 989–21–84

**Шевчук Артем Александрович,** старший преподаватель кафедры геодезии и геоинформатики Государственного университета по землеустройству; 105064, Российская Федерация, г. Москва, ул. Казакова, 15; e-mail: shevchukaa@guz.ru; тел.: (916) 856–19–96

**Sergey V. Mitrofanov,** CSc (Ag), Research Associate, the Institute of Agrarian Research of the Higher School of Economics (11, Pokrovskiy Ave., Moscow, 109028, Russian Federation; phone: (958) 657–47–01; E-mail: mitrofanoff2015@yandex.ru)

Nadezhda V. Orlova, Head of the Department of Innovation Economy in Agriculture, the Institute of Agrarian Research of the Higher School of Economics (11, Pokrovskiy Ave., Moscow, 109028, Russian Federation; phone: (903) 147–99–29; E-mail: nvorlova@hse.ru)

Il'ya Yu. Bogdanchikov, CSc (Eng), Associate Professor of the Ryazan State Agrotechnological University named after P.A. Kostychev (1, Kostycheva Str., Ryazan, 390044, Russian Federation; phone: (910) 645–12–24; E-mail: smus62@yandex.ru)

**Mikhail E. Chaplygin,** CSc (Eng), Senior Research Associate, the Federal Scientific Agroengineering Center VIM (5, b.1, 1-iy Institutskiy Passage, Moscow, 109428, Russian Federation; phone: (918) 989–21–84; E-mail: misha2728@yandex.ru)

**Artem A. Shevchuk,** Senior Lecturer, Department of Geodesy and Geoinformatics, the State University of Land Management (15, Kazakova Str., Moscow, 105064, Russian Federation; phone: (916) 856–19–96; E-mail: shevchukaa@guz.ru)

### БОТАНИКА, ПЛОДОВОДСТВО

Известия ТСХА, выпуск 3, 2023

УДК 634.312

DOI: 10.26897/0021-342X-2023-3-40-51

# ИЗУЧЕНИЕ ВЛИЯНИЯ СПОСОБА ЗАЩИТЫ МЕСТА ОКУЛИРОВКИ НА ПРИЖИВАЕМОСТЬ И РАЗВИТИЕ ПРИВОЯ СЛАДКОГО АПЕЛЬСИНА (CITRUS SINENSIS L.) И ЛАЙМКВАТА (FORTUNELLA JAPONICA $\times$ CITRUS AURANTIIFOLIA)

### А.К. РАДЖАБОВ, С. ХАНИФИ

(Российский государственный аграрный университет – МСХА имени К.А. Тимирязева)

Цитрусовые являются ведущими плодовыми культурами мира. Для обеспечения растущего спроса и увеличения площадей под ними требуется производить качественный посадочный материал. Основной способ производства саженцев культурных сортов цитрусовых – окулировка. При выполнении этого приема необходимо обеспечить надежную защиту места соединения компонентов. В имеющейся литературе информации по этому вопросу недостаточно. Исследование по теме «Изучение влияния способа защиты места окулировки на приживаемость и развитие привоя сладкого апельсина (Citrus sinensis L.) и лаймквата (Fortunella Japonica x Citrus Aurantiifolia)» было проведено в пригороде Джелалабад, Нангархар, Афганистан, на современном питомнике. В первом опыте (Citrus sinensis L.) в исследование были включены следующие варианты: 1. Обвязка окулировок полиэтиленовой пленко без закрывания почек привоя. 2. Обвязка окулировок полиэтиленовой пленкой с закрыванием почек привоя. 3. Обвязка окулировок полиэтиленовой пленкой без закрывания почек привоя + покраска обвязки белой краской. 4. Обвязка окулировок полиэтиленовой пленкой с закрыванием почек привоя + покраска обвязки белой краской. 5. Обвязка инновационной лентой Бадди с закрыванием почек привоя. 6. Обвязка клейкой лентой Бадди с закрыванием почек + покраска обвязки белой краской. Второй эксперимент включал в себя 3 варианта окулировки лаймквата (Citrus Aurantiifolia x Citrus Japonica): 1. Обвязка окулировок полиэтиленовой пленкой без закрывания почек привоя. 2. Обвязка окулировок полиэтиленовой пленкой с закрыванием почек привоя. З. Обвязка инновационной лентой Бадди с закрыванием почек привоя.

Результаты исследований показали, что обвязочные материалы, способ обвязки и применение покраски существенно повлияли на приживаемость окулировок, сроки распускания почек привоя, развитие побегов и листовой поверхности на привойном компоненте апельсина и лаймквата. В опыте с апельсином сладким наибольшая приживамость (прижилось 91,64% почек) была отмечена в варианте с обвязкой инновационной лентой Бадди с закрыванием почек привоя, а минимальная приживаемость почек привоя (77,52%) отмечена в варианте с обвязкой окулировок полиэтиленовой пленкой без закрывания почек привоя + покраска обвязки белой краской. Исследования показали, что материалы для обвязки и обвязки окулировок лаймквата значительно повлияли на время, необходимое для распускания почек привоя, количество листьев на побеге, длину побега и приживаемость почек привоя. Минимальное количество суток, прошедших с момента проведения окулировки до распускания почек привоя, было установлено в варианте с обвязкой инновационной лентой Бадди с закрыванием почек, в то время как максимальное количество суток, затраченных на распускание почек, отмечено в варианте с обвязкой окулировок полиэтиленовой пленкой

с закрыванием почек. Максимальный результат в приживаемости почек привоя был отмечен в варианте с обвязкой инновационной лентой Бадди с их закрыванием, в то время как минимальным успех в распускании почек был в варианте с обвязкой окулировок полиэтиленовой пленкой с их закрыванием.

**Ключевые слова:** цитрусовые, сладкий апельсин, лаймкват, окулировка, привой, обвязка окулировки, лента Бадди, приживаемость окулировок.

#### Введение

В научной литературе источники, посвященные проблеме применения различных обвязочных средств при прививке цитрусовых, встречаются в малом количестве.

Было изучено влияние различных видов обвязки на результаты прививки английской вишни сорта Морелло и сливы сорта Вангенхайм в различных климатических условиях [9]. Установлено, что обвязка пластиковой лентой обеспечивает высокую приживаемость (77%) вишни в регионе Видзев (Центральная Польша).

Изучение влияния различных обвязок при прививке, а именно: прививочная лента, малярная лента, изолента, клейкая лента и полиэтиленовые полоски на сорте яблони Голден Делишес — показало, что максимальная длина побега привоя (125 см) наблюдалась при применении полиэтиленовой ленты [12].

Наиболее экономичным методом изоляции места окулировки явилось обвязывание окулировок джекфрута полиэтиленовой лентой [5].

Сравнительное изучение обвязки стандартной обвязочной лентой, черным полиэтиленом, обычным полиэтиленом и светоотражающей лентой при прививке апельсина показало, что самая высокая приживаемость наблюдается при использовании для обвязки окулировок стандартной лентой [7].

Исследования проводились на сорте Agel-1, в качестве подвоя использовали сеянцы мандарина сорта Клеопатра.

При прививке винограда наилучшая приживаемость (более 90%) наблюдалась при обвязке полиэтиленовой лентой парафильмом М и использовании бумажных пакетов. Авторами [10] установлено, что у киви также максимальная приживаемость (95%) наблюдается при использовании полиэтиленовой ленты парафильм М.

При изучении влияния индолилмасляной кислоты и окраски материалов для обвязки на эффективность размножения личи сорта *Purbi* было установлено, что лучшие результаты по приживаемости и последующее развитие саженцев были получены при обработке индолилмасляной кислотой в концентрации 5500 мг/л [11].

У *Prosopis alba* максимальная приживаемость прививок (70,00%) была достигнута под туннельными укрытиями с использованием комбинации парафина и черной полиэтиленовой пленки для защиты места прививки и верхушки привоя [1].

При изучении влияния пластиковых и разлагаемых лент на эффективность окулировки и развитие привоя цитрусовых в питомнике почки привоя на подвое обвязывали с помощью одного из двух типов ленты: пластиковой полиэтиленовой прозрачной лентой или фоторазрушаемой лентой [8]. Установлено, что прирост побегов привоя был существенно длиннее, когда использовалась разлагающейся лента, чем при применении обычной пластиковой пленки. Установлено также, что мягкую эластичную пластиковую ленту можно эффективно использовать для обвязывания почек киви при окулировке — белый обвязочный материал существенно повысил процент приживаемости почек [14]. Обычные материалы — такие, как волокно каннабиса, пластиковая бечевка, хлопчатобумажная пряжа или бумажная лента, не подходили для обвязывания почек киви.

При изучении влияния различных сроков и прививочных материалов на результаты прививки сапоты (*Pouteria sapota*) в Ананде (Гуджарат) было установлено, что при прививке, проведенной в июле с обвязкой разлагаемой лентой, наблюдается максимальный прирост длины привоя (16,20 см), тогда как максимальная приживаемость привоя (76,67%) была зафиксирована при обвязывании полиэтиленовой лентой [13].

В результате изучения влияния различных сроков прививки и обвязочных материалов на успешность прививки сахарной яблони ( $Annona\ squamosa\ L$ .) на подвой местной селекции в Ананде было установлено, что при прививке в начале апреля и применении разлагаемой ленты требуется значительно меньшее количество суток для начала распускания почек привоя [6]. В этом же варианте отмечены максимальный прирост побега привоя и наибольшее количество полностью развившихся листьев на побеге привоя.

При применении для обвязки прививок хвойных пород разлагающейся ленты требуется меньшее количество суток для прорастания почек привоя и появления листьев. В этом же варианте отмечены максимальная длина побега привоя, максимальная масса побегов. Исследователями [3] было установлено, что наибольший прирост побегов привоя отмечается у *Kinnow mandarin* при клиновидной и боковой прививках, у Jaffa sweet orange – при прививке с язычком, а у сладкого апельсина – при боковой прививке [4]. Наибольшая длина прироста привоя была отмечена у мандарина сорта *Kinnow*.

В целом результаты показали, что боковая прививка является наиболее эффективным методом для всех оцениваемых сортов в провинции Пенджаб, Пакистан.

Таким образом, поиску путей эффективной защиты места прививки или окулировки плодовых растений в мировой литературе уделяется большое внимание, однако на цитрусовых таких исследований проводилось недостаточно, что определило цель наших исследований.

**Цель исследований:** установление оптимального способа защиты места окулировки цитрусовых растений в условиях Афганистана.

В задачи исследований входило изучение влияния способа защиты места окулировки на распускание почек привоя, приживаемость прививок, длину прироста побегов привоя, количество листьев на них, количество развившихся побегов.

# Материал и методы исследований

Исследования проводили на современном питомнике «*Citrus*», район Бехсуд № 9, г. Джелалабад, Нангархар, р. Афганистан. Район Бехсуд расположен на окраине города Джелалабад. Исследования проводили в 2021–2022 гг.

Климат в районе проведения опыта типично субтропический, характеризующийся довольно теплой и относительно влажной зимой, жарким и сухим летом. Климат в районе проведения исследований — пустынный, и это один из самых жарких районов в Афганистане. Здесь выпадает от 152 до 203 мм осадков в год, в основном в зимние и весенние месяцы. Сезон дождей начинается в январе и заканчивается к марту, февраль — месяц наиболее обильных осадков. Координаты питомника: 34.310 северной широты и 68.040 восточной долготы. Высота над уровнем моря — 547 м.

Для достижения поставленной цели было заложено два опыта.

**Опыт № 1.** Изучение влияния способа обвязки места окулировки на приживаемость и развитие привоя сладкого апельсина (*Citrus sinensis L.*)

Опыт заложен методом рандомизированных повторений (RCBD). Количество вариантов -6. Количество повторностей -21.

#### Схема опыта:

- 1. Обвязка полиэтиленовой пленкой без закрывания почек (контроль).
- 2. Обвязка полиэтиленовой пленкой с закрыванием почек пленкой.
- 3. Обвязка полиэтиленовой пленкой без закрывания почек с белой окраской.
- 4. Обвязка полиэтиленовой пленкой с закрыванием почек пленкой с белой окраской.
  - 5. Обвязка инновационной лентой Бадди с закрыванием почек.
  - 6. Обвязка лентой Бадди с закрыванием почек с белой окраской.

Для данных исследований были окулированы 126 растений сладкого апельсина (Citrus sinensis), над которыми проводили наблюдения.

Бадди – это инновационная лента для защиты места окулировки и прививки черенком, разработанная с уникальным составом и свойствами, обеспечивающими простую и быструю обвязку, снижение трудозатрат и высокие показатели успе-

ха при прививке. Лента естественным образом разлагается под воздействием солнечного света, что устраняет трудозатраты, необходимые для стандартных удаления лент после приживания окулировки, и обеспечивает экологичность. Ленту Бадди можно растянуть в 8 раз по сравнению с исходной длиной. Такая эластичность материала позволяет экономно использовать пленку для обвязки и обеспечивает весьма плотное соединение щитка или черенка с подвойным компонентом, что необходимо для успешного срастания. Высокая эластичность ленты Бадди позволяет избегать перетяжек, которые являются общей проблемой, когда для окулировки и прививки используются стандартные ленты. Пленка содержит воск, что обеспечивает ее водонепроницаемость, поэтому почка или привойный черенок не будут терять влагу. Однако воздух может проникать через проницаемую ленту,



Рис. 1. Обвязка пленкой без закрывания почки



с закрыванием почки пленкой



Рис. 3. Обвязка пленкой без закрывания почки, с белой окраской



Рис. 4. Обвязка с закрыванием почки пленкой, с белой окраской



**Рис. 5.** Обвязка Бадди с закрыванием почки



Рис. 6. Обвязка Бадди с закрыванием почки, с белой окраской





Рис. 8. Прижившиеся и прорастающие глазки

что обеспечивает беспрепятственное дыхание тканей почки. Содержание воска также означает, что использование ленты Бадди может устранить необходимость в парафинировании. Лента Бадди легко разрывается прорастающей почкой привоя, когда она начинает расти. В связи тем, что проницаемая природа материала не нарушает аэрацию почки, ее можно закрыть полностью. Это обеспечивает защиту от потер влаги, инфекций и насекомых, поэтому каллус образуется легче для заживления ран и срастания компонентов.

Опыт № 2. Изучение влияния способа обвязки места окулировки на приживаемость и развитие привоя лаймквата (Fortunella Japonica × Citrus Aurantiifolia).

# Варианты:

1. Обвязка полиэтиленовой пленкой без закрывания почек (контроль)

- 2. Обвязка с закрыванием почек полиэтиленовой пленкой.
- 3. Обвязка лентой Бадди с закрыванием почек.

Согласно общепринятым методам были определены и статистически проанализированы данные наблюдений за количеством суток до распускания почек привоя, приживаемостью окулировок, количеством листьев на привое, длиной привоя, количеством побегов.

Обработка данных была проведена с использованием программы IPM при помощи стандартных статистических процедур, описанных Пансе и Сукхатме [15].

# Результаты и их обсуждение

Полученные данные показали, что на результат окулировки определенное влияние оказал способ защиты места окулировки (табл. 1).

# Влияние материала обвязки и покраски на развитие почек привоя сладкого апельсина (*Citrus sinensis* L)

Nº п/п	Вариант	Длительность от даты окулировки до распускания почек привоя, сут.		
1	Обвязка пленкой без закрывания почки 1 (К)	11.7		
2	Обвязка с закрыванием почки пленкой	14.0		
3	Обвязка пленкой без закрывания почки, с белой окраской	12.3		
4	Обвязка с закрыванием почки пленкой, с белой окраской	14.0		
5	Обвязка лентой Бадди с закрыванием почки	11.0		
6	Обвязка лентой Бадди с закрыванием почки, с белой окраской	11.8		
	HCP 05	0.5		

Установлено, что на количество суток от даты прививки до распускания почек привоя оказали влияние материалы для обвязки и покраска. Окулировкам, обвязанным инновационной лентой Бадди, потребовалось минимальное количество суток для распускания почек привоя. Максимальное количество суток, затраченных на образование первых побегов из почек привоя, потребовалось в варианте с обвязкой полиэтиленовой пленкой и в варианте с обвязкой пленкой и белой окраской (табл. 1). Положительное влияние в этом варианте по сравнению с контролем, на наш взгляд обусловлено созданием под изоляционным слоем из инновационной ленты благоприятных условий для быстрого формирования каллусной ткани и образованием общей для подвоя и привоя проводящей системы сосудов. Прежде всего это сохранение свежести в месте соединения компонентов при одновременном благоприятном влиянии условий аэрации.

Исследования показали, что различные материалы для обвязки оказали определенное влияние на количество листьев на побеге привоя (табл. 2).

Максимальное количество листьев на побеге привоя (10,8) было зафиксировано при применении инновационной лентой Бадди с закрыванием почки, в то время как минимальное количество листьев на побеге привоя (8,4) отмечено в варианте с применением обвязки пленкой с закрыванием почки с белой окраской. Положительное влияние на формирование большей ассимиляционной поверхности наблюдается в вариантах с применением инновационной ленты и закрыванием почки. На наш взгляд, это обусловлено в данных вариантах лучшим снабжением питания почек привоя, что стимулирует развитие ассимиляционной поверхности привойных побегов.

Важным результатом успешности прививок или окулировок является длина побега привоя в конце вегетации. Материалы, примененные для защиты места окулировки, оказали определенное влияние на длину побега привоя (табл. 3). Наиболее развитые побеги привоя отмечены в варианте с обвязкой инновационной лентой Бадди с закрыванием почки привоя – длина побега привоя в конце вегетации составила 13 см. К такому результату привел ряд особенностей, присущих этому материалу для обвязки: быстрое образование спайки и сращивания компонентов, усиление развития ассимиляционной поверхности. Худший результат среди всех вариантов был получен по приросту побега в варианте при обвязке полиэтиленовой пленкой с окрашиванием места окулировки белой краской.

Nº ⊓/⊓	Вариант	Количество листьев на побеге привоя, шт.	
1	Обвязка пленкой без закрывания почки 1 (К)	10.1	
2	Обвязка с закрыванием почки пленкой	10.1	
3	Обвязка пленкой без закрывания почки, с белой окраской	8.7	
4	Обвязка с закрыванием почки пленкой, с белой окраской	8.4	
5	Обвязка лентой Бадди с закрыванием почки	10.8	
6	Обвязка лентой Бадди с закрыванием почки, с белой окраской	10.8	
	HCP 05	0,6	

Таблица 3 Влияние способа защиты места окулировки на длину побега, см, привоя апельсина сладкого (*Citrus sinensis* L)

<b>№</b> п/п	Вариант	Длина побега привоя, см	
1	Обвязка пленкой без закрывания почки 1 (К)	11.7	
2	Обвязка с закрыванием почки пленкой	12.6	
3	Обвязка пленкой без закрывания почки, с белой окраской	9.7	
4	Обвязка с закрыванием почки пленкой, с белой окраской	12.6	
5	Обвязка лентой Бадди с закрыванием почки	13.0	
6	Обвязка лентой Бадди с закрыванием почки, с белой окраской	12.7	
	HCP 05	1,2	

Способ защиты места окулировки не оказал существенного влияния на количество побегов на саженцах апельсина сладкого в конце вегетации (табл. 4).

Важнейшим результатом прививки или окулировки цитрусовых культур является приживаемость — процент прививок, которые образовали побеги привоя. От данного показателя зависят и выход посадочного материала, и экономические результаты выполнения этого приема в питомнике.

Способ защиты места окулировки оказал существенное влияние на приживаемость окулировок на апельсине сладком. Самый высокий показатель в распускании почек (91,9%) отмечен при применении ленты Бадди с закрыванием почек, а минимальный показатель (76,7%) был зафиксирован в варианте с обвязкой пленкой без закрывания почек и с белой окраской (табл. 5).

Nº ⊓/⊓	Вариант	Количество побегов привоя, шт.
1	Обвязка пленкой без закрывания почки 1 (К)	4.0
2	Обвязка с закрыванием почки пленкой	4.0
3	Обвязка пленкой без закрывания почки, с белой окраской	3.0
4	Обвязка с закрыванием почки пленкой, с белой окраской	3.0
5	Обвязка лентой Бадди с закрыванием почки	4.3
6	Обвязка лентой Бадди с закрыванием почки, с белой окраской	3.5
	HCP 05	н/с

Таблица 5 Влияние способа защиты места окулировки на приживаемость окулировок, %, апельсина сладкого (*Citrus sinensis* L)

Nº ⊓/⊓	Вариант	Приживаемость окулировок, %
1	Обвязка пленкой без закрывания почки 1 (К)	90.2
2	Обвязка с закрыванием почки пленкой	84.6
3	Обвязка пленкой без закрывания почки, с белой окраской	77.5
4	Обвязка с закрыванем почки пленкой, с белой окраской	76,7
5	Обвязка лентой Бадди с закрыванием почки	91.9
6	Обвязка лентой Бадди с закрыванием почки, с белой окраской	91.2
	HCP 05	1.0

Таким образом, в опыте 1 среди всех изучаемых вариантов защиты места окулировки наиболее высокие результаты показали варианты с использованием инновационной ленты Бадди.

**Опыт № 2.** Изучение влияния способа защиты места окулировки на приживаемость и развитие привоя лаймквата (*Fortunella Japonica* x *Citrus Aurantiifolia*).

Результаты исследований, представленные в таблице 6, показали, что количество суток, затраченных на распускание почек привоя, зависело от способа защиты места окулировки китайского лимона. Минимальное количество суток, затраченных на распускание почек (11,7), было установлено при обвязывании окулировок лентой Бадди с закрыванием почки, в то время как максимальное количество суток, затраченных на распускание почек привоя (13,3), отмечено при использовании полиэтиленовой пленки с закрыванием почек.

# Влияние материала обвязки и покраски на количество суток до развития первых почек привоя и количество листьев на побеге лаймквата (Fortunella Japonica × Citrus Aurantiifolia)

Nº ⊓/⊓	Вариант	Сут. до раскрытия почек привоя	Число листьев на побеге, шт.	Длина побега, см	Приживаемость окулировок, %
1	Обвязка пленкой без закрывания почки (K)	13.0	8.2	9.5	66.3
2	Обвязка с закрыванием почки пленкой	13.3	7.3	8.5	55.6
3	Обвязка лентой Бадди с закрыванием почки	11.7	8.7	10.0	75.7
	HCP 05	0.94	0.35	0.39	2.8

Способ обвязки и вид обвязочного материала оказали определенное влияние на количество листьев на побеге привоя и его длину лаймквата. Максимальные количество листьев на побеге привоя (8,7) и длина побега привоя (10,0 см) наблюдались при защите места окулировки инновационной лентой Бадди. Минимальное количество листьев на побеге привоя (7,3) было зарегистрировано при обвязке пленкой, а минимальная длина побега привоя (8,5 см) отмечена на при обвязке пленкой с закрыванием почки.

Самый высокий процент приживаемости окулировки был отмечен в варианте с обвязкой лентой Бадди с закрыванием почки (75,74%). Вариант с обвязкой с закрыванием почки пленкой показал худший результат. Полученный положительный результат обусловлен теми эффектами, которые отмечены ранее. Так, применение ленты с инновационными свойствами позволяет создавать под защитной обвязкой более благоприятный микроклимат для развития процессов каллусообразования, образования спайки и срастания компонентов прививки. Происходит не только ускорение процессов регенерации в обоих компонентах (подвое и привое), но и более качественное их прохождение. Результатом является более высокий процент приживаемости прививок.

#### Выводы

Исследования показали, что способ защиты места окулировки апельсина сладкого и лаймквата повлиял на основные показатели окулировки. Установлено, что минимальное количество суток до распускания почек привоя, максимальные длина побега привоя и количество листьев на нем, а также приживаемость окулировки были получены при применении в качестве обвязочного материала инновационной ленты Бадди с закрыванием почки привоя.

На основании результатов, полученных в ходе исследований, можно сделать вывод о том, что окулировка с применением для обвязки инновационной ленты Бадди с закрыванием почки привоя обеспечивает наилучшие результаты и рекомендуется для внедрения в производство в питомниках по производству посадочного материала цитрусовых культур.

## Библиографический список

- 1. Ewens M. and Felker P. The potential of mini-grafting for largescale production of Prosopis alba clones African // J. of Arid Environments. -2003. N = 55 (2). -Pp. 379-387.
- 2. Salih F.D.A., Said A.G.E. Effect of type of wrapping material and incubation conditions on success of bud grafting in grapefruit (Citrus paradisi Macf.) // Journal of Science and Technology, Agricultural and Veterinary Sciences. − 2012. − № 13. − Pp. 53–61.
- 3. Hussain Z., Khadija F., Aziz A., Khan M.N., Salik M.R. and Anwar R. Evaluation of different grafting methods to citrus cultivars // Citrus Research & Technology. 2017. № 38 (2). Pp. 1–5.
- 4. Husain S., Patel M., Nagar S.K. and Patel A. Influence of different propagation methods and wrapping materials on bud and graft success in Jamun (Syzygium cumini skeels) under shade net condition // The Bioscan an International Quaterty Journal of Life Sciences. 2017. Pp. 1129–1731.
- 5. Kelaskar A.J., Desai A.G., Salvi M.J. Effect of rootstock, leaf retention, shade and tying material on patch bud grafts of jackfruit // Indian Journal of Plant Physiology. 1991. N = 34(1). Pp. 58-62.
- 6. Khopade R. and Jadav R.G. Effect of different grafting dates and wrapping materials on success of softwood grafting in custard apple (Annona squamosa L.) ev. local selection // International Journal of Processing and Post-Harvest Technology. -2013. N = 4 (1). Pp. 45–48.
- 7. Olaniyan A.A. Scion development in citrus as influenced by different budding tape materials // Technical Bulletin National Horticultural Research Institute, Ibadan. 1991. N 18. P. 5.
- 8. Oliveira R.P., Scivittaro W.B., Vargas J.R. Plastic and degradable tape on citrus budding // Revista Brasileira de Fruticultura. − 2004. − № 26 (3). − Pp. 564–566.
- 9. Poniedzialek W. and Kokotek B. Preliminary results of investigations on the effect of different ties on bud take of English Morello sour cherry and Wangenheim prune under different climatic conditions // Zeszyty Naukowe Akademii Rolniczej im Hugona Kollatajaw Krakowie, Ogrodnictwo. − 1985. − № 195. − Pp. 49–57.
- 10. Peruzzo E.L., Bo M.A.D. and Dal B.M.A. Propagation of grapevines and kiwifruits by fork grafting in the field // Agropecuaria Catarinense.  $-1992. N_{\odot} 5$  (2). -Pp. 45-47.
- 11. *Ray R.N.*, *Dwivedi A.K.*, *Rao P.S.*, *Jain B.P.* Effect of indole butyric acid and coloured wrapping material on propagation of litchi cv. Purbi // Haryana J. Horti. Sci. −2001. − № 30 (3/4). − Pp. 170–172.
- 12. Singha S. Effectiveness of readily available adhesive tapes as grafting wraps // Hort Science.  $-1990. N \cdot 25 (5). P. 579.$
- 13. *Wazarkar S.S.* Effect of grafting dates and grafting materials on softwood grafting in Sapota [Manilkara acharas (Mill Fosberg)] under middle Gujrat agroclimatic conditions // Thesis submitted to AAU, Anand. 2009. Pp. 45–48.
- 14. Zenginbal H., Çelik H. and Özcan M. The effect of tying and wrapping materials and their color on budding success in kiwifruit // Turkish journal of agriculture and forestry. -2006. No 30 (2). Pp. 119–124.
- 15. Panse V.G. et al. Statistical methods for agricultural workers // Statistical methods for agricultural workers. 1961. P. 328.

# STUDYING THE EFFECT OF THE METHOD OF BUDDING PROTECTION ON THE SURVIVAL AND DEVELOPMENT OF SCIONS OF SWEET ORANGE (CITRUS SINENSIS L.) AND LIMEQUAT (FORTUNELLA JAPONICA × CITRUS AURANTIIFOLIA)

### A.K. RADZHABOV, S. HANIFI

(Russian State Agrarian University – Moscow Timiryazev Agricultural Academy)

Citrus fruits are the world's leading fruit crops. To meet the growing demand and increase the area under these crops, it is necessary to produce high quality planting material. The main method of producing seedlings of cultivated citrus varieties is budding. When using this technique, it is necessary to ensure reliable protection of the joint of the components. There is a lack of information on this issue in the literature. The present study was conducted in the suburb of Jalalabad, Nangarhar, Afghanistan, at a modern nursery. The first experiment (Citrus sinensis L.) included the following variants: 1. binding the scions with polyethylene tape without covering the buds; 2. binding the scions with polyethylene tape without covering the buds + painting the binding with white paint; 4. binding the scions with polyethylene tape covering the buds + painting the binding with white paint; 5. binding the scions with the innovative adhesive tape "Buddy Tape" covering the buds; 6. binding the scions with the innovative adhesive tape "Buddy Tape" without covering the buds + painting the binding with white paint. The second experiment involved three options for limequat (Citrus Aurantiifolia x Citrus Japonica): 1. binding the scions with polyethylene tape without covering the buds; 2. binding the scions with polyethylene tape covering the buds; 3. binding the scions with the innovative adhesive tape "Buddy Tape" covering the buds.

The study results showed that the binding materials, the method of binding and the use of painting had a significant impact on the survival of scions, the budding time of the scions, the development of shoots and leaf surface on the scion component. In the experiment with sweet orange, the maximum survival rate (91.64%) was observed when binding the scions with the innovative adhesive tape "Buddy Tape" covering the buds, and the minimum rate (77.52%) was noted when binding the scions with polyethylene tape without covering the buds + painting the binding with white paint.

The studies showed that the binding materials of the limequat scions had a significant effect on the budding time, the number of leaves on the shoot, the length of the shoot and the survival rate of the scion buds. The minimum budding time was found when binding the scions with the innovative adhesive tape "Buddy Tape" covering the buds, while the maximum budding time was noted when binding the scions with polyethylene tape covering the buds. The maximum survival rate was observed when binding the scions with the innovative adhesive tape "Buddy Tape" covering the buds, and the minimum one was when binding the scions with polyethylene tape covering the buds.

**Key words:** Citrus fruits, sweet orange, limequat, scion budding, scion, scion binding, adhesive tape "Buddy Tape", survival of scions.

#### References

- 1. Ewens M., Felker P. The potential of mini-grafting for largescale production of Prosopis alba clones. African J. of Arid Environments. 2003; 55 (2): 379–387.
- 2. Salih F.D.A., Said A.G.E. Effect of type of wrapping material and incubation conditions on success of bud grafting in grapefruit (Citrus paradisi Macf.). Journal of Science and Technology, Agricultural and Veterinary Sciences. 2012; 13: 53–61.
- 3. Hussain Z., Khadija F., Aziz A., Khan M.N., Salik M.R., Anwar R. Evaluation of different grafting methods to citrus cultivars. Citrus Research & Technology. 2017; 38(2): 1–5.
- 4. Husain S., Patel M., Nagar S.K., Patel A. Influence of different propagation methods and wrapping materials on bud and graft success in Jamun (Syzygium cumini

skeels) under shade net condition. The Bioscan an International Quaterty Journal of Life Sciences. 2017: 1129–1731.

- 5. Kelaskar A.J., Desai A.G., Salvi M.J. Effect of rootstock, leaf retention, shade and tying material on patch bud grafts of jackfruit. Indian Journal of Plant Physiology. 1991; 34 (1): 58–62.
- 6. *Khopade R., Jadav R.G.* Effect of different grafting dates and wrapping materials on success of softwood grafting in custard apple (Annona squamosa L.) cv. local selection. International Journal of Processing and Post-Harvest Technology. 2013; 4(1): 45–48.
- 7. Olaniyan A.A. Scion development in citrus as influenced by different budding tape materials. Technical Bulletin National Horticultural Research Institute, Ibadan. 1991; 18: 5.
- 8. De Oliveira R.P., Scivittaro W.B., Vargas J.R. Plastic and degradable tape on citrus budding. Revista Brasileira de Fruticultura. 2004; 26 (3): 564–566.
- 9. Poniedzialek W., Kokotek B. Preliminary results of investigations on the effect of different ties on bud take of English Morello sour cherry and Wangenheim prune under different climatic conditions. Zeszyty Naukowe Akademii Rolniczej im Hugona Kollatajaw Krakowie, Ogrodnictwo. 1985; 195: 49–57.
- 10. *Peruzzo E.L., Bo M.A.D., Dal B.M.A.* Propagation of grapevines and kiwifruits by fork grafting in the field. Agropecuaria Catarinense. 1992; 5 (2): 45–47.
- 11. Ray R.N., Dwivedi A.K., Rao P.S., Jain B.P. Effect of indole butyric acid and coloured wrapping material on propagation of litchi ev. Purbi. Haryana J. Horti. Sci. 2001; 30 (3/4): 170–172.
- 12. Singha S. Effectiveness of readily available adhesive tapes as grafting wraps. Hort Science. 1990; 25 (5): 579.
- 13. Wazarkar S.S. Effect of grafting dates and grafting materials on softwood grafting in Sapota [Manilkara acharas (Mill Fosberg)] under middle Gujrat agroclimatic conditions, Thesis submitted to AAU, Anand. 2009: 45–48.
- 14. Zenginbal H., Çelik H., Özcan M. The effect of tying and wrapping materials and their color on budding success in kiwifruit. Turkish journal of agriculture and forestry. 2006; 30(2): 119–124.
- 15. *Panse V.G. et al.* Statistical methods for agricultural workers. Statistical methods for agricultural workers. 1961: 328.

**Раджабов Агамагомед Курбанович,** директор Института садоводства и ландшафтной архитектуры, д-р с.-х. наук, профессор, Российский государственный аграрный университет — MCXA имени К.А. Тимирязева; 127434, Российская Федерация, г. Москва, ул. Тимирязевская, 49; e-mail: plod@timacad.ru

Спингар Ханифи (Республика Афганистан), магистрант кафедры плодоводства, виноградарства и виноделия, Российский государственный аграрный университет — МСХА имени К.А. Тимирязева; 127434, Российская Федерация, г. Москва, ул. Тимирязевская, 49; e-mail: hanifi.spinghar@gmail.com

**Agamagomed K. Radzhabov,** DSc (Ag), Professor, Head of the Institute of Horticulture and Landscape Architecture, Russian State Agrarian University – Moscow Timiryazev Agricultural Academy (49, Timiryazevskaya Str., Moscow, 127434, Russian Federation; E-mail: plod@timacad.ru)

**Spingar Hanifi,** master's degree student (Republic of Afghanistan), Department of Fruit Growing, Viticulture and Winemaking, Russian State Agrarian University – Moscow Timiryazev Agricultural Academy (49, Timiryazevskaya Str., Moscow, 127434, Russian Federation; E-mail: hanifi.spinghar@gmail.com)

УДК 631.523 DOI: 10.26897/0021-342X-2023-3-52-61

# ДОНОРЫ И ИСТОЧНИКИ ФИЛЛОКСЕРОУСТОЙЧИВОСТИ ТЕХНИЧЕСКИХ СОРТОВ ВИНОГРАДА АНАПСКОЙ АМПЕЛОГРАФИЧЕСКОЙ КОЛЛЕКЦИИ ДЛЯ СЕЛЕКЦИОННОЙ РАБОТЫ

### И.В. ГОРБУНОВ, А.Г. КОВАЛЕНКО

(Анапская зональная опытная станция виноградарства и виноделия – филиал ФГБНУ Северо-Кавказского федерального научного центра садоводства, виноградарства, виноделия)

Ампелографическая коллекция Анапской зональной опытной станции виноградарства и виноделия (АЗОСВиВ) представляет собой научно-исследовательскую площадку для селекционной работы, состоящую из большого количества сортов различного эколого-географического происхождения. На сегодняшний день генофонд винограда коллекции, который ежегодно пополняется, составляет 4964 сортобразца. Эти сорта и гибридные формы включаются в селекционный процесс с целью создания новых высококачественных сортов винограда столового и технического направлений использования. Для успешной селекционной работы на ампелографической коллекции АЗОСВиВ проводится сортоизучение с целью поиска новых доноров и источников селекционно-ценных признаков, а также устойчивости к биотическим и абиотическим факторам среды. В статье представлены основные результаты многолетней работы ученых-селекиионеров опытной станции по изучению и выделению доноров и источников филлоксероустойчивости – главного вредителя винограда. Объектами исследований послужили сорта-доноры винограда селекции АЗОСВиВ, толерантные к филлоксере, а также сорта-источники филлоксероустойчивости из различных географических зон. В данной научно-исследовательской работе наряду с традиционными методиками селекции использовались и современные программы и методы. В статье представлены 2 донора и 6 источников филлоксероустойчивости, дана их краткая характеристика, показана динамика основных агроибологических и биохимических показателей за 2019-2021 гг. За последние 3 года селекционерами Анапской опытной станции получено более 700 сеянцев винограда нового гибридного поколения, четвертая часть из которых имеет в родителях доноры и источники исследуемых в данной работе сортов.

**Ключевые слова:** виноград, технический, сорт-донор, сорт-источник, филлоксероустойчивость, ампелоколлекция, селекция.

#### Введение

Использование привитой культуры винограда вызвано повсеместным распространением вредоносного вредителя — филлоксеры — в Черноморской зоне Краснодарского края. Общепризнанное утверждение о наиболее надежном способе защиты от филлоксеры среди сортов V. vinifera (привитая культура) [1–3] имеет несколько минусов. Это, в частности, бактериальный рак и вирусы, которые губительно влияют на привитые виноградные растения [4], несоответствие подвоя привою, высокие затраты труда и денег.

Выращивание сортов винограда в корнесобственной культуре с соблюдением агротехники позволяет длительно возделывать виноградники в зонах заражения этим опасным вредителем [5–7]. В связи с этим существует проблема нехватки сортов, устойчивых к филлоксере, наряду с необходимостью высокого качества конечной продукции в производственной сфере винограда [8, 9]. Успехом селекции в данном направлении является наличие доноров селекционно-ценных признаков

и их рациональное использование селекционером [10, 11]. Поэтому в данном случае важно включать в селекционный процесс сорта-доноры и сорта-источники толерантности к филлоксере.

Объекты исследований – сорта-доноры винограда селекции АЗОСВиВ, толерантные к филлоксере, и сорта-источники филлоксероустойчивости, интродуцированные из различных географических зон и экологических условий произрастания. Данные сорта состоят в генофонде ампелоколлекции АЗОСВиВ [12].

**Цель исследований:** изучение и выделение сортов-доноров филлоксероустойчивости винограда на ампелографической коллекции АЗОСВиВ для дальнейшей селекционной работы.

## Материал и методы исследований

В работе использовались селекционные программы и методики, в том числе разработанные с участием сотрудников центра [13–15]. Массовые концентрации сахаров в сусле определялись согласно ГОСТ 27198–87, титруемой кислотности по ГОСТ 32114–2013. Для статистической обработки полученных опытных данных применялся дисперсионный анализ в программе Microsoft Office Excel 2003 по Методике полевого опыта [16].

Формировка виноградных растений исследуемых сортов — «Спиральный кордон A3OC-1»; площадь питания —  $7 \text{ m}^2$ , расстояние в ряду между растениями — 2 м, а в междурядьях — 3.5 м. Методика выращивания — по ГОСТ 31783-2012. Выращиваются данные сорта в корнесобственной культуре на южных слабовыщелоченных, слабогумусных мощных черноземах с тяжелосуглинистым гранулометрическим составом, сформированным на лессовидных тяжелых суглинках [17].

# Результаты и их обсуждение

Селекционерами АЗОСВиВ выведено 2 технических сорта винограда с толерантностью к филлоксере: Филлоксероустойчивый Джемете и Филлоксероустойчивый Анапа. Они имеют гены устойчивости к гниению корней в местах проколов этим сосущим вредителем филлоксерой мягких тканей корней винограда. Отсюда возникает устойчивость к данному вредителю. При этом из данных сортов получается высококачественная конечная продукция — десертное и сухое вино. Филлоксероустойчивый Джемете и Филлоксероустойчивый Анапа пригодны для выращивания в корнесобственной культуре и имеют ценные хозяйственные признаки, поэтому ежегодно используются в гибридизации для получения новых, устойчивых к филлоксере сортов.

 $\Phi$ иллоксероустойчивый Джемете — среднепоздний сорт винограда технического направления использования со средним размером среднеплотной конической грозди, массой 185—220 г. Ягоды округлые, средние, темно-синие, с простым, но гармоничным вкусом (рис. 1).

Растения данного сорта выращиваются корнесобственно. При этом они имеют хорошие хозяйственные признаки: высокую и стабильную урожайность, толерантность к филлоксере, высокое сахаронакопление. Это позволяет использовать его как исходный материал для селекционной работы, то есть как сорта-донора.

 $\Phi$ иллоксероустойчивый Анапа — средний по сроку созревания сорт винограда технического направления со средним размером среднеплотной, слегка крылатой цилиндро-конической грозди, массой 200—250 г. Ягоды округлые, средние, темно-синие, с простым, но гармоничным, слегка терпковатым вкусом (рис. 2).

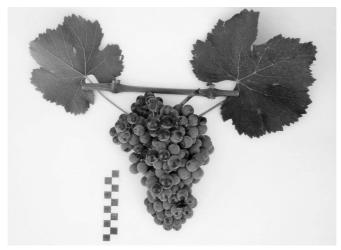


Рис. 1. Грозди и листья Филлоксероустойчивого Джемете



Рис. 2. Сорт винограда Филлоксероустойчивый Анапа

Сорт является также пригодным для выращивания в корнесобственной культуре, так как обладает повышенной устойчивостью к корневой форме филлоксеры. Он является донором филлоксероустойчивости и может использоваться в гибридизации для передачи этого важного селекционного и хозяйственно-полезного признака новому потомству.

В результате гибридологического анализа экспериментального материала по качественным признакам расщепляющихся популяций селекционного генофонда установлена закономерность наследования качественных признаков. Это филлоксероустойчивость, высокое накопление сахара и умеренная кислотность сока ягод у гибридных комбинаций: Филлоксероустойчивый Джемете с сортом Саперави, Филлоксероустойчивый Джемете с Каберне Совиньоном, Филлоксероустойчивый Джемете с Красностопом анапским.

Для увеличения рентабельности возделывания винограда путем повышения основных показателей урожайности, и в итоге для внедрения сорта в производство, проводится изучение и выделение как сортов-доноров, так и сортов-источников по филлоксероустойчивости [18]. Эти сорта изучаются и выделяются на ампелографической коллекции АЗОСВиВ: Амур, Бианка, Грушевский белый, Дойна, Достойный, Августа и ряд других (рис. 3).

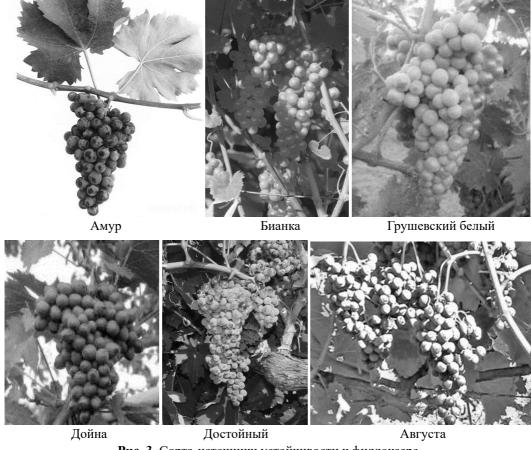


Рис. 3. Сорта-источники устойчивости к филлоксере

Амур ((Нимранг х Память Мичурина) х Датье де Сен-Валье) — позднего срока созревания сорт, технического направления использования. В родителях имеет сорт из так называемых Сейв-Вилларов. Сорт имеет средние конические гроздья, средние округлые темно-синие ягоды — сочные, простого гармоничного вкуса. Кусты обладают высокой силой роста. Урожайность составляет 160—176 ц/га. Морозоустойчивость высокая. Сорт устойчив к милдью и филлоксере; используется для приготовления сухих высококачественных вин.

Бианка (Виллар блан х Шасла бувье) — раннего срока созревания сорт, технического направления использования со среднерослыми кустами, небольшими цилиндрическими среднеплотными гроздями (масса —  $110~\rm r$ ), с мелкими, почти округлыми желто-зелеными ягодами гармоничного вкуса и с сочной мякотью. Сорт обладает в период полного созревания сахаристостью до  $27.0~\rm r/100~\rm cm^3$  и кислотностью  $7.0~\rm r/100~\rm дm^3$ , обладает филлоксероустойчивостью. Также сорт устойчив к милдью, оидиуму, гнилям и морозу до  $-27^{\circ}\rm C$ , является пригодным для изготовления сухих и десертных вин.

Грушевский белый (Саперави северный х Варуссе) — сорт технический, среднепозднего срока созревания, со средней силой роста куста. Грозди средние (160 г), цилиндро-конические плотные. Данный сорт имеет среднего размера ягоды: округлые, белые, покрытые толстым слоем пруина, с сочной мякотью, простым нейтральным вкусом. Побеги вызревают в полной мере. Грушевский белый обладает высокой урожайностью (до 180~ц/гa), высокой зимостойкостью (до  $-26^{\circ}\text{C}$ ), устойчив к милдью, толерантен к филлоксере; пригоден для приготовления белого сухого вина.

Дойна (Молдавский х (Сеянец № 35 + Варуссе)) — позднего срока созревания сорт, технического направления использования. Обладает высокой урожайностью — до 175 ц/га. Сорт морозоустойчив и комплексно устойчив к основным болезням и вредителям винограда, в том числе к корневой форме филлоксеры.

Достойный (Ф/У Джемете х Мускат гамбургский) — позднего срока созревания сорт, технического направления использования с сильнорослыми кустами, средними (280 г) цилиндро-коническими гроздями средней плотности. Ягода округлая, средняя сине-черная, с сочной мякотью простого гармоничного вкуса, кожица плотная. Сорт обладает высокой и стабильной урожайностью — в среднем 140 ц/га. Сахаристость сусла составляет 22,0 г/100 см³, кислотность — 6,5 г/дм³. Сорт Достойный комплексно устойчив к основным болезням и вредителям винограда, в том числе к корневой форме филлоксеры; характеризуется высоким качеством сухих вин.

Августа (СВ 12–309 и Казачка) — среднего срока созревания сорт винограда, технического направления использования, с сильнорослыми кустами, мелкими (110 г) коническими среднеплотными или рыхлыми гроздями. Ягода мелкая, округлая, темно-синяя, с гармоничным слабомускатным вкусом. Сорт является высокоурожйным (110 ц/га), зимостоек, толерантен к филлоксере; характеризуется высоким качеством вина.

Описанные выше сорта – доноры и источники толерантности к филлоксере – каждый год исследуются по агробиологическим и биохимическим показателям [19] (табл. 1, 2).

Таблица 1 Основные агробиологические показатели исследуемых сортов винограда в динамике (2019–2021 гг.)

Сорт	Масса грозди, г		Коэффициент плодоношения, К1			Средний урожай с куста, кг			
·	2019	2020	2021	2019	2020	2021	2019	2020	2021
			Сорта	а-доноры					
Ф/У Джемете	248,0	250,0	250,0	1,4	1,6	1,4	15,6	16,9	7,7
Ф/У Анапа	259,0	260,0	260,0	1,0	0,7	0,9	8,0	7,3	10,9
Сорта-источники									
Амур	180,0	180,0	180,0	1,0	1,3	1,2	6,0	8,5	7,5
Бианка	119,0	120,0	120,0	1,1	1,5	1,7	6,4	6,4	6,0
Грушевский белый	279,0	280,0	280,0	1,3	1,2	1,2	13,1	10,3	10,0
Дойна	350,0	350,0	350,0	1,4	1,4	1,6	12,5	5,6	20,7
Достойный	256,0	260,0	260,	0,9	1,0	1,3	10,5	12,0	16,4
Августа	230,0	230,0	230,0	0,9	1,0	1,3	5,6	2,5	11,9
HCP <sub>05</sub>	12,5	11,2	10,6	0,2	0,3	0,4	2,5	8,2	11,2

Поврежие серте	Содержа	ние сахаров,	г/100 см³	Титруемая кислотность, г/дм³					
Название сорта	2019	2020	2021	2019	2020	2021			
	Сорта-доноры								
Ф/У Джемете	19,8	20,5	20,0	5,9	5,9	5,8			
Ф/У Анапа	20,5	20,0	20,6	5,4 5,5		5,5			
	Сорта-источники								
Амур	21,5	23,0	22,6	7,8	8,0	8,5			
Бианка	24,8	23,0	24,5	6,1	6,4	6,0			
Грушевский белый	21,3	21,4	21,0	8,0	8,2	8,0			
Дойна	17,5	17,4	17,2	5,5	5,8	5,8			
Достойный	19,8	20,0	19,8	7,7	7,5	7,7			
Августа	17,2	17,5	17,2	7,0	7,0	7,0			
HCP <sub>05</sub>	0,3	0,2	0,3	0,2	0,3	0,3			

В результате изучения сортов-доноров винограда в течение трех лет установлено, что наибольшим коэффициентом плодоношения и урожаем с куста обладает сорт Филлоксероустойчивый Джемете. Из сортов-источников по коэффициенту плодоношения отличаются сорта Бианка и Дойна, а по урожаю с куста — Достойный, Дойна и Грушевский белый.

Из данных таблицы 2 следует, что наибольшим сахаронакоплением и умеренной кислотностью в сусле за последние 3 года обладают сорта Амур, Бианка и Грушевский белый. Достаточные кондиции набирают сорта Достойный, Филлоксероустойчивый Джемете и Филлоксероустойчивый Анапа, что является важным при производстве сухих вин.

В результате многолетней работы выделены и изучены по агробиологическим и биохимическим показателям источники филлоксероустойчивости на сортах винограда ампелоколлекции АЗОСВиВ. По этим же показателям изучаются и сорта-доноры толерантности к филлоксере селекции АЗОСВиВ: Филлоксероустойчивый Джемете и Филлоксероустойчивый Анапа. Эти сорта используются в гибридизации для создания новых сортов винограда. За последние 3 года селекционерами Анапской опытной станции получено более 700 сеянцев винограда нового гибридного поколения, 1/4 из которых имеет в родителях доноры и источники исследуемых в данной работе сортов.

Среди исследуемых сортов-источников хозяйственно-полезных признаков имеют место стабильные агробиологические и технологические показатели. Данная тенденция доказывается ежегодно соответствующими исследованиями, результаты которых представлены в таблицах 1, 2. Большинство из сортов обладает ежегодными стабильно высокими показателями сахаронакопления.

#### Выводы

В результате многолетней научно-исследовательской работы выделены 2 донора и 6 источников филлоксероустойчивости винограда. Эти сорта ежегодно имеют стабильно высокие агробиологические и биохимические показатели: сахаронакопления, урожайности, плодоносности и др.

По результатам исследований наибольшим коэффициентом плодоношения и высокой урожайностью обладает сорт Филлоксероустойчивый Джемете. Из сортов-источников по коэффициенту плодоношения отличаются сорта Бианка и Дойна, а по урожайности с куста — Достойный, Дойна и Грушевский белый.

Наибольшее сахаронакопление и умеренную кислотность в сусле имеют сорта Амур, Бианка и Грушевский белый. Достаточные кондиции для получения высоко-качественных сухих вин — у сортов Достойный, Филлоксероустойчивый Джемете и Филлоксероустойчивый Анапа.

# Библиографический список

- 1. Saniya, Kanwar J., Naruka I.S., Singh P.P. Genetic variability and association among colour and white seedless genotypes of grape (Vitis vinifera) // Indian journal of agricultural sciences. 2018. T. 88, V. 5. Pp. 737–745.
- 2. Da Oliveira L.D.S., De Moura M.S.B., De Leão P.C.S., Da Silva T.G.F., Souza, L.S.B. Características agronômicas e sensibilidade ao rachamento de bagas de uvas semsementes // J. Environ. Anal. Prog. − 2017. − № 2 (3). − Pp. 274–282. − URL: https://journals.ufrpe.br/index.php/JEAP/article/view/1451.
- 3. Royo C., Torres-Perez R., Mauri N. et al. The Major Origin of Seedless Grapes is Associated with a Missense Mutation in the MADS-Box Gene VviAGL11 // Plant physiology. –2018. –T. 177, V. 3. –Pp. 1234–1253. URL: https://elibrary.ru/item.asp?id=36212693
- 4. *Nedov P.N.* The role of immunoselection of grapes in the fight against phylloxera // Theory and practice of preserving the root culture of grapes in the phylloxera distribution zone. Novocherkassk, 1982. Pp. 25–33.
- 5. Cabezas J.A., Cervera M.T., Ruiz-Garcia L., Carreno J., Martinez-Zapater J.M. Agenetic analysis of seed and berry weight in grapevine // Genome. 2006. № 49 (12). Pp. 1572–1585.
- 6. *Maul E.* Die rebengenetischen Ressoursen in Deutschland // Geilweilergof aktuell: Mitt. Des Inst. Fur Rebenzuchtung. Siebeldingen, 2006. Jg. 34, H. 2. Pp. 9–14.
- 7. Khiari R., Zemni H., Mihoubi D. Raisin processing: physicochemical, nutritional and microbiological quality characteristics as affected by drying process // Food Reviews International. 2018. T. 35, V. 3. Pp. 246–298. URL: https://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1080/87559129.2018.1517264?journalCode=lfri20.
- 8. Olivati C., Paula de Nishiyama, Teodoro de Souza et al. Effect of the pre-treatment and the drying process on the phenolic composition of raisins produced with a seedless Brazilian grape cultivar // Food Research International. 2019. T. 116. Pp. 190–199. URL: https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0963996918306185?via%3Dihub.
- 9. *Alleweldt G.*, *Dettweiler E.* The genetic resources of Vitis // Siebeldingen. FRG, 1994. 74 s.
- 10. Perl A. et al. Breeding of new seedless table grapes in Israel conventional and biotechnological approach // Acta Hortic.  $-2003. N_{\odot} 603. Pp. 185-187.$
- 11. Gerdemann-Knorck M., Sacristan M.D., Breeding C. Utilization of assymmetric somatic hybidization for the transfer of disease resistance from Brassica nigra to Brassica napus // Pestic. Outlook. -1993. -N 4. Pp. 22–25.

- 12. Егоров Е.А. u др. Анапская ампелографическая коллекция (биологические растительные ресурсы): Монография / Отв. ред. В.С. Петров. Краснодар: ФГБНУ СКФНЦСВВ, 2018. 194 с.
- 13. Егоров Е.А., Еремин Г.В., Супрун И.И. и др. Современные методологические аспекты организации селекционного процесса в садоводстве и виноградарстве: М. Краснодар, 2012. 569 с. URL: https://elibrary.ru/item.asp?id=18921733.
- 14. *Егоров Е.А. и др.* Современные методология, инструментарий оценки и отбора селекционного материала садовых культур и винограда: Монография. Краснодар: ФГБНУ СКФНЦСВВ, 2017. 282 с. URL: https://elibrary.ru/item.asp?id=30550541.
- 15. Рязанова Л.Г., Проворченко А.В., Горбунов И.В. Основы статистического анализа результатов исследования в садоводстве: М. Краснодар: КубГАУ, 2013. 61 с.
- 16. Доспехов Б.А. Методика полевого опыта: М. М.: Агропромиздат, 1985. 351 с.
- 17. Дорошенко Н.П., Кравченко Л.В. Современная технология производства базисного посадочного материала. Питомниководство винограда: М. Краснодар: СКЗНИИСиВ, 2004. C.51-59.
- 18. *Горбунов И.В.* Перспективные источники селекционно-ценных признаков среди сортов винограда Анапской ампелографической коллекции // Вестник Ульяновской государственной сельскохозяйственной академии. − 2022. − № 2 (58). − С. 67–74. − URL: https://elibrary.ru/item.asp?id=49161579.
- 19. *Горбунов И.В.* Динамика урожайности и сахаронакопления технических сортов винограда селекции Анапской зональной опытной станции виноградарства и виноделия // Плодоводство и виноградарство Юга России. − 2020. − № 66 (6). − С. 71–82. − URL: https://elibrary.ru/item.asp?id=44264049.

# DONORS AND SOURCES OF PHYLLOXERA RESISTANCE OF WINE GRAPE VARIETIES OF THE ANAPA AMPELOGRAPHIC COLLECTION FOR BREEDING WORK

#### I.V. GORBUNOV, A.G. KOVALENKO

(Anapa Zonal Experimental Station of Viticulture and Winemaking, branch of the North Caucasus Federal Scientific Center of Horticulture, Viticulture, Winemaking)

The ampelographic collection of the Anapa Zonal Experimental Station of Viticulture and Winemaking is a research platform for breeding work. It consists of a large number of varieties of different ecological and geographical origin. At present, the gene pool of varieties in the collection consists of 4964 varieties, and it is replenished every year. These varieties and hybrids are used in the breeding process to create new, high-quality varieties of table and wine grapes. For successful breeding work in the ampelographic collection of the Anapa Zonal Experimental Station of Viticulture and Winemaking, variety studies are conducted to find new donors and sources of breeding-valuable traits, as well as resistance to biotic and abiotic environmental factors. This article presents the main results of the long-term work carried out by scientists-breeders at the Experimental Station to study and identify donors and sources of resistance to phylloxera, the main pest of grapes. The objects of research were the donor grape varieties of the selection of the Anapa Zonal Experimental Station of Viticulture and Winemaking, tolerant to phylloxera, as well as the source varieties of phylloxera resistance from various geographical zones. Modern programmes and methods were used in this research, in addition to traditional breeding techniques. The article presents two donors and six sources of phylloxera resistance, gives their brief characterisation, shows the dynamics of the main agrobiological and biochemical indicators

for 2019–2021. Over the past three years, the breeders of the Anapa experimental Station have received more than 700 grapevine seedlings of a new hybrid generation, the fourth part of which are parental donors and sources of the varieties studied in this work.

**Key words:** grapes, wine grapes, donor variety, source variety, phylloxera resistance, ampelocollection, breeding.

#### References

- 1. Saniya, Kanwar J., Naruka I.S., Singh P.P. Genetic variability and association among colour and white seedless genotypes of grape (Vitis vinifera). Indian journal of agricultural sciences. 2018; 88; 5: 737–745.
- 2. Da Oliveira L.D.S., De Moura M.S.B., De Leão P.C.S., Da Silva T.G.F., Souza, L.S.B. Características agronômicas e sensibilidade ao rachamento de bagas de uvas semsementes. J. Environ. Anal. Prog. 2017; 2 (3): 274 282. (In Port.) URL: https://journals.ufrpe.br/index.php/JEAP/article/view/1451
- 3. Royo C., Torres-Perez R., Mauri N. et al. The Major Origin of Seedless Grapes is Associated with a Missense Mutation in the MADS-Box Gene VviAGL11. Plant physiology. 2018; 177; 3: 1234–1253. URL: https://elibrary.ru/item.asp?id=36212693
- 4. *Nedov P.N.* The role of immunoselection of grapes in the fight against phylloxera. Theory and practice of preserving the root culture of grapes in the phylloxera distribution zone. Novocherkassk, 1982: 25–33.
- 5. Cabezas J.A., Cervera M.T., Ruiz-Garcia L., Carreno J., Martinez-Zapater J.M. Agenetic analysis of seed and berry weight in grapevine. Genome. 2006; 49 (12): 1572–1585.
- 6. *Maul E.* Die rebengenetischen Ressoursen in Deutschland. Geilweilergof aktuell: Mitt. Des Inst. Fur Rebenzuchtung. Siebeldingen, 2006; 34; 2: 9–14. (In Germ.)
- 7. Khiari R., Zemni H., Mihoubi D. Raisin processing: physicochemical, nutritional and microbiological quality characteristics as affected by drying process. Food Reviews International. 2018; 35; 3: 246–298. URL: https://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1080/87559129.2018.1517264?journalCode=lfri20
- 8. Olivati C., Paula de Nishiyama, Teodoro de Souza et al. Effect of the pre-tre-atment and the drying process on the phenolic composition of raisins produced with a seedless Brazilian grape cultivar. Food Research International. 2019; 116: 190–199. URL: https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0963996918306185?via%3Dihub
- 9. Alleweldt G., Dettweiler E. The genetic resources of Vitis. Siebeldingen. FRG, 1994: 74.
- 10. Perl A. et al. Breeding of new seedless table grapes in Israel conventional and biotechnological approach. Acta Hortic. 2003; 603: 185–187.
- 11. Gerdemann-Knorck M., Sacristan M.D., Breeding C. Utilization of assymmetric somatic hybidization for the transfer of disease resistance from Brassica nigra to Brassica napus. Pestic. Outlook. 1993; 4: 22–25.
- 12. *Egorov E.A. et al.* Anapa Ampelographic Collection (Biological Plant Resources): Monograph. Ed. by V.S. Petrov. Krasnodar: FGBNU SKFNTsSVV, 2018: 194. (In Rus.)
- 13. *Egorov E.A., Eremin G.V., Suprun I.I. et al.* Modern Methodological Aspects of Selection Process Organisation in Horticulture and Viticulture. Krasnodar, 2012: 569. (In Rus.) URL: https://elibrary.ru/item.asp?id=18921733
- 14. *Egorov E.A. et al.* Modern Methodology, Tools for Evaluation and Selection of Selection Material of Horticultural Crops and Grapes: Monograph. Krasnodar: FGBNU SKFNTsSVV, 2017: 282. (In Rus.) URL: https://elibrary.ru/item.asp?id=30550541

- 15. Ryazanova L.G., Provorchenko A.V., Gorbunov I.V. Basics of Statistical Analysis of Research Results in Horticulture. Krasnodar: KubGAU, 2013: 61. (In Rus.)
- 16. Dospekhov B.A. Methodology of the Field Experiment. M.: Agropromizdat, 1985: 351. (In Rus.)
- 17. Doroshenko N.P. Kravchenko, L.B. Modern Technology of Production of Basic Planting Material. Nursery Farming of Grapes. Krasnodar: SKZNIISiV, 2004: 51–59. (In Rus.)
- 18. *Gorbunov I.V.* Promising Sources of Breeding-Valuable Traits among Grape Varieties of the Anapa Ampelographic Collection. Vestnik Ul'yanovskoy gosudarstvennoy sel'skokhozyaystvennoy akademii. 2022; 2(58): 67–74. (In Rus.) URL: https://elibrary.ru/item.asp?id=49161579
- 19. *Gorbunov I.V.* Dynamics of Yield and Sugar Accumulation of Technical Grape Varieties of Anapa Zonal Experimental Station of Viticulture and Winemaking. Plodovodstvo i vinogradarstvo YUga Rossii. 2020; 66(6): 71–82. (In Rus.) URL: https://elibrary.ru/item.asp?id=44264049

Горбунов Иван Викторович, канд. биол. наук, научный сотрудник, заведующий лабораторией виноградарства и виноделия Анапской зональной опытной станции виноградарства и виноделия — филиала ФГБНУ Северо-Кавказский федеральный научный центр садоводства, виноградарства, виноделия; 353456, Российская Федерация, Краснодарский край, г. Анапа, Пионерский пр-т, 36; тел.:(938) 506–42–97; e-mail: wunsch27@mail.ru

**Коваленко Александр Григорьевич,** канд. с.-х. наук, старший научный сотрудник Анапской зональной опытной станции виноградарства и виноделия — филиала ФГБНУ Северо-Кавказский федеральный научный центр садоводства, виноградарства, виноделия; 353456, Российская Федерация, Краснодарский край, г. Анапа, Пионерский пр-т, 36; тел.: (918) 475–63–64

**Ivan V. Gorbunov,** CSc (Bio), Research Associate, Head of the Laboratory of Viticulture and Winemaking, Anapa Zonal Experimental Station of Viticulture and Winemaking, branch of the North Caucasus Federal Scientific Center of Horticulture, Viticulture, Winemaking (36, Pionerskiy Ave., Anapa, Krasnodar Territory, 353456, Russian Federation; phone: (938) 506–42–97; E-mail: wunsch27@mail.ru)

Aleksandr G. Kovalenko, CSc (Ag), Senior Research Associate, Anapa Zonal Experimental Station of Viticulture and Winemaking, branch of the North Caucasus Federal Research Center of Horticulture, Viticulture, Winemaking (36, Pionerskiy Ave., Anapa, Krasnodar Territory, 353456, Russian Federation; phone: (918) 475–63–64)

## ГЕНЕТИКА, БИОТЕХНОЛОГИЯ, СЕЛЕКЦИЯ И СЕМЕНОВОДСТВО

УДК 633.174:[631.52+631.527.56] DOI: 10.26897/0021-342X-2023-3-62-72 Известия ТСХА, выпуск 3, 2023

# ВЛИЯНИЕ ТИПА СТЕРИЛЬНОЙ ЦИТОПЛАЗМЫ НА СЕЛЕКЦИОННО-ЦЕННЫЕ ПРИЗНАКИ ГИБРИДОВ F1 СОРГО В РАЗЛИЧНЫХ ПО ВЛАГООБЕСПЕЧЕННОСТИ УСЛОВИЯХ

#### О.П. КИБАЛЬНИК

(ФГБНУ «Российский научно-исследовательский и проектно-технологический институт сорго и кукурузы»)

Некоторыми исследователями у сорго обнаружено влияние стерильной цитоплазмы на проявление биологических и селекционно-ценных признаков. При этом одни авторы обнаруживают влияние стерильной цитоплазмы, другие описывают отсутствие различий между гибридами F1, полученными на основе ЦМС-линий с одним и тем же ядерным геномом и различающимися только типом стерильной цитоплазмы. В этой связи целью исследований являлось определение эффекта стерильных цитоплазм A1, A2, АЗ, А4, А5, А6 и метеорологических условий выращивания гибридов F1 зернового сорго на основные селекционно-ценные признаки. В данных исследованиях гибриды F1 получены на основе ЦМС-линий с геномом Карлика 4в и 6 типами стерильных цитоплазм, а в качестве опылителя использовали линию Восторг. Исследования проводились в течение 2016-2018 гг., различающихся по гидротермическому режиму периодов вегетации растений ( $\Gamma TK = 0.51-1.01$ ). В результате эксперимента впервые установлено: увеличение высоты растений при созревании у гибрида А5 Карлик 4в/Восторг (123,3 см) в сравнении с гибридами на цитоплазмах А1, А2, А3, А4, А6 (118,0 см); уменьшение площади флагового листа у гибрида АЗ Карлик 4в/Восторг (104,4 см²) в сравнении с гибридами на цитоплазмах A2, A4, A5 и A6 (130,3–136,3 см $^2$ ). В среднем за период испытаний гибриды на цитоплазмах А1 и А5 формировали более высокую урожайность биомассы (18,53–18,57 т/га) в сравнении с гибридами на цитоплазмах А4 и А6 (13,76–15,91 т/га), однако различия оказались незначимыми. При этом вклад факторов «Тип ЦМС» в общую изменчивость селекционных признаков составил от 1,4 до 14,0%, «Метеорологические условия года» – 24,0–58,9%. В селекции гибридов сорго с использованием генетически различных типов стерильных цитоплазм по комплексу селекционных признаков в скрещивания целесообразно включать ЦМС-линию на цитоплазме А5.

**Ключевые слова:** сорго, гибриды F1, ЦМС-линии, типы стерильных цитоплазм, селекционные признаки, урожайность.

#### Введение

Растения сорго являются засухоустойчивыми и способны формировать высокие урожаи зерна и надземной биомассы в условиях с низкой влагообеспеченностью [5, 13]. Многие исследователи отмечают, что сорго может приспосабливаться к разнообразным агрономическим и экологическим условиям и является нетребовательным к почвам [3–4, 18–20].

В последнее время в селекции сорговых культур приоритетным направлением повышения урожайности становится выведение новых гетерозисных гибридов [14]. Промышленное получение семян гибридов первого поколения основано на использовании цитоплазматической мужской стерильности (ЦМС), которая была открыта у многих сельскохозяйственных культур (кукуруза, подсолнечник, африканское просо, рис, горчица и др.), в том числе сорго [17]. Впервые у сорго ЦМС обнаружена в 1954 г. Дж.К. Стивенсом и Р.Ф. Холландом, и ее обозначили как А1 (milo) [9]. В дальнейшем, на основе типа стерильной цитоплазмы А1, выведены ЦМС-линии, широко включаемые в селекционный процесс по созданию продуктивных гибридов сорго. В настоящее время у сорго выделено большое количество генетически различных стерильных цитоплазм [21], причем обнаружен маркер, позволяющий идентифицировать генетическую чистоту ЦМС-линий на основе цитоплазмы А1 [20].

Известно, что многие хозяйственно-ценные признаки растений являются полигенными и формируются в результате взаимодействия продуктов ядерных генов между собой и с факторами внешней среды, поэтому цитоплазматическое окружение может оказывать значительное влияние на проявление этих признаков. В этой связи важным этапом в селекции гибридов становится изучение влияния ЦМС-индуцирующих цитоплазм на селекционно-ценные признаки и урожайность [6].

Следует отметить, что в литературе встречаются сведения о цитоплазматическом эффекте у сорго. Однако это достаточно разносторонняя информация: одними исследователями отмечены различия между гибридами на цитоплазмах A1, A2, A3 по продуктивности и качеству биомассы [1], установлено влияние цитоплазмы 9Е на урожайность биомассы, фотосинтетический потенциал и чистую продуктивность фотосинтеза по сравнению с цитоплазмами A3 и A4, цитоплазмы A4 и M35–1A на содержание белка в зерне [11, 12]; другие показывают отсутствие различий между гибридами на цитоплазмах A1, A2, A3 по высоте растений, урожайности биомассы, содержанию сухого вещества [2].

Как показывает анализ данных литературы, сравнение гибридов по селекционно-ценным признакам с использованием более широкого набора ЦМС-индуцирующих цитоплазм не проводилось. Это свидетельствует об актуальности данных исследований, которые позволят расширить информацию по проявлению цитоплазматических эффектов у сорго.

**Цель исследований:** определение эффекта стерильных цитоплазм A1, A2, A3, A4, A5, A6 и метеорологических условий выращивания гибридов F1 зернового сорго на основные селекционно-ценные признаки.

## Материал и методы исследований

Гибриды F1 получены в результате скрещивания изоядерных ЦМС-линий с геномом Карлика 4в на основе A1, A2, A3, A4, A5, A6 стерильных цитоплазм с линией Восторг. Данные ЦМС-линии имеют одинаковый ядерный геном, но отличаются друг от друга типом стерильной цитоплазмы, которые различаются по происхождению, генетике восстановления фертильности, морфологии и гистологической структуре пыльников, стадии дегенерации пыльцы, структуре митохондриального и хлоропластного геномов [7]. Созданы они путем серий бэккроссов образца Карлика 4в с ЦМС-линиями, несущими цитоплазмы следующих источников стерильности: A1 (milo), A2 (IS12662C), A3 (IS1112C), A4 (IS7920C), A5 (IS1056C), A6 (IS17506C).

В данных исследованиях использовали растения из семей  $BC_9$ . Идентификацию материнских форм ежегодно проводили с помощью цитологического анализа пыльцы

в период цветения соцветий. Гибриды высевали на опытном поле ФГБНУ РосНИ-ИСК «Россорго» в течение 2016–2018 гг. Посев широкорядным способом (междурядье 70 см) проводился в оптимальный для сорго срок – во второй-третьей декадах мая. Повторность в опыте – трехкратная. Размещение делянок площадью 7,7 м² – рендомизированное. Оценка селекционно-ценных признаков (высота растений через 30 дней после всходов и при созревании, площадь наибольшего и флагового листьев, общая кустистость) и учет урожайности биомассы выполнены согласно общепринятой методике [19].

Статистическая обработка экспериментальных данных произведена методом двухфакторного анализа (фактор A — тип ЦМС, фактор B — метеорологические условия года) с помощью программы Агрос 2.09.

Гидротермический коэффициент (ГТК) за период вегетации гибридов первого поколения варьировал от 0,51 до 1,01. В 2016 и 2018 гг. наблюдались засушливые условия возделывания: ГТК = 0,51–0,68 (сумма активных температур – 2696–2702°С, количество осадков – 137,3–184,6 мм), тогда как 2017 г. оказался наиболее влагообеспеченным: ГТК = 1,01 (сумма активных температур – 2475 °С, количество осадков – 248,9 мм).

# Результаты и их обсуждение

В результате дисперсионного двухфакторного анализа значений признака «Высота растений через 30 дней после всходов» установлено, что изучаемые гибриды зернового сорго не различались между собой ни в отдельные сезоны выращивания, ни в среднем за 3 года изучения. Значения признака варьировали в интервале 42,3—44,8 см. При этом метеорологические условия года оказали существенное влияние на высоту растений через 30 дней после всходов, что подтверждается наибольшей долей фактора в общей изменчивости признака — 58,9%. Благоприятные условия для начального роста растений складывались в 2016 и 2018 гг.: значение признака составило 42,5—53,9 и 42,2—47,9 см соответственно.

На рисунке 1 представлено среднее значение признака по гибридам за период исследований: в 2017 г. – всего 36,8 см; в 2018 г. – 44,5; в 2016 г. – 48,9 см. В проведенных ранее исследованиях отмечено влияние стерильных цитоплазм А2, А4 и 9Е на данный признак у гибридов F1 с геномом Раннего 7 по сравнению с цитоплазмой А1 в условиях достаточной влагообеспеченности. Более интенсивный рост гибридов наблюдался на цитоплазме 9Е в каждый сезон [15].

В период созревания растения гибридов достигали 114,2–123,3 см в среднем за 3 года. Дисперсионным анализом подтверждено влияние фактора стерильной цитоплазмы на изучаемый признак (доля фактора – 11,0%). Так, гибриды на цитоплазме А5 были выше гибридов на цитоплазмах А1, А2, А3, А4, А6 на 5,3–9,1 см. В условиях 2017 и 2018 гг. также отмечено преимущество цитоплазмы А5, когда увеличение признака составило 7,7–11,1 см. Установлено и значимое влияние средового фактора (вклад – 58,9%). Наибольшей средней высоты растения гибридов достигали в более влажном 2017 г. (126,1 см), тогда как в засушливые 2016 и 2018 гг. – 110,5–116,7 см (рис. 1). Ранее было выявлено, что условия влагообеспеченности возделывания гибридов F1 зернового сорго на основе типов стерильных цитоплазм А1, А2, А4 и 9Е оказывают влияние на проявление цитоплазматических эффектов на высоту растений в период созревания [15].

Сорго – растение с С4-типом фотосинтеза [10]. В литературе представлены сведения о высокой корреляционной взаимосвязи урожайности биомассы и скорости фотосинтеза [8]. Кроме того, учитывая роль ядерно-цитоплазматических

взаимодействий в генетическом контроле фотосинтеза, можно предположить выявление различий между гибридами с разными типами стерильных цитоплазм [12]. Поэтому в данной работе уделено внимание линейным размерам листьев, в том числе флаговому и наибольшему. По площади наибольшего листа различия между гибридами наблюдались только в отдельные годы изучения: в 2016 г. площадь листа у гибридов на цитоплазмах АЗ и А5 оказалась меньше гибрида на цитоплазме A2-207,7-227,4 см<sup>2</sup> против 296,6 см<sup>2</sup>; в 2017 г. более низкие значения признака проявились у гибридов на цитоплазмах А2 и А3 по сравнению с гибридом на цитоплазме A4-185,1-213,0 и 293,6 см<sup>2</sup> соответственно. Однако в среднем за 3 года у гибридов Карлик 4в/Восторг на основе стерильных цитоплазм А1, А2, А3, А4, А5, А6 достоверные различия не установлены (рис. 2). Вместе с тем А4 и А6 Карлик 4в/Восторг отличились более высоким значением признака – 243,2–245,0 см². Доля фактора «Тип ЦМС» в общей изменчивости признака составила 9,5%, фактора «Метеорологические условия» и взаимодействие AB – 24,0–29,4%. Крупные наибольшие листья сформированы гибридами в условиях 2016-2017 гг. -237,9-245,9 см<sup>2</sup> (рис. 2).

Наименьшей площадью флагового листа характеризовался гибрид на цитоплазме A3 ( $104,4~{\rm cm}^2$ ) по сравнению с гибридами на цитоплазмах A2, A4, A5 и A6 ( $130,3-136,3~{\rm cm}^2$ ), а гибрид на цитоплазме A1 ( $109,2~{\rm cm}^2$ ) — по сравнению с гибридом на цитоплазме A2 в среднем за  $2016-2018~{\rm rr}$ . испытаний. При этом вклад фактора «Тип ЦМС» в общую изменчивость признака составил 14,0%. Средовый фактор также повлиял на вариабельность линейных размеров флагового листа. Наибольшая величина признака установлена в условиях хорошей влагообеспеченности ( $2017~{\rm r.}$ ) —  $150,7~{\rm cm}^2$  в среднем по всем гибридам, тогда как в более засушливых условиях —  $105,4-116,8~{\rm cm}^2$  (рис. 2).

Влияние цитоплазмы на общую кустистость проявлялось только в отдельные годы. В условиях 2017 г. увеличению побегообразования способствовала цитоплазма A4 (3,19 стеблей на одно растение), а в 2018 г. — цитоплазмы A1, A2 и A5 (2,00—2,65 стеблей на одно растение). Наименьшая общая кустистость в среднем по 6 гибридам (1,20 шт.) выявлена в засушливом 2016 г., характеризующемся суммой активных температур 2702°С и осадков в 137,3 мм по сравнению с 2017—2018 гг. (2,01—2,04 шт.). Вклад фактора «Тип ЦМС» в общую изменчивость признака составил 7,3%, фактора «Метеорологические условия года» — 37,1%, их взаимодействие —37,2% (рис. 3).

На урожайность биомассы тип стерильной цитоплазмы оказывал влияние только в отдельные сезоны, а в среднем по годам различия между изоядерными гибридами отсутствовали. В 2017 г. гибриды на основе А3 и А4 характеризовались наибольшей продуктивностью биомассы (25,1–27,23 т/га) по сравнению с гибридами на основе А2 и А6 (15,47–16,27 т/га). В условиях 2018 г. гибриды на цитоплазме А4 формировали наименьшую урожайность – всего 10,10 т/га. Вклад генотипического фактора составил 9,6% (рис. 3). В среднем по гибридам урожайность биомассы различалась в разные годы: в 2017 г. – 20,63 т/га; в 2018 г. – 17,83 т/га; в 2016 г. – 12,85 т/га.

В литературе отмечено, что испытание гибридов F1 на основе стерильных цитоплазм A1, A2 и A3 в трех агроклиматических микрозонах (Техас, США) показало отсутствие цитоплазматического эффекта на урожайность и биохимический состав биомассы [2]. Следует отметить, что сорго-суданковые гибриды, полученные с использованием цитоплазм A3, A4 и 9E, также не различались по продуктивности биомассы [16].

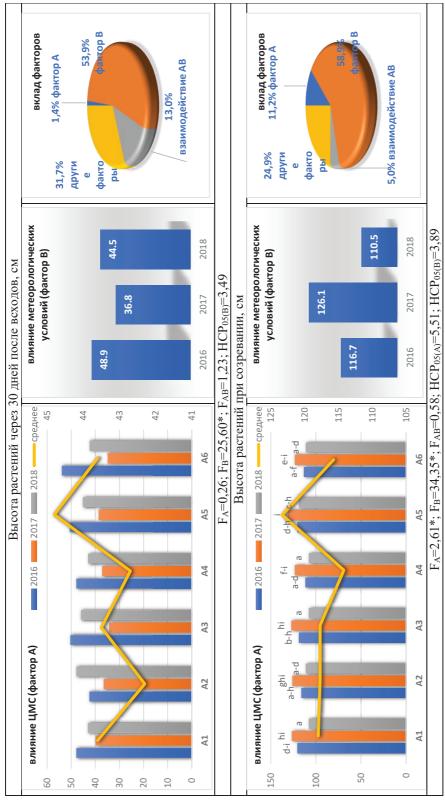
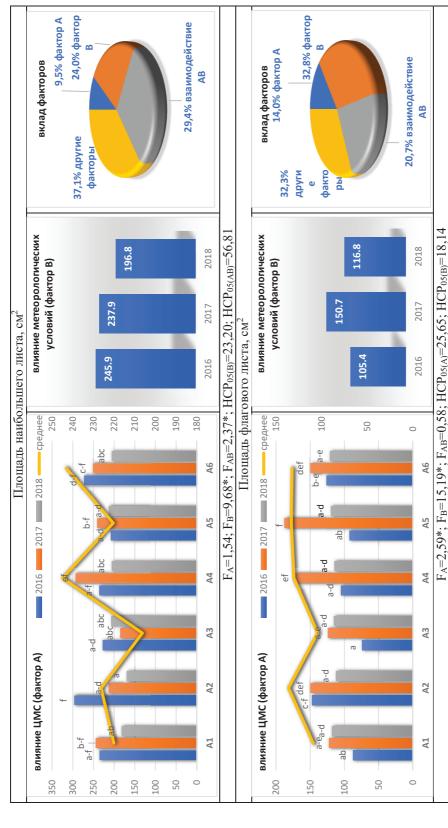
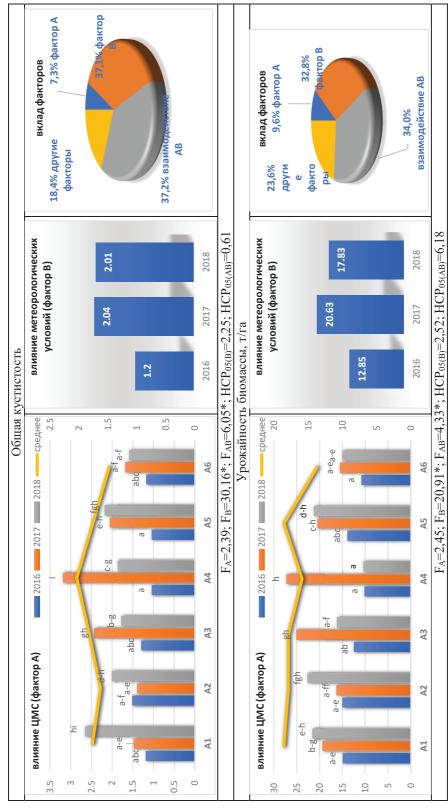


Рис. 1. Влияние типа ЦМС (А1, А2, А3, А4, А5, А6) и метеорологических условий на формирование высоты растений у гибридов F1 (2016–2018 гг.) Примечание. Данные на рисунке, обозначенные разными буквами, различаются между собой в соответствии с тестом множественных сравнений Дункана



**Рис. 2.** Влияние типа ЦМС (А1, А2, А3, А4, А5, А6) и метеорологических условий на формирование площади листьев у гибридов F1 (2016–2018 гг.) Примечание. Данные на рисунке, обозначенные разными буквами, различаются между собой в соответствии с тестом множественных сравнений Дункана.



**Рис. 3.** Влияние типа ЦМС (А1, А2, А3, А4, А5, А6) и метеорологических условий на формирование площади листьев у гибридов F1 (2016–2018 гг.) Примечание. Данные на рисунке, обозначенные разными буквами, различаются между собой в соответствии с тестом множественных сравнений Дункана.

#### Выволы

Таким образом, сравнительный анализ гибридов F1 на основе изоядерных ЦМС-линий с разными типами стерильных цитоплазм показал различия между ними по некоторым селекционным признакам в среднем за 2016–2018 гг. В результате статистической обработки экспериментальных данных методом двухфакторного дисперсионного анализа выявлено, что у гибридов с линией Восторг цитоплазма А5 увеличивает высоту растений в сравнении с цитоплазмами А1, А2, А3, А4, А6.

Наибольшая площадь флагового листа оказалась у гибридов на цитоплазмах A2, A4, A5 и A6 в сравнении с гибридом на цитоплазме A3. По высоте растений через 30 дней после всходов площади наибольшего листа и урожайность биомассы в среднем за изучаемый период у гибридов F1 не различались. Вместе с тем наибольшая продуктивность биомассы выявлена у гибридов на цитоплазмах A1 и A5, а наименьшая — на цитоплазмах A4 и A6. При этом вклад фактора «Тип ЦМС» в общую изменчивость селекционных признаков составил 1,4—14,0%, фактора «Метеорологические условия года» — 24,0—58,9%.

Высокозначимым оказалось взаимодействие условий внешней среды и типа стерильной цитоплазмы на формирование общей кустистости и урожайности надземной биомассы гибридов (вклад фактора AB - 34,0-37,2%), что обусловило значимость различий между ними в вегетационный период 2017-2018 гг. Наибольшая величина хозяйственных признаков выявлена в условиях более влажного 2017 г. (ГТК = 1,005 за вегетационный период сорго), за исключением площади наибольшего листа. В селекции гибридов сорго с использованием генетически различных типов стерильных цитоплазм по комплексу селекционных признаков целесообразно включать в скрещивания ЦМС-линию на цитоплазме A5.

# Библиографический список

- 1. Aruna C., Shrotria P.K., Pahuja S.K. et al. Fodder yield and quality in forage sorghum: scope for improvement though diverse male sterile cytoplasms // Crop&Pasture Science. 2013. № 63 (12). Pp. 1114–1123. DOI: 10.1071/cp12215.
- 2. Hoffmann L., Rooney W.L. Cytoplasm Has No Effect on the Yield and Quality of Biomass Sorghum Hybrids // Journal of Sustainable Bioenergy Systems. 2013. № 2. Pp. 129–134. DOI: 10.4236/JSBS.2013.32018.
- 3. *Hossian Md.S., Islam Md.N., Rahman Md.M. et al.* Sorghum: A prospective crop for climatic vulnerability, food and nutritional security // Journal of Agriculture and Food Research. −2022. − № 8. − Pp. 100300. DOI: 10.1016/j.jafr.2022.100300.
- 4. Jabereldar A.A., Naim A.M., Abdalla A.A. et al. Effect of Water Stress on Yield and Water Use Effeciency of Sorghum (Sorghum bicolor L. Moench) in Semi-Arid Environment // International Journal of Agriculture and Forestry. 2017. 7 (1). Pp. 1–6.
- 5. Khaton M.A., Sagar A., Tajkia J.E. Effect of moisture stress on morphological and yield attributes of four sorghum varieties // Progressive Agriculture. 2016. № 27 (3). Pp. 265–271. DOI: 10.3329/pa.v27i3.30806.
- 6. *Vacek L.A., Rooney W.L.* Effects of cytoplasm, male and female parents on biomass productivity in sorghum (Sorghum bicolor L. Moench) // Journal of Crop Improvement. 2018. № 32 (5). Pp. 635–647. DOI: 10.1080/15427528.2018.1483458.
- 7. Reddy B.V.S., Ramesh S., Ortiz R. Genetic and Cytoplasmic-Nuclear Male sterility in Sorghum // Plant Breed. Reviews / J. Janik. Hoboken (ed.). New Jersy, Willey & Sons, Inc. 2005. № 25. Pp. 139–169.
- 8. Salas Fernandez M.G., Strand K., Hamblin M.T. et al. Genetic analysis and phenotypic characterization of leaf photosynthetic capacity in a sorghum (Sorghum spp.)

- diversity panel // Genetic Resources and Crop Evolution. -2015. -№ 62. Pp. 939–950. DOI: 10.1007/s10722-014-0202-6.
- 9. Stephens J.C., Holland R.F. Cytoplasmic Male-Sterility For Hybrid Sorghum Seed Production // Agronomy Journal. 1954. № 44. Pp. 369–373. DOI:10.2134/agronj1952.00021962004400070008x.
- 10. Zhang H., Xu N., Wu X. et al. Effects of four types of sodium salt stress on plant growth and photosynthetic apparatus in sorghum leaves // Journal of Plant Interactions. 2018. N = 13 (1). Pp. 506-513. DOI: org/10.1080/17429145.2018.1526978.
- 11. *Бычкова В.В.*, Эльконин Л.А. Влияние типа стерильной цитоплазмы на фотосинтетические параметры гибридов зернового сорго // Зерновое хозяйство России. -2016. № 4. C. 5–8.
- 12. *Бычкова В.В.*, Эльконин Л.А. Влияние стерильных цитоплазм на фотосинтетическую активность и урожайность биомассы у гибридов F1 сорго // Российская сельскохозяйственная наука. -2017. № 2. С. 10-15.
- 13. Вертикова Е.А., Ермолаева Г.И. Результаты селекции зернового сорго и рекомендации к внедрению в условиях Нижнего Поволжья // Аграрный научный журнал. -2018. -№ 5. C. 5-10. DOI: 10.28983/asj.v0i5.466.
- 14. *Володин А.Б., Капустин С.И., Капустин А.С.* Селекция гибридного сорго в Ставропольском крае // Таврический вестник аграрной науки. -2017. -№ 4 (12). -C. 50–56.
- 15. *Кибальник О.П.*, Эльконин Л.А., Кожемякин В.В. Влияние разных типов стерильных цитоплазм на морфобиологические и селекционно-ценные признаки гибридов F1 зернового сорго // Кукуруза и сорго. − 2009. − № 4. − С. 19–22.
- 16. *Кибальник О.П.*, Эльконин Л.А. Влияние типа стерильной цитоплазмы на проявление хозяйственно-полезных признаков у сорго-суданковых гибридов // Доклады РАСХН. -2012. -№ 1. C. 12-15.
- 17. *Кибальник О.П., Семин Д.С.* Использование А3, А4 И 9Е типов ЦМС в селекции гибридов зернового сорго // Российская сельскохозяйственная наука. -2018. № 5. С. 22–25. DOI: 10.31857/S250026270000640–9.
- 18. Ковтунов В.В., Сухенко Н.Н., Лушпина О.А. и др. Оценка коллекционных образцов сорго зернового для селекции новых сортов // Зерновое хозяйство России. 2022. № 14 (4). Pp. 46—51. DOI: 10.31367/2079—8725—2022—82—4—46—51.
- 19. Методика государственного сортоиспытания сельскохозяйственных культур. М.: Госагропром, 1989. Вып. 2. 194 с.
- 20. Радченко Е.Е., Алпатьева Н.В., Карабицина Ю.И. и др. Разработка и валидация CAPS-маркера, Ассоциированного с геном Rf2 у сорго (Sorghum bicolor (L.) Moench) // Биотехнология и селекция растений. 2021. № 4 (2). С. 38—47. DOI: 10.30901/2658—6266—2021—2-04.
- 21. Эльконин Л.А., Геращенков Г.А., Доманина И.В. и др. Наследование реверсий к мужской фертильности у стерильных гибридов сорго с ЦМС типа 9E, индуцированных условиями внешней среды // Генетика. -2015. -№ 51 (3). -ℂ. 312–323.

# EFFECT OF STERILE CYTOPLASM TYPE ON VALUABLE BREEDING TRAITS OF F1 SORGHUM HYBRIDS UNDER DIFFERENT MOISTURE CONDITIONS

#### O.P. KIBALNIK

(Russian Research and Design-Technological Institute of Sorghum and Corn)

Some researchers have found the influence of sterile cytoplasm on the manifestation of biological and valuable breeding traits in sorghum. In addition, some authors detect the influence of sterile

cytoplasm, while others describe the absence of differences between F1 hybrids obtained from CMS lines with the same nuclear genome and differing only in the type of sterile cytoplasm. In this context, the aim of the research was to determine the effect of sterile cytoplasms A1, A2, A3, A4, A5, A6 and meteorological conditions of growing F1 hybrids of grain sorghum on the main valuable breeding traits. In this work, F1 hybrids were obtained on the basis of CMS lines with the Karlik 4v genome and six types of sterile cytoplasm, and the Vostorg line was used as a pollinator. The studies were carried out in 2016–2018, with different hydrothermal regimes of plant growing seasons (GTK=0.51–1.01). As a result of the experiment, for the first time an increase in plant height during maturation was found in the A5 Karlik 4v/Vostorg hybrid (123.3 cm) compared to hybrids on cytoplasms A1, A2, A3, A4, A6 (118.0 cm); a decrease in the flag leaf area was found in the A3 Karlik 4v/ hybrid (104.4 cm²) compared to hybrids on cytoplasms A2, A4, A5 and A6 (130.3-136.3 cm<sup>2</sup>). On average, during the test period, hybrids on A1 and A5 cytoplasms produced a higher biomass yield (18.53–18.57 t/ha) than hybrids on A4 and A6 cytoplasms (13.76–15.91 t/ha), but the differences were not significant. At the same time, the contribution of the factor "CMS type" to the totalvariability of breeding traits ranged from 1.4 to 14.0%; "meteorological conditions" of the year – 24.0–58.9%. When breeding sorghum hybrids using genetically different types of sterile cytoplasm, it is advisable to include a CMS line on the A5 cytoplasm in the crossing according to the complex of breeding characteristics.

**Key words:** sorghum, F1 hybrids, CMS lines, types of sterile cytoplasmas, breeding characteristics, yield.

#### Reference

- 1. Aruna C., Shrotria P.K., Pahuja S.K. et al. Fodder yield and quality in forage sorghum: scope for improvement though diverse male sterile cytoplasms. Crop&Pasture Science. 2013; 63(12): 1114–1123. DOI: 10.1071/cp12215
- 2. Hoffmann L., Rooney W.L. Cytoplasm Has No Effect on the Yield and Quality of Biomass Sorghum Hybrids. Journal of Sustainable Bioenergy Systems. 2013; 2: 129–134. DOI: 10.4236/JSBS.2013.32018
- 3. Hossian Md.S., Islam Md.N., Rahman Md.M. et al. Sorghum: A prospective crop for climatic vulnerability, food and nutritional security. Journal of Agriculture and Food Research. 2022; 8: 100300. DOI: 10.1016/j.jafr.2022.100300
- 4. Jabereldar A.A., Naim A.M., Abdalla A.A. et al. Effect of Water Stress on Yield and Water Use Effeciency of Sorghum (Sorghum bicolor L. Moench) in Semi-Arid Environment. International Journal of Agriculture and Forestry. 2017; 7(1): 1–6.
- 5. *Khaton M.A., Sagar A., Tajkia J.E.* Effect of moisture stress on morphological and yield attributes of four sorghum varieties. Progressive Agriculture. 2016; 27(3): 265–271. DOI: 10.3329/pa.v27i3.30806
- 6. Vacek L.A., Rooney W.L. Effects of cytoplasm, male and female parents on biomass productivity in sorghum (Sorghum bicolor L. Moench). Journal of Crop Improvement. 2018; 32(5): 635–647. DOI: 10.1080/15427528.2018.1483458
- 7. Reddy B.V.S., Ramesh S., Ortiz R. Genetic and Cytoplasmic-Nuclear Male sterility in Sorghum.Plant Breed. Reviews. J. Janik. Hoboken (ed.). New Jersy, Willey & Sons, Inc. 2005; 25: 139–169.
- 8. Salas Fernandez M.G., Strand K., Hamblin M.T. et al. Genetic analysis and phenotypic characterization of leaf photosynthetic capacity in a sorghum (Sorghum spp.) diversity panel. Genetic Resources and Crop Evolution. 2015; 62: 939–950. DOI: 10.1007/s10722-014-0202-6
- 9. Stephens J.C., Holland R.F. Cytoplasmic Male-Sterility For Hybrid Sorghum Seed Production. Agronomy Journal. 1954; 44: 369–373. DOI: 10.2134/agronj1952.00021962004400070008x

- 10. Zhang H., Xu N., Wu X. et al. Effects of four types of sodium salt stress on plant growth and photosynthetic apparatus in sorghum leaves. Journal of Plant Interactions. 2018; 13(1): 506–513. DOI: org/10.1080/17429145.2018.1526978
- 11. Bychkova V.V., El'konin L.A. Effect of the Type of Sterile Cytoplasm on Photosynthetic Parameters of Grain Sorghum Hybrids. Zernovoe khozyaistvo Rossii. 2016; 4: 5–8. (In Rus.)
- 12. Bychkova V.V., El'konin L.A. Effect of Sterile Cytoplasmas on Photosynthetic Activity and Biomass Yield in F1 Sorghum Hybrids. Rossiyskaya sel'skokhozyaystvennaya nauka. 2017; 2: 10–15. (In Rus.)
- 13. *Vertikova E.A., Ermolaeva G.I.* Results of the selection of grain sorghum and recommendations for implementation in the conditions of the Lower Volga region. Agrarniy nauchniy zhurnal. 2018; 5: 5–10. DOI: 10.28983/asj.v0i5.466 (In Rus.)
- 14. Volodin A.B., Kapustin S.I., Kapustin A.S. Breeding of Hybrid Sorghum in the Stavropol Territory. Tavricheskiy vestnik agrarnoy nauki. 2017; 4(12): 50–56. (In Rus.)
- 15. Kibal 'nik O.P., El 'konin L.A., Kozhemyakin V.V. Effect of Different Types of Sterile Cytoplasmas on Morphobiological and Valuable Breeding Traits of F1 Hybrids of Grain Sorghum. Kukuruza i sorgo. 2009; 4: 19–22. (In Rus.)
- 16. *Kibal nik O.P., El konin L.A.* Effect of the Type of Sterile Cytoplasm on the Manifestation of Economically Useful Traits in Sorghum-Sudankovyh Hybrids. Doklady RASKhN. 2012; 1: 12–15. (In Rus.)
- 17. *Kibal 'nik O.P., Semin D.S.* Use of A3, A4 and 9E Types of CMS in the Breeding of Grain Sorghum Hybrids. Rossiyskaya sel 'skokhozyaystvennaya nauka. 2018; 5: 22–25. DOI: 10.31857/S250026270000640–9 (In Rus.)
- 18. Kovtunov V.V., Sukhenko N.N., Lushpina O.A. et al. Evaluation of Collection Samples of Grain Sorghum for Breeding New Varieties. Zernovoe khozyaystvo Rossii. 2022; 14(4): 46–51. DOI: 10.31367/2079–8725–2022–82–4–46–51 (In Rus.)
- 19. Methods of State Variety Testing of Agricultural Crops. 2d ed. M.: Gosagroprom, 1989: 194. (In Rus.)
- 20. Radchenko E.E., Alpat'yeva N.V., Korobitsyna Yu.I. et al. Development and Validation of CAPS Marker Associated with Rf2 Gene in Sorghum (Sorghum Bicolor (L.) Moench). Biotekhnologiya i selektsiya rasteniy. 2021; 4(2):38–47. DOI: 10.30901/2658–6266–2021–2-04 (In Rus.)
- 21. El'konin L.A., Gerashchenkov G.A., Domanina I.V. et al. Inheritance of Reversions to Male Fertility in Sterile Sorghum Hybrids with CMS Type 9E Induced by Environmental Conditions. Genetika. 2015; 51(3): 312–323. (In Rus.)

Кибальник Оксана Павловна, канд. биол. наук, главный научный сотрудник отдела сорговых культур ФГБНУ «Российский научно-исследовательский и проектно-технологический институт сорго и кукурузы»; 410050, Российская Федерация, г. Саратов, 1-й Институтский пр-д, 4; e-mail: kibalnik79@yandex.ru; тел.: (845) 279–49–69

Oksana P. Kibal'nik, CSc (Bio), Chief Research Associate, Department of Sorghum Crops, Russian Research, Design and Technology Institute of Sorghum and Corn (4, 1-iy Institutskiy Passage, Saratov, 410050, Russian Federation; phone: (8452) 79–49–69; E-mail: kibalnik79@yandex.ru)

УДК 575 DOI: 10.26897/0021-342X-2023-3-73-86

# ГЕНЕТИЧЕСКИЕ РЕСУРСЫ ДЛЯ ПРИОРИТЕТНЫХ НАПРАВЛЕНИЙ СЕЛЕКЦИИ ЯРОВОГО ЯЧМЕНЯ В ВОЛГО-ВЯТСКОМ РЕГИОНЕ

# И.Ю. ЗАЙЦЕВА, И.Н. ЩЕННИКОВА

(Федеральный аграрный научный центр Северо-Востока им. Н.В. Рудницкого – ФГБНУ ФАНЦ Северо-Востока)

В настоящее время вследствие меняющихся почвенно-климатических условий наблюдаются резкие колебания сбора зерна ячменя по годам. В связи с этим остро стоит проблема подбора нового исходного материала для создания сортов, способных противостоять действию абиотических и биотических стрессов. Изучение мирового генофонда ярового ячменя в условиях Волго-Вятского региона позволяет выделить адаптивные формы с комплексом или отдельными признаками и свойствами, которые отвечают современным задачам селекции. Таким образом, целью исследований является выделение источников для селекции ярового ячменя в условиях Волго-Вятского региона РФ на основе оценки коллекционных образцов различного эколого-географического происхождения по урожайности и комплексу селекционно-ценных признаков. Экспериментальная работа проводилась в 2019-2021 гг. в ФГБНУ ФАНЦ Северо-Востока. Объектом исследований являлись 26 образиов ярового ячменя различного эколого-географического происхождения из коллекции ФГБНУ ФИЦ «Всероссийский институт генетических ресурсов растений имени Н.И. Вавилова» (23 образца) и ФГБНУ ФАНЦ Северо-Востока. Изучение коллекции проводилось в соответствии с Методическими указаниями по изучению и сохранению мировой коллекции ячменя и овса (2012) и Международным классификатором СЭВ рода Hordeum L. (1983). Оценку образцов к пыльной головне давали на основании шкалы В.И. Кривечнко, А.П. Хохловой (2008), к листовым болезням – на основании шкалы О.С. Афанасенко (2005). Засухоустойчивость ярового ячменя изучали по лабораторной методике ВИР (1988). Оценку сортов к алюмокислому стрессу проводили согласно методике лабораторной оценки алюмоустойчивости зерновых культур (2003) и рекомендациям Е.М. Лисицына (2018). В результате исследований выделены источники хозяйственно-ценных признаков: урожайности -1; сочетающие высокую урожайность с высокими показателями некоторых элементов продуктивности – 15; с наименьшим периодом от всходов до созревания – 3; устойчивости к полеганию – 19; устойчивости в естественных условиях (к возбудителю пыльной головни -1, полосатой пятнистоcmu - 7); устойчивости на стадии проростков к осмотическому стрессу -5, к алюмокислому стрессу – 14.

**Ключевые слова:** урожайность, элементы продуктивности, устойчивость к полеганию, пыльная головня, пятнистости, засухоустойчивость, кислотоустойчивость.

#### Введение

Волго-Вятский регион является зоной с неблагоприятными почвенно-климатическими условиями. Вследствие наличия абиотических и биотических стрессов и меняющихся условий вегетации наблюдаются резкие колебания сбора зерна ячменя по годам. В связи с этим остро стоит проблема подбора нового исходного материала для создания сортов, способных обеспечить высокую урожайность и противостоять действию стрессовых факторов внешней среды.

Выбор наиболее перспективных родительских форм для скрещиваний из имеющегося разнообразия генетических ресурсов сельскохозяйственных растений является

одним из наиболее ответственных и трудных моментов в селекционном процессе, так как успех комбинационной селекции в значительной степени зависит от удачного подбора родительских форм для гибридизации [18, 19]. Необходимым условием для получения ценного гибридного материала является вовлечение в скрещивание коллекционных образцов различного эколого-географического происхождения. Сорта с широкой генетической гетерогенностью, вовлеченные в селекционный процесс, позволяют получить гибридный материал, обладающий большим спектром различных качественных показателей [22]. Поэтому в качестве исходного материала для создания сортов различных морфобиотипов ячменя используется мировой генофонд. Он является отправной точкой всех селекционных программ и определяет их успех [9].

Изучение мирового генофонда ярового ячменя в условиях Волго-Вятского региона позволяет выделить адаптивные формы с комплексом или отдельными признаками и свойствами, которые отвечают современным задачам селекции, с целью их дальнейшего использования в качестве родительских компонентов при скрещивании.

**Цель исследований:** выделить источники для селекции ярового ячменя в условиях Волго-Вятского региона РФ на основе оценки коллекционных образцов различного эколого-географического происхождения по урожайности и комплексу селекционно-ценных признаков.

### Материал и методы исследований

Экспериментальная работа проводилась в 2019–2021 гг. в ФГБНУ ФАНЦ Северо-Востока (г. Киров). Объектом исследований являлись 26 образцов ярового ячменя различного эколого-географического происхождения из коллекции ФГБНУ ФИЦ «Всероссийский институт генетических ресурсов растений имени Н.И. Вавилова» (23 образца) и ФГБНУ ФАНЦ Северо-Востока (3 образца).

Изучение коллекции проводилось в соответствии с Методическими указаниями по изучению и сохранению мировой коллекции ячменя и овса [16] и Международным классификатором СЭВ рода *Hordeum* L. [15] на делянках площадью 2,7 м², повторность — 3-кратная. В качестве стандарта использовали сорт Белгородский 100.

Устойчивость к болезням. Оценку образцов при искусственной инокуляции производили шприц-методом в фазу желто-зеленых пыльников. Характеристику генотипа по устойчивости в естественных условиях к пыльной головне (*Ustilago nuda* (Jens) Rostr.) давали на основании шкалы В.И. Кривечнко, А.П. Хохловой [8], по устойчивости к листовым болезням — по шкале О.С. Афанасенко [2].

Засухоустойчивость. Засухоустойчивость ярового ячменя изучали по лабораторной методике ВИР [5].

Алюмоустойчивость. Оценку сортов к эдафическому стрессу проводили согласно методике лабораторной оценки алюмоустойчивости зерновых культур [10]. Для определения уровня потенциальной алюмоустойчивости использовали ИДК (индекс длины корней) как соотношение средней длины корней при высокой концентрации стрессового фактора к средней длине корней при низкой концентрации, выраженное в процентах. В дополнение к ИДК использовали показатели: RSR (отношение сухой массы корней к сухой массе проростков); относительная RSR (отношение RSR варианта с повышенным содержанием ионов алюминия к RSR контрольного варианта) — в соответствии с рекомендациями Е.М. Лисицына [11].

Для оценки уровня влагообеспеченности использовали гидротермический коэффициент (ГТК) Г.Т. Селянинова.

Статистическую обработку данных выполняли методами дисперсионного, вариационного, корреляционного и регрессионного анализа по методике Б.А. Доспехова [6].

Математический анализ материала осуществляли с использованием компьютерной программы Microsoft Office Excel и пакета селекционно-генетических программ «AGROS», версия 2.07.

Метеорологические условия в годы проведения исследований значительно различались по температурному режиму и обеспеченности посевов влагой.  $2019~\rm r.$  с температурой воздуха в пределах климатической нормы и дефицитом осадков характеризовался как умеренно-влажный (ГТК = 1,37). В  $2020~\rm r.$  вегетация растений началась на  $3-17~\rm д$  дней раньше средних многолетних сроков, в течение лета было сухо с незначительными осадками (ГТК = 1,56). В  $2021~\rm r.$  преобладала теплая и жаркая сухая, лишь с периодически выпадающими локальными дождями, погода (ГТК = 1,23). Засушливые условия  $2021~\rm r.$ , сложившиеся в начальные фазы развития растений, отрицательно сказались на урожайности коллекционных образцов.

Таким образом, различающиеся погодные условия в годы исследований позволили всесторонне изучить коллекционный материал.

#### Результаты и их обсуждение

Урожайность — это интегральный показатель, зависящий от совокупности признаков и свойств растений и напрямую связанный с абиотическими факторами внешней среды, которые выражаются как климатическими, так и почвенными условиями, поэтому селекция на урожайность является одной из самых сложных задач [12].

Урожайность ячменя складывается из различных структурных показателей: продуктивной кустистости, длины колоса, количества колосков зерен в колосе, продуктивности главного колоса и растения в целом, массы 1000 зерен. Каждый из этих признаков в отдельности и их сочетание вносят определенный вклад в формирование продуктивности растения [14]. Наиболее благоприятные погодные условия для роста и развития растений ячменя сложились в 2020 г. Это способствовало проявлению потенциальных возможностей генотипов при формировании элементов структуры продуктивности и получению высокой урожайности (рис. 1).

У изученных образцов не удалось выявить ни один параметр, который бы в течение всех трех лет исследований был стабильно связан с урожайностью. Так, в 2019 и 2021 гг. более продуктивными были высокостебельные образцы, урожайность достоверно коррелировала с высотой растений (r = 0.37 и 0.38 соответственно), в 2020 г. наблюдали достоверную связь с кустистостью общей (r = 0.50) и продуктивной (r = 0.53), длиной колоса (r = 0.40) и массой зерна с растения (r = 0.39).

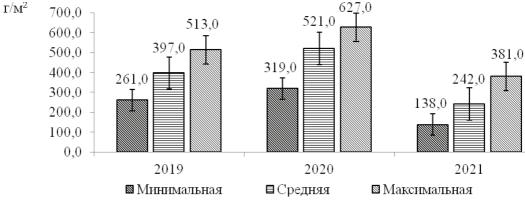


Рис. 1. Урожайность коллекционных образов

Таким образом, определяющим в выборе образцов для дальнейшей селекционной работы остается оценка по продуктивности в разные по условиям вегетации годы.

В среднем за годы изучения урожайность коллекционных образцов составляла  $387 \pm 9 \, \Gamma/\text{M}^2$ , показатели на уровне стандартного сорта Белгородский  $100 \, (453 \, \Gamma/\text{M}^2) \, были$  отмечены у 20 образцов. Выделялись генотипы Калькюль (465  $\Gamma/\text{M}^2$ ) и Буян (500  $\Gamma/\text{M}^2$ ), превысившие стандарт на 12 и 47  $\Gamma/\text{M}^2$  соответственно.

Наряду с образцами, отличающимися высокой урожайностью, селекционную ценность имеют генотипы, характеризующиеся высокими показателями по отдельным элементам структуры продуктивности. В результате многолетних исследований отмечены образцы, выделившиеся по массе зерна с колоса и растения. Достоверным превышением стандарта по продуктивности колоса отличались образцы Буян, Липень, растения — СDС Мс Gwire, по массе зерна с колоса и растения — Калькюль и С-105. Остальные образцы по продуктивности колоса и растения находились на уровне стандарта (табл. 1). Стандартный сорт Белгородский 100 характеризуется крупным, хорошо выполненным зерном и показателем «Масса 1000 зерен» до 48,5 г. Среди изучаемого набора не выделены образцы, достоверно превышающие стандарт по данному показателю, но определенный интерес представляют генотипы, имеющие массу 1000 зерен на уровне стандарта.

Таблица 1 Коллекционные образцы, выделившиеся по элементам продуктивности растений, 2019–2021 гг.

Образец /	Номер каталога** /	Масса зерна, г /	Mass of grain, g	Масса 1000 зерен, г/	Урожайность, г/м²/	
Sample	Catalog number**	с колоса / per ear	с растения / per plant	1000 зерен, т/ 1000-grain mass, g	Yield capacity, g/m²	
Белгородский 100, стандарт	я-201	0,82	1,37	47,8	453	
Bear	к-31049	0,94	1,74	42,2	369	
CDC Mc Gwire	к-31108	0,89	1,87*	37,6	321	
Калькюль	к-31170	1,01*	2,16*	46,8	465	
Докучаевский 10	к-31197	0,83	1,27	48,4	449	
Буян	к-31198	1,10*	1,80	46,2	500	
Оленёк	к-31199	0,98*	1,54	44,3	441	
C-105	к-31286	1,32*	1,90*	42,9	313	
Липень	к-31171	1,14*	1,44	42,7	394	
999–93	я-6	0,68	0,92	39,8	435	
Форсаж	к-31376	0,80	1,39	45,4	405	
Форвард	я-389	0,84	1,22	43,3	417	
HCP <sub>05</sub>		0,16	0,47	3,6	101	

<sup>\*</sup>Достоверное превышение над стандартом при P ≥ 0,95.

<sup>\*\*</sup>к – каталог ВИР; я – каталог ФГБНУ ФАНЦ Северо-Востока.

Установлено, что в отдельные годы урожайность ячменя в значительной мере зависела от способности растений куститься, а также от степени развития параметров колоса. В исследованиях выделился образец Калькюль, достоверно превышающий стандарт по общей и продуктивной кустистости (табл. 2). Длинным, хорошо озерненным колосом за все годы изучения отличались Bear, CDC Мс Gwire, Калькюль, Mauritia и др. По плотности колоса выделялся 999–93. Еще 5 образцов достоверно превысили стандарт по данному показателю.

Таблица 2 Коллекционные образцы, выделившиеся по одному или нескольким элементам структуры урожайности, 2019–2021 гг.

	Номер	Кустистость, шт/раст / tilling capacity, psc/plant		Колос / Ear				
Образец / Sample	каталога <sup>**</sup> / Catalog number**	общая / total	продуктивная / productive	длина, см / length,	плот- ность / the den-	количество, шт / number, psc.		
			production	cm	sity	колосков / spikes	зерен / grains	
Белгородский 100, стандарт	я-201	2,2	2,0	6,0	12,6	17,9	16,6	
Bear	к-31049	2,6	2,1	9,0*	11,8	24,4*	22,5*	
CDC Mc Gwire	к-31108	2,8	2,5	8,4*	13,6*	25,7*	23,4*	
Эвергрин	к-31169	2,5	2,2	7,1*	11,9	20,1	17,4	
Калькюль	к –31170	3,0*	2,7*	7,6*	12,7	22,2*	20,3*	
Mauritia	к-31190	1,8	1,6	6,9*	13,1	20,6*	18,6*	
Issota	к-31193	2,3	1,9	7,7*	11,9	20,6*	18,8*	
2033E	к-31191	2,0	1,7	6,9*	13,6*	21,8*	19,8*	
Юкатан	к-31097	1,9	1,6	8,0*	13,0	23,4*	21,3*	
Irbe (PR-3528)	к-31143	2,2	2,0	7,7*	13,2*	24,4*	22,9*	
Буян	к-31198	2,1	1,9	8,0*	13,8*	25,1*	23,0*	
Оленёк	к-31199	2,2	1,9	7,9*	13,0	23,5*	23,1*	
C-105	к-31286	1,9	1,7	5,4	12,0	43,3*	31,7*	
Липень	к-31171	1,5	1,4	5,6	11,2	41,8*	27,3*	
Форвард	я-389	2,0	1,7	6,2	13,2*	19,8	18,8*	
999–93	я-6	1,8	1,6	5,8	14,1*	18,8	16,8	
121–13	я-1	1,6	1,4	7,3*	11,7	20,4*	18,8*	
HCP <sub>05</sub>	P <sub>05</sub> 0,6 0,5 0,7 0,5 2,2			1,9				

<sup>\*</sup>Достоверное превышение над стандартом при  $P \ge 0.95$ .

<sup>\*\*</sup>к – каталог ВИР; я – каталог ФГБНУ ФАНЦ Северо-Востока.

Оптимальная продолжительность вегетационного периода генотипов ячменя способствует более полному использованию природных ресурсов конкретной почвенно-климатической зоны и в определенной мере помогает избегать негативного действия неблагоприятных факторов среды [13]. С продолжительностью вегетационного периода связано множество свойств, которые определяют размер и качество урожая, восприимчивость к поражению болезнями и вредителям [17].

По результатам исследования все образцы были отнесены к одной группе – среднеспелые. Их вегетационный период в среднем составлял от 73 до 77 (CV = 1,72%) дней. Наименьшим периодом от всходов до созревания, равным 73 дням, среди изученных генотипов отличались Медикум 11, Медикум 125 и Форсаж. Более длительным вегетационным периодом, составлявшим 77 дней, характеризовались образцы Эвергрин, Калькюль, 2033E.

Для дальнейшего использования изучаемых коллекционных образцов в селекционных программах по созданию сортов различных групп спелости изучение вегетационного периода образцов проводили с учетом продолжительности межфазных периодов. Погодные условия внесли существенные коррективы в их продолжительность. Значительные различия по продолжительности межфазных периодов «Всходы-кущение» и «Кущение-выход в трубку» наблюдали в 2021 г. Амплитуда изменчивости составляла 12 и 10 дня соответственно (табл. 4).

В селекции на сокращение продолжительности вегетационного периода определенную перспективу имеют образцы с минимальными в опытах межфазными периодами: «Всходы-кущение» (Медикум 125), «Кущение-выход в трубку» (Issota, Медикум 125, Докучаевский 10 и 121–13), «Выход в трубку-колошение» (Докучаевский 10, С-105 и Липень), «Колошение-созревание» (Веаг и СDС Мс Gwire). Для создания позднеспелых сортов выделены источники с более продолжительными периодами: «Всходы-кущение» (Issota, Respect C-105), «Кущение-выход в трубку» (2033Е), «Выход в трубку-колошение» (СDС Мс Gwire и Омский голозёрный 1), «Колошение-созревание» (Калькюль, Медикум 176 и Липень).

Таблица 3 Продолжительность межфазных периодов у коллекционных образцов

		Межфазный период, дни / The interphase period, days						
Параметры / Parameters	Год / Year	всходы-кущение / seedlings-tillering	кущение-выход в трубку / tillering-stem elongation	выход в трубку- колошение / stem elonga- tion-earing	колошение- созревание / earing-maturity			
	2019	17–19	16–19	6–14	29–37			
Min-max	2020	9–12	11–20	12–19	26–34			
	2021	12–24	6–16	9–17	28–34			
	2019	19	16	11	33			
Среднее	2020	10	15	16	31			
	2021	19	10	12	31			
	2019	2	3	8	8			
Амплитуда изменчивости	2020	3	9	7	8			
	2021	12	10	8	6			

Склонность к полеганию у зерновых культур ограничивает потенциал продуктивности. Полегание растений приводит к заметному изменению обменных процессов в растениях, к усиленному развитию грибковых заболеваний, понижению качества зерна и затрудняет уборку урожая [7].

В годы исследований наблюдали значительное варьирование устойчивости к полеганию у изученных образцов: от 5,0 до 9,0 балла. Различающиеся по условиям вегетации годы изучения способствовали более точной оценке коллекционных образцов. Провокационные условия сложились в 2020 г., когда низкой устойчивостью к полеганию характеризовались 50% генотипов, а средний балл устойчивости составлял 7,5. Полеганию части образцов в тот год способствовали ливневые дожди, сопровождавшиеся сильным ветром, а временами – и выпадением града. Наиболее благоприятным стал 2021 г., когда все генотипы обладали высокой устойчивостью к полеганию: от 8,0 до 9,0 балла (рис. 2).

Высокой устойчивостью к полеганию характеризовались 20 образцов, среди которых устойчивость к полеганию, равная 9,0 балла за все годы исследований, была выявлена у образцов Issota и Форсаж. Образцы Bear, Калькюль, Respect, Fitzroy (к-31174), 2033E, Юкатан, Irbe (PR-3528), Докучаевский 10, Липень, 999–93, Форсаж, Форвард, 121–13 и Омский голозёрный 1 сочетают высокую урожайность с устойчивостью к полеганию и рядом селекционно-ценных признаков.

Защита растений от болезней является гарантом получения стабильно высоких урожаев ячменя, так как болезни нередко приводят к снижению продуктивности посевов на 10–20% и выше, а иногда и к их гибели, ухудшению качества зерна и посевных свойств семян [20].

Оценку коллекционных образцов по устойчивости к пыльной головне проводили в условиях естественного инфекционного фона и при искусственном заражении в полевых условиях. В результате оценки на естественном инфекционном фоне выявлено, что уровень естественной инфекционной нагрузки патогена был достаточно слабым, о чем косвенным образом свидетельствует максимальное в опыте поражение образца-индикатора — от 3,8 до 10,1% во все годы исследований. В этих условиях большинство изученных коллекционных образцов характеризовалось высокой устойчивостью к пыльной головне, образец Эвергрин не поражался патогеном за все годы изучения.

Исследование сортов на инфекционном фоне при искусственном внесении инфекции в цветок показало, что в изучаемом наборе генотипов не было иммунных к U. nuda сортов. Практически все генотипы являлись сильно восприимчивыми к патогену (поражение -100% растений). Слабая восприимчивость отмечалась у образца Медикум 125 (22,2%).

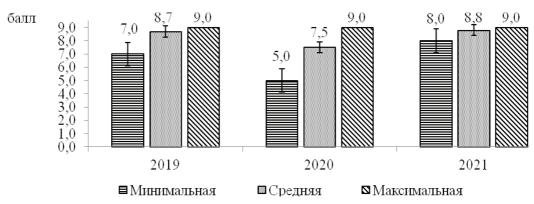


Рис. 2. Устойчивость к полеганию коллекционных образцов

На основании оценки коллекционных образцов в естественных условиях установлено, что степень поражения генотипов сетчатой пятнистостью в годы изучения варьировала от 5,0 до 44,0%. Наибольшее поражение образцов отмечалось в 2021 г. при максимальном поражении 44,0%. Большинство образцов имели среднюю устойчивость к *Drechslera teres*. Восприимчивостью к патогену характеризовались 2 образца: Эвергрин и Irbe (PR-3528), степень поражения листового аппарата которых составляла 33,0 и 44,0% соответственно. Менее других сетчатой пятнистостью поражались Бадьорий (к-31094) (13%), Медикум 11 (13,4%) и 121–13 (14,0%).

Степень поражения темно-бурой пятнистостью по годам изменялась от 8,0 до 27,5%. Наиболее провокационным для развития болезни являлся 2021 г., когда средний процент поражения растений составил 17,2%, а наибольший достигал 27,5% (Липень). Большинство образцов обладало средней устойчивостью к *Drechslera Sorokiana*. Наименьший процент поражения темно-бурой пятнистостью отмечался у образцов Омский голозерный 1 (14,5%), Bear (15,0%), Буян (15,0%), Форвард (15,0%).

Степень поражения полосатой пятнистостью в годы проведения исследований варьировала от 0 до 10,0%. Наибольшее развитие болезни отмечалось в 2020 г., когда максимальная степень поражения составляла 10,0%. Изученные генотипы обладали высокой устойчивостью или иммунитетом к *Drechslera graminea*. За годы изучения не поражались полосатой пятнистостью генотипы Эвергрин, Калькюль, Mauritia, Юкатан, Irbe (PR-3528), Докучаевский 10 и Форвард.

Потенциальная возможность сорта дать реальный урожай во многом определяется уровнем устойчивости сорта к стрессовым экологическим факторам окружающей среды [3]. Абиотические стрессы нарушают происходящие в растениях физиологические процессы, что ведет к ухудшению качества зерна (семян) и снижению урожайности зерновых культур более чем на 50% [1, 11].

Волго-Вятский регион считается зоной достаточного увлажнения, но в то же время для него характерно неравномерное выпадение осадков в течение вегетационного периода. Отклонения от среднегодовой нормы достигают 3–5-кратной величины. Засухи, совпадающие с критическими фазами в развитии растений, особенно участились в последние годы [21].

Высокоустойчивыми (процент проросших семян – 81–100%) к осмотическому стрессу на ранних этапах органогенеза являлись образцы 999–93, Форвард, 121–13, Омский голозёрный 1, Калькюль, Оленёк, Липень, Веаг, CDC MC Gwire, Эвергрин, 2033E, Медикум 11, Irbe (PR-3528).

Кроме всхожести, для оценки уровня устойчивости сорта к стрессовому фактору был использован индекс RSR. Показатель RSR варьировал от снижения на 19,8% у образца Веаг до увеличения на 273,0% у образца Медикум 125 (опыт относительно контроля). Большинство изученных образцов характеризовалось высокой относительной RSR, при этом они различались по показателю «Отклонение RSR».

Толерантностью к засухе характеризовались сорта Irbe (PR-3528), Медикум 11, 121–13 и C-105, сочетавшие высокие показатели лабораторной всхожести в условиях осмотического стресса и относительной RSR (табл. 5). Кроме того, все эти образцы обладали небольшим отклонением RSR.

Наименьшее отклонение RSR имел образец 121–13 (8,1%), что характеризует его как более устойчивый к засухе по сравнению с остальными.

На кислых дерново-подзолистых почвах, которые занимают около 80% пахотных земель европейского Северо-Востока, одной из основных фитоэкологических проблем является эдафический стресс, обусловленный кислым почвенным фоном с высоким содержанием подвижных ионов алюминия на фоне низкого естественного плодородия почв [4, 23].

# Коллекционные образцы с наименьшим отклонением RSR

Образец / Sample	Номер каталога*/		есть, %/ ation, %	Отклонение RSR, % /	
	Catalog number*	контроль / control	опыт/ test	Deviation in RSR, %	
Bear	к-31049	87,8	78,9	19,8	
Медикум 11	к-31138	53,3	78,9	34,0	
Irbe (PR-3528)	к-31143	84,4	82,2	30,8	
C-105	к-31286	83,3	63,3	17,7	
121–13	я-1	66,7	58,9	8,1	

<sup>\*</sup>к – каталог ВИР; я – каталог ФГБНУ ФАНЦ Северо-Востока.

Исследованные образцы различались по устойчивости к повышенному содержанию ионов алюминия. Показатель ИДК изменялся от 71,6 (999–93) до 110,9% (2033Е). По показателю ИДК все изучаемые генотипы являлись устойчивыми. Кроме того, у образцов 2033Е (110,9%), Медикум 11 (105,3%), Медикум 176 (100,3%), Докучаевский 10 (107,1%), Форвард (100,4%) и 121–13 (104,2%) был отмечен стимулирующий эффект алюминия на рост корневой системы (ИДК>100%).

Показатель относительного соотношения RSR изменялся от снижения на 26,4% (Калькюль) до увеличения на 10,3% (Respect) при оценке устойчивости сортов к повышенному содержанию ионов алюминия.

Среди изучаемых сортов по показателю RSR можно выделить образцы Кальколь (100,5%), Mauritia (101,0%), Issota (101,3%), Respect (110,3%), 2033E (109,4%), Медикум 11 (107,6%), Докучаевский 10 (106,5%).

Поскольку отдельные генотипы используют различные механизмы устойчивости в разной степени, то логичнее использовать сразу несколько параметров для оценки уровня устойчивости сорта к стрессовому воздействию. С другой стороны, оценить их вклад в интегральную устойчивость по абсолютным значениям является несколько затруднительным, поэтому согласно Методике лабораторной оценки алюмоустойчивости зерновых культур, разработанной (Lisitsyn, 2003), нами для принятия решения использовались относительные уровни развития того или иного признака.

Самыми устойчивыми к повышенному содержанию ионов алюминия являются сорта Медикум 176 и Форвард, суммарный индекс устойчивости которых составляет 2,0 и 1,0% соответственно.

Таким образом, в качестве исходного материала для создания сортов, устойчивых к алюмокислому стрессу (по показателям ИДК и RSR), рекомендуется использовать коллекционные образцы Веаг, Калькюль, Mauritia, Issota, Respect, Юкатан, 2033E, Медикум 11, Медикум 125, Медикум 176, Irbe (PR-3528), Докучаевский 10, Форвард и 121–13.

Таблица 5 **Коллекционные образцы, устойчивые к алюмокислому стрессу** 

Образец / Sample	Номер каталога* / catalog number*	ИДК, %/ RLI, %	Отклонение ИДК, % / Deviation in RLI, %	Отклонение RSR, % / Deviation in RSR, %	Суммарный индекс устойчивости / Total stability index
Bear	к-31049	99,1	0,9	5,8	6,7
Калькюль	к-31170	83,1	16,9	0,5	17,5
Mauritia	к-31190	89,1	10,9	1,0	11,9
Issota	к-31193	94,0	6,0	1,3	7,3
Respect	к-31186	95,6	4,4	10,3	14,7
Юкатан	к-31097	85,5	14,5	4,7	19,2
2033E	к-31191	110,9	10,9	9,4	20,3
Медикум 11	к-31138	105,3	5,3	7,6	12,9
Медикум 125	к-31139	92,6	7,4	4,5	11,9
Медикум 176	к-31140	100,3	0,3	1,7	2,0
Irbe (PR-3528)	к-31143	98,8	1,2	16,6	17,8
Докучаевский 10	к-31197	107,1	7,1	6,5	13,6
Форвард	я-389	100,4	0,4	0,6	1,0
121–13	я-1	104,2	4,2	6,1	10,3

<sup>\*</sup>к – каталог ВИР; я – каталог ФГБНУ ФАНЦ Северо-Востока.

#### Выводы

В результате проведенных исследований для условий Волго-Вятского региона выделены источники:

- Урожайности Докучаевский 10.
- Сочетающие высокую урожайность с высокими показателями некоторых элементов продуктивности: общая и продуктивная кустистость, длина и озерненность колоса, масса зерна с колоса и растения Калькюль; длина колоса Respect, Медикум 11, Медикум 176 и Омский голозёрный 1; длина и озерненность колоса Веаг, Юкатан, Оленёк и 121–13; длина, плотность и озерненность колоса Irbe (PR-3528) и 2033Е; длина и озерненность колоса и масса зерна с главного колоса Буян; плотность колоса Fitzroy, 999–93; плотность и озерненность колоса Форвард; озерненность колоса и масса зерна с главного колоса Липень.
- C наименьшим периодом от всходов до созревания (73 дня) Медикум 11, Медикум 125, Форсаж.
- Устойчивости к полеганию образцы: Калькюль, Respect, Fitzroy, 2033E, Юкатан, Irbe (PR-3528), Докучаевский 10, Липень, 999–93, Форсаж, Форвард, 121–13,

Омский голозёрный 1, CDC Mc Gwire, Эвергрин, Mauritia, Issota, Бадьорий и Медикум 125.

- Устойчивости в естественных условиях: к возбудителю пыльной головни Эвергрин; к полосатой пятнистости Эвергрин, Калькюль, Mauritia, Юкатан, Irbe (PR-3528), Докучаевский 10 и Форвард.
- Устойчивости к осмотическому стрессу на стадии проростков: Bear, Медикум 11, Irbe (PR-3528), 121–13 и C-105.
- Устойчивости к алюмокислому стрессу: Bear, Калькюль, Mauritia, Issota, Respect, Юкатан, 2033E, Медикум 11, Медикум 125, Медикум 176, Irbe (PR-3528), Докучаевский 10, Форвард и 121–13.

Выделенные коллекционные образцы будут использоваться для дальнейшей селекционной работы в качестве родительских форм при скрещивании.

# Библиографический список

- 1. Анисимова Н.Н., Ионова Е.В. Элементы структуры урожая сортов ярового ячменя и их вклад в формирование высокой продуктивности растений // Зерновое хозяйство России. -2016. -№ 5. C. 40–43.
- 2. Афанасенко О.С. Устойчивость ячменя к гемибиотрофным патогенам // Идентифицированный генофонд растений и селекция. СПб.: Государственный научный центр Российской Федерации «Всероссийский научно-исследовательский институт растениеводства им. Н.И. Вавилова» (ГНЦ РФ ВИР), 2005. С. 592—615.
- 3. Баталова Г.А. Овес в Волго-Вятском регионе: М. Киров: ООО «Орма», 2013.-288 с.
- 4. Волкова Л.В., Тулякова М.В. Влияние длительного эдафического стресса на характеристики проростков следующего поколения гибридов яровой пшеницы // Аграрная наука Евро-Северо-Востока. -2021. № 22 (4). С. 466–476.
- 5. Диагностика устойчивости растений к стрессовым воздействиям: методическое руководство / Под ред. Г.В. Удовенко. Л.: ВИР, 1988. 227 с.
  - 6. Доспехов Б.А. Методика полевого опыта: M. M.: Колос, 1985. 416 с.
- 7. Ковригина Л.Н., Заушинцена А.В. Источники устойчивости ярового ячменя к полеганию // Вестник Красноярского государственного аграрного университета. 2010. № 1. С. 57—62.
- 8. *Кривченко В.И., Хохлова А.П.* Головневые болезни зерновых культур. Изучение генетических ресурсов зерновых культур по устойчивости к вредным организмам: Методическое пособие. М.: Типография Россельхозакадемии, 2008. С. 32–85.
- 9. Ланочкина М.А., Блохин В.И. Оценка мирового генофонда ячменя // Современные технологии выращивания сельскохозяйственных культур. -2015. -C. 96-106.
- 10. Лисицын Е.М. Методика лабораторной оценки алюмоустойчивости зерновых культур // Доклады РАСХН. -2003. № 3. C. 5-7.
- 11.  $\overline{\it Лисицын}$  E.M. Физиологические параметры корневых систем в селекции зерновых культур на абиотическую устойчивость // Вестник Марийского государственного университета. Серия «Сельскохозяйственные науки. Экономические науки». -2018. T. 4, № 3. C. 7–44.
- 12. Ляпкало Л.А., Хронюк В.Б. Изучение коллекционного материала ярового ячменя для селекционных целей // Современная техника и технологии. 2016.  $N_2$  6. С. 55—60.
- 13. *Мальчиков П.Н.*, *Мясникова М.Г.* Возможности создания сортов яровой твердой пшеницы (*Triticum durum* Desf.) с широкой изменчивостью параметров вегетационного периода // Вавиловский журнал генетики и селекции. -2015. -T. 19, № 2. -C. 176-184.

- 14. *Махмудова К.Х., Богданова Е.Д., Кирикович С.С., Левитес Е.В.* Оценка стабильности признаков, индуцированных тритоном X-100 у мягкой пшеницы (Triticum aestivum L.) // Вавиловский журнал генетики и селекции. -2014. T. 16, № 1. C. 193-201.
- 15. Международный классификатор СЭВ рода *Hordeum* L. / Сост. Я. Лекеш, И. Береш, А. Форал, И. Одигнал, Ф. Ружичка, М. Бобек, А. Трофимовская, М. Лукьянова, В. Корнейчук, Н. Ильина, Н. Ярош. Ленинград: ВИР, 1983. 50 с.
- 16. Методические указания по изучению и сохранению мировой коллекции ячменя и овса / Под ред. д-ра биол. наук И.Г. Лоскутова. СПб.: ООО «Копи-Р», 2012. 64 с.
- 17. Наумкин Д.В. Влияние погодных условий и генотипа ячменя ярового на продолжительность вегетационного периода в условиях ЦЧР // Экологизация сельскохозяйственного производства: Сборник Всероссийской (Национальной) научно-практической конференции студентов, аспирантов, молодых ученых и специалистов. Орёл: Изд-во Орловского ГАУ, 2021. С. 154–160.
- 18. Павлова Н.А., Муругова Г.А., Клыков А.Г. Использование двурядных и многорядных форм ярового ячменя в гибридизации в условиях Приморского края // Вестник Красноярского государственного аграрного университета. -2015.  $\infty$  5. С. 126—130.
- 19. *Тимошенкова Т.А*. Доноры устойчивости к болезням ячменя и твердой пшеницы для селекции в степной зоне Оренбургского Предуралья // Животноводство и кормопроизводство. -2017. -№ 4 (100). C. 234–239.
- 20. Фатуллаев П.У. Изучение болезни ячменя в условиях Нахчыванской автономной республики Азербайджана // Тенденции развития науки и образования. 2019. № 52–3. С. 63–68.
- 21. *Щенникова И.Н., Кокина Л.П.* Приоритетные направления и некоторые результаты селекции ярового ячменя в Волго-Вятском регионе // Известия Самарского научного центра Российской академии наук. 2018. Т. 20, № 2–2. С. 214–219.
- 22. Щенникова И.Н., Шешегова Т.К., Кокина Л.П., Зайцева И.Ю., Ковалёва О.Н. Биоресурсы ячменя ярового для селекции новых коммерческих сортов в условиях Волго-Вятского региона: Методическое руководство / Под ред. акад. РАН Г.А. Баталовой. Киров: ФГБНУ ФАНЦ Северо-Востока, 2022. 28 с. URL: http://fanc-sv.ru//uploads/docs/2022/Биоресурсы-ячменя-2022.pdf.
- 23. Яковлева О.В. Фитотоксичность ионов алюминия // Труды по прикладной ботанике, генетике и селекции. -2018. − Т. 179, № 3. − С. 315–331.

# GENETIC RESOURCES FOR PRIORITY CONCEPTS OF SPRING BARLEY BREEDING IN THE VOLGA-VYATKA REGION

#### I.YU. ZAYTSEVA, I.N. SHCHENNIKOVA

(Federal Agricultural Research Center of the North-East named after N.V. Rudnitsky)

At present, the yield of barley varies greatly from year to year. This is due to changes in soil and climatic conditions. In this regard, the problem of selecting new source material for the creation of varieties capable of resisting the action of abiotic and biotic stresses is acute. The study of the global gene pool of spring barley under the conditions of the Volga-Vyatka region helps to identify adaptive forms with a complex or individual traits and properties that meet modern breeding objectives. Thus, the aim of the research is to identify sources for spring barley breeding under the conditions of the Volga-Vyatka region of the Russian Federation based on the evaluation of collection samples of different ecological and geographical origin for yield and a complex of valuable breeding traits. The experimental work was carried out in 2019–2021 at FARC North-East. The research object was 26 samples of spring barley of different ecological and geographical

origin from the collection of the All-Russian Institute of Plant Genetic Resources named after N.I. Vavilov (23 samples) and FARC North-East. The collection was studied according to the Methodological Guidelines for the Study and Preservation of the World Collection of Barley and Oats (2012) and the International Comecon List of Descriptors for the genus Hordeum L. (subgen. Hordeum) (1983). The samples were evaluated for dusty smut on the basis of the scale of V.I. Krivechnko, A.P. Khokhlova (2008) and for leaf diseases according to the scale of O.S. Afanasenko (2005). Drought resistance of spring barley was studied by the laboratory method of VIR (1988). The evaluation of varieties against alumina stress was carried out according to the methodology of laboratory evaluation of aluminum resistance of grain crops (2003) and the recommendations of E.M. Lisitsyn (2018). As a result of the conducted research, the sources of economically valuable traits were identified: yield capacity – 1; combination of high yield capacity with high indicators of some elements of productivity – 15; with the shortest period from germination to maturity – 3; resistance to lodging – 19; resistance in vivo: to the causative agent of dusty smut – 1; stripe disease – 7; resistance to osmotic stress at the seedling stage – 5 and to alumina stress – 14.

**Key words:** yield, productivity elements, lodging resistance, dusty smut, spotting, drought resistance, acid resistance.

#### References

- 1. Anisimova N.N., Ionova E.V. Elements of the Yield Structure of Spring Barley Varieties and Their Contribution to The Formation of High Plant Productivity. Zernovoe khozyaystvo Rossii. 2016; 5: 40–43. (In Rus.)
- 2. Afanasenko O.S. Barley Resistance to Hemibiotjpphic Pathogens. Identifitsirovanniy genofond rasteniy i selektsiya. Saint Petersburg; 2005: 592–615. (In Rus.)
  - 3. Batalova G.A. Oats in the Volga-Vyatka Region. Kirov: OOO "Orma", 2013: 288. (In Rus.)
- 4. *Volkova L.V., Tulyakova M.V.* Effect of Long-Term Edaphic Stress on the Characteristics of Seedlings of the Next Generation of Spring Wheat Hybrids. Agrarnaya nauka Evro-Severo-Vostoka. 2021; 22 (4): 466–476. (In Rus.)
- 5. Diagnosis of Plant Resistance to Stress: Methodological Guide. Ed. by Udovenko G.V. Leningrad: VIR, 1988: 277. (In Rus.)
  - 6. Dospekhov B.A. Methodology of Field Experiment. Moscow: Kolos, 1985: 416. (In Rus.)
- 7. Kovrigina L.N., Zaushintsena A.V. Sources of Summer Barley Resistance to Lodging. Vestnik Krasnoyarskogo gosudarstvennogo agrarnogo universiteta. 2010; 1: 57–62. (In Rus.)
- 8. Krivchenko V.I., Khokhlova A.P. Smut Diseases of Grain Crops. Study of genetic Resources of Grain Crops for Resistance to Harmful Organisms. Study Guide]. Moscow: Tip. Rossel'khozakademii, 2008: 32–85. (In Rus.)
- 9. *Lanochkina M.A.*, *Blokhin V.I.* Evaluation of the Global Barley Gene Pool. Sovremennye tekhnologii vyrashchivaniya sel'skokhozyaystvennykh kul'tur. 2015: 96–106. (In Rus.)
- 10. *Lisitsyn E.M.* Methods for Laboratory Evaluation of Alum Stability in Grain Crops. Doklady Rossiyskoy akademii sel'skokhozyaystvennykh nauk. 2003; 3: 5–7. (In Rus.)
- 11. *Lisitsyn E.M.* Physiological Parameters of Root Systems in the Selection of Grain Crops for Abiotic Resistance. Vestnik Mariyskogo gosudarstvennogo universiteta Seriya "Sel'skokhozyaystvennye nauki. Ekonomicheskie nauki". 2018; 4; 3: 7–44. (In Rus.)
- 12. *Lyapkalo L.A.*, *Khronyuk V.B.* Study of Collection Material Spring Barley for Breeding Purposes. Sovremennaya tekhnika i tekhnologii. 2016; 6: 55–60. (In Rus.)
- 13. *Mal'chikov P.N., Myasnikova M.G.* Approaches to the Development of Durum Wheat Cultivars (*Triticum Durum* Desf.) with Wide Variability of the Growing Season. Vavilovskiy zhurnal genetiki i selektsii. 2015; 19; 2: 176–184. (In Rus.)
- 14. Makhmudova K.Kh., Bogdanova E.D., Kirikovich S.S., Levites E.V. Evaluation of the Stability of Traits Induced by Triton X-100 in Common Wheat (*Triticum Aestivum* L.). Vavilovskiy zhurnal genetiki i selektsii. 2014; 16; 1: 193–201. (In Rus.)

- 15. Lekesh J., Baresh I., Foral A., Odignal V., Ruschichka F., Bobek M et al. International Comecon List of Descriptors for the Genus Hordeum L. (Subgen. Hordeum). Leningrad: VIR, 1983: 50. (In Rus.)
- 16. Methodological Guidelines for the Study and Preservation of the World Collection of Barley and Oats. Ed. by DSc (Bio) I.G. Loskutov. St. Petersburg, 2012: 64. (In Rus.)
- 17. *Naumkin D.V.* Effect of Weather Conditions and Genotype of Spring Barley on the Duration of the Growing Season in the Central Chernozem Region. (Ekologizatsiya sel'skokhozyaystvennogo proizvodstva: Sbornik Vserossiyskoy (Natsional'noy) nauchno-prakticheskoy konferentsii studentov, aspirantov, molodykh uchenykh i spetsialistov. Orel, 2021: 154–160. (In Rus.)
- 18. Pavlova N.A., Murugova G.A., Klykov A.G. Use of the Double-Row and the Multi-Row Spring Barley Forms for Hybridization under the Primorsky Krai Conditions. Vestnik Krasnoyarskogo gosudarstvennogo agrarnogo universiteta. 2015; 5: 126–130. (In Rus.)
- 19. *Timoshenkova T.A.* Donors of Resistance to Diseases of Barley and Hard Wheat for Selection in the Steppe Zone of Orenburg Cis-Urals. Zhivotnovodstvo i kormoproizvodstvo. 2017; 4(100): 234–239. (In Rus.)
- 20. Fatullaev P.U. Study of Barley Disease under the Conditions of the Nakhchivan Autonomous Republic of Azerbaijan. Tendentsii razvitiya nauki i obrazovaniya. 2019; 52–3: 63–68. (In Rus.)
- 21. Shchennikova I.N., Kokina L.P. Priority Directions and Some Results of Spring Barley Breeding in Volga-Vyatka Region. Izvestiya Samarskogo nauchnogo tsentra Rossiyskoy akademii nauk. 2018; 20; 2–2: 214–219. (In Rus.)
- 22. Shchennikova I.N., Sheshegova T.K., Kokina L.P., Zaytseva I.Yu., Kovaleva O.N. Bioresources of Spring Barley for Breeding New Commercial Varieties under the Conditions of the Volga-Vyatka Region. Methodological Guide. Ed. by Academician of the Russian Academy of Sciences G.A. Batalova. Kirov, 2022: 28. (In Rus.)
- 23. Yakovleva O.V. Phytotoxicity of Aluminum Ions. Trudy po prikladnoy botanike, genetike i selektsii. 2018; 179; 3: 315–331. (In Rus.)

Зайцева Ирина Юрьевна, младший научный лабосотрудник первичного семеноводства ячменя ФГБНУ ФАНЦ селекции И Северо-Востока имени Н.В. Рудницкого; 610007, Российская Федерация, г. Киров, ул. Ленина, 166a; e-mail: irina-zajjceva30@rambler.ru; тел. (раб.): (332) 33-10-26; тел. (моб.): (900) 528–38–96; ORCID: https://orcid.org/0000–0002–1228–2151

Щенникова Ирина Николаевна, д-р с.-х. наук, член-корреспондент РАН, заведующий лабораторией селекции и первичного семеноводства ячменя ФГБНУ ФАНЦ Северо-Востока имени Н.В. Рудницкого; 610007, Российская Федерация, г. Киров, ул. Ленина, 166a; e-mail: i.schennikova@mail.ru; тел. (раб.): (332) 33–10–26; тел. (моб.): (912) 737–63–44; ORCID: https://orcid.org/0000–0002–5143–9246

**Irina Yu. Zaytseva,** Junior Research Associate, Laboratory of Breeding and Primary Seed Production of Barley, Federal Agricultural Research Center of the North-East named after N.V. Rudnitsky (166a, Lenina Str., Kirov, 610007, Russian Federation; phones: (332) 33–10–26, (900) 528–38–96; E-mail: irina-zajjceva30@rambler.ru; ORCID: https://orcid.org/0000–0002–1228–2151)

Irina N. Schennikova, DSc (Ag), Corresponding Member of the Russian Academy of Sciences, Head of the Laboratory of Breeding and Primary Seed Production of Barley, Federal Agricultural Research Center of the North-East named after N.V. Rudnitsky (166a, Lenina Str., Kirov, 610007, Russian Federation; phones: (332) 33–10–26, (912) 737–63–44; E-mail: i.schennikova@mail.ru; ORCID: https://orcid.org/0000–0002–5143–9246)

УДК 633.854.78:527.33:631.527.33 DOI: 10.26897/0021-342X-2023-3-87-99

# ИЗУЧЕНИЕ ИСХОДНОГО МАТЕРИАЛА СОРТООБРАЗЦОВ ПОДСОЛНЕЧНИКА ПО ПРИЗНАКУ «ПЛОЩАДЬ КОРЗИНКИ» В УСЛОВИЯХ НИЖНЕГО ПОВОЛЖЬЯ

С.А. ГУСЕВА<sup>1</sup>, О.С. НОСКО<sup>1</sup>, С.П. КУДРЯШОВ<sup>2</sup>, В.Н. ЧЕХОНИН<sup>2</sup>

 $(^{1}\Phi$  ГБНУ РосНИИСК «Россорго»  $^{2}\Phi$  АНЦ «НИИСХ Юго-Востока»)

Метеоусловия в годы проведения опыта складывались по-разному. гидротермический коэффициент (май-август) в 2016 г. составил 0,481, в 2017 г. — 0,975, в 2018 г. — 0,521. Выявлены сортообразцы подсолнечника с высокими эффектами ОКС: 2016 г. — Вейделевский, Мэлин, Крепыш, Фортими; 2017 г. — Патриот, Фортими; 2018 г. — Шолоховский, Фортими. Относительно стабильные высокие эффекты ОКС отмечены у генотипа Фортими.

Наибольшую дисперсию СКС за 3 года опыта зафиксировали у образца Любо, а у генотипа Фортими — относительно высокие и стабильные показатели, что может послужить основанием вовлечения данных образцов в скрещивание для создания высокогетерозисных гибридов по изучаемому признаку.

Среди тестеров высокий эффект ОКС отметили у ЮВ166, а высокую вариансу – у КСП228.

Эффекты СКС экспериментальных гибридов варьировали по годам. Высокие показатели выявлены у комбинации скрещивания КСП232/Любо в годы с повышенной влажностью в начале вегетации. Комбинация скрещивания КСП228/Любо демонстрировала высокие эффекты СКС в годы, контрастные по влагообеспеченности (2017, 2018). Невысокие, но стабильно положительные значения в различных условиях внешней среды показали экспериментальные гибриды: КСП228/Крепыш; ЮВ166/Светлана; КСП232/Степной 81; КСП228/Патриот; ЮВ166/Фортими; КСП228/ЮВС3; ЮВ166/ЮВС3.

По соотношению средних квадратов отклонений ОКС/СКС было установлено превалирование аддитивных эффектов генов над доминантными.

**Ключевые слова:** подсолнечник, комбинационная способность, площадь корзинки, эффект ОКС, дисперсия СКС, эффект СКС, гибрид F1.

#### Введение

В большинстве случаев оценка генотипов подсолнечника производится по двум основным признакам: урожайность семянок и содержание жира в них. Тем не менее его селекция проводится и по комплексу других признаков: период вегетации, высота растений, фотосинтетический потенциал, размер соцветия, масса 1000 семян, лузжистость и т.д., так как урожайность и содержание жира в семенах зависят не от конкретного признака, а от их совокупности [19].

Значимым признаком, влияющим на урожайность семянок, является площадь корзинки. Ученые Индии и Болгарии установили, что с ее размером связаны такие важные показатели, как количество семянок в корзинке ( $\Gamma = 0,66$ ), масса 1000 семянок ( $\Gamma = 0,56$ ), масличность семянок ( $\Gamma = 0,40$ ) [2, 3]. Российскими учеными также выявлена и достоверная положительная корреляционная связь между количеством семянок и размером корзинки, а также между ее размером и урожайностью [7, 8]. На образование соцветия, величину и будущее число семянок влияют генотип, его отзывчивость на условия возделывания, а также различные факторы окружающей среды: погодные условия, технология обработки почвы, загущенность посевов и т.д. [6, 11, 15, 17].

Выявлена отрицательная корреляционная зависимость размера соцветия от густоты стояния растений (r=-0.98), что в итоге отражается на урожайности [18]. Тем не менее генотипы, имеющие слишком большую корзинку, обладают и отрицательными свойствами — такими, как длительное созревание, большая подверженность заболеваниям. Крупное соцветие подсолнечника свойственно кондитерским и кормовым сортам, для масличных характерен средний размер корзинки ( $20-25\ \text{cm}$ ) [6,  $12,\ 15$ ].

При создании адаптивного генотипа, который бы имел высокий потенциал продуктивности для широкого ареала возделывания, а также для создания гибридов с высоким эффектом гетерозиса по тому или иному признаку необходимо учитывать факторы, детерминирующие урожайность семян, и располагать эффективными генетическими донорами нужного признака. Следовательно, важно выявить исходные формы с высокой комбинационной способностью, а также необходим хорошо изученный исходный материал [4, 14], что позволит ускорить процесс отбора и снизить затраты труда выбраковкой бесперспективных образцов. Основным способом диагностики является оценка комбинационной способности, которая подразделяется на общую (ОКС) и специфическую (СКС) в тестерных скрещиваниях [12, 13]. Потомства с высокой оценкой ОКС включают в дальнейшем в диаллельные скрещивания для определения специфической комбинационной способности. По сведениям некоторых ученых, некоторые генотипы значимо реагируют на изменение условий окружающей среды, и как следствие – наблюдаются отличия в оценке ОКС и СКС (ОКС в меньшей степени, чем СКС) [1, 4, 5]. Поэтому при оценке сортообразцов и их комбинационной способности необходимо учитывать изменчивость абиотических факторов [20].

**Цель исследований:** изучение комбинационной способности исходного материала подсолнечника по площади корзинки, расчет эффектов СКС полученных экспериментальных гибридов и определение генетического контроля признака.

# Материал и методы исследований

Посев проводили на опытном поле ФГБНУ РосНИИСК «Россорго» в трех-кратной повторности. Предшественником служил черный пар. Густота стояния растений – 4,5 на 1 м². Площадь учетной делянки – 7,7 м² (2 ряда длиной 5,5 м; ширина междурядий – 70 см). Размещение – рендомизированное. На фоне внесения почвенного гербицида «гезагард» (доза – 3п/га, расход рабочей жидкости – 250 п/га) производили одну междурядную обработку культиватором КРН-2,8.

При оценке комбинационной способности сортообразцов и линий методом топкросса все исследуемые образцы скрещиваются с общим тестером, количество

которых должно быть не менее 2 [16, 17]. В наших исследованиях использовали 3 тестера: стерильные линии КСП232, КСП228 и ЮВ16б.

Диаметр корзинки измеряли в фазу физиологической спелости, через 2 недели после окончания цветения. Площадь корзинки рассчитывали математически по формуле:  $S = \pi r 2$ .

Для статистической обработки результатов использовали однофакторный дисперсионный анализ методом рендомизированных блоков, а также расчет коэффициента корреляции и корреляционного отношения [10]. Для оценки тесноты связи использовали шкалу Чеддока.

Комбинационную способность компонентов скрещиваний оценивали по методу топкросса [16]. Статистическую обработку экспериментальных результатов исследований выполняли с помощью программ Excel и AGROS 2.09.

#### Результаты и их обсуждение

При изучении взаимосвязей признаков подсолнечника была выявлена статистиски значимая корреляция между площадью корзинки и массой семян с корзинки (r=0,78), что согласуется с исследованиями A.R. Pattak, M.U. Kukodia, B.A. Kunadia и D. Petacova (рис. 1). Кроме того, для более полной характеристики линейной зависимости был произведен расчет корреляционного отношения ( $\eta$ ). Всегда имеет место соотношение  $\eta \ge r$ , при линейной зависимости корреляционное отношение тождественно коэффициенту корреляции ( $r=\eta$ ). В наших расчетах  $\eta=0,81$ , а разница с коэффициентом корреляции составила 0,03, что практически равно нулю. Следовательно, между размером корзинки и массой семянок с корзинки существует значимая линейная взаимосвязь, и при селекции на продуктивность не стоит пренебрегать изучаемым признаком.

Наиболее ценными являются генотипы, сочетающие в себе высокие значения общей и специфической комбинационной способности и характеризующиеся стабильностью высоких оценок в разных условиях окружающей среды. При этом формы, проявляющие высокие эффекты ОКС, рекомендуют использовать в селекции синтетических популяций, а высокую дисперсию СКС – для создания высокогетерозисных гибридов.

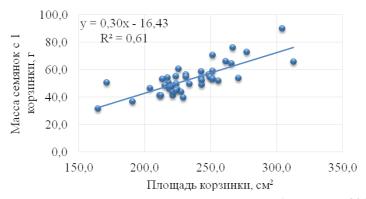


Рис. 1. Взаимосвязь площади корзинки и массы семянок с 1 корзинки, 2016-2018 гг. (по горизонтальной оси отмечены значения площади корзинки, см², по вертикальной – масса семянок с корзинки, г, – продуктивность) Примечание.  $F_{\phi a \kappa r} = 63,02*$ , sb = 0,037, sy = 6,97,  $\alpha = 8,07214$ E-10 = 0,000081<0,05.  $*F_{\phi a \kappa r} > F_{reop}$  (здесь и далее).

Метеоусловия в годы проведения опыта складывались по-разному. Максимальное количество осадков в вегетационный период выпало в 2017 г. ( $\Sigma=222\,$  мм), что значительно превысило средние многолетние данные. Разница между 2016 г. ( $\Sigma=123\,$  мм) и 2018 г. ( $\Sigma=133\,$  мм) была несущественной. Тем не менее в 2018 г. первая треть периода вегетации подсолнечника была значительно более засушливой, чем в 2016 г. (42 мм и 86 мм соответственно), а основная доля осадков пришлась на июль. Август в течение всех трех лет исследований был засушливым, а количество атмосферных осадков — значительно ниже многолетних данных.

В первой половине вегетации 2017 г. средняя температура была ниже средней многолетней. Наиболее жарким месяцем в 2016 и 2018 гг. был июль, а в августе максимальная средняя температура зафиксирована в 2016 г. (на 4,9 °С выше средних многолетних данных). Гидротермический коэффициент периода вегетации в 2016 г. составил 0,481, в 2017 г. – 0,975, в 2018 г. – 0,521. Исследования этого же периода в других научных учреждениях показали, что в соответствии с индексом условий среды 2016 г. (–6,58) был наиболее неблагоприятным для выращивания подсолнечника, а противоположным ему был 2017 г. (9,66) [9].



Рис. 2. Площадь корзинки сортообразцов подсолнечника, см², 2016—2018 гг.

Примечание. 1) Саратовский 20; 2) УН 1305; 3) Фотон; 4) Белгородский 94; 5) Богучарец; 6) Сластена; 7) Степной 81; 8) Вейделевский 99; 9) Посейдон 625; 10) Беркут; 11) УН 1304; 12) Оракул; 13) Шолоховский; 14) Вейделевский; 15) Воронежский 638; 16) Орлан; 17) Олигарх; 18) Надежда; 19) Светлана; 20) РR62A91; 21) Юпитер; 22) Континент; 23) Харьковский 49; 24) Махаон; 25) Мэлин; 26) Крепыш; 27) Любо; 28) Махаон 40; 29) Эверест; 30) Армони; 31) Рокки; 32) ЮВС-3; 33) Натали; 34) Крупняк; 35) Изабелла; 36) Фортими; 37) Тутти; 38) Мартын; 39) Оливер; 40) Старбелла; 41) Белла; 42) Патриот; 43) УН 1313.

Таблица 1 Результаты дисперсионного анализа сортообразцов подсолнечника по признаку «Площадь корзинки», 2016–2018 гг.

Сортообразец	2016 г.	2017 г.	2018 г.	2016–2018 гг.
Среднее, см²	176,5	280,54	247,76	234,57
F <sub>факт</sub>	11,25*	4,33*	11,82*	3,17*
HCP <sub>0,05</sub>	21,73	56,27	36,25	43,57

При оценке изучаемого признака у родительских форм (опылители) в течение трех лет опыта отметили их изменчивость в зависимости от года испытаний (рис. 2, табл. 1). Наиболее низкие значения признака отцовских форм выявили в 2016 г. (интервал варьирования составил 115,5...238,6 см²), высокие — в 2017 г. (183,1...424,1 см²). Крупную корзинку формировали сортообразцы Патриот, УН1313, Орлан, Крупняк; мелкую — Белгородский 94, Мартын, Харьковский 49. Невысокие, но относительно стабильные значения признака по годам наблюдали у образцов Белгородский 94, Махаон, РR62A91, Посейдон 625.

Размах варьирования и средние значения признака тестеров также значимо различались по годам: разница между контрастными 2016 г. и 2017 г. составила 63,4%. Минимальный размер соцветия отметили у линии КСП232 в 2016 г., максимальный – у КСП228 в 2017 г. В среднем за 3 года крупную корзинку формировал тестер КСП228.

Выявлена значительная изменчивость эффектов ОКС по годам. Так, экстремумы значений составили:  $2016 \, \text{г.-(min} = -24,82)$ , (max = 31,01);  $2017 \, \text{г.-(min} = -42,23)$ , max (= 86,07);  $2018 \, \text{г.-min} (= -54,99)$ , max (= 43,98); средние за  $3 \, \text{года} - (\text{min} = -27,76)$ ; max (= 39,97) (табл. 3).

В среднем за 2016—2018 гг. высокие значения констатировали у генотипа Фортими, демонстрировавшего все 3 года относительно высокие показатели. Значимую реакцию на сложившиеся метеоусловия и другие факторы внешней среды выявили у генотипа Патриот, показавшего максимальный эффект ОКС (86,07) во влажный 2017 г., но в остальные годы показатели были отрицательными. Существенную разницу оценки эффектов зафиксировали также у сортообразцов: Вейделевский 99; Натали; Шолоховский; Крупняк; Вейделевский; Любо; Бэлла; Изабелла; Крепыш; ЮВСЗ; УН1313; Махаон; Степной 81. У образца Сластёна установили относительно высокие эффекты ОКС в годы с повышенной влажностью в начале вегетации. Также выявлены образцы, демонстрировавшие стабильные низкие эффекты ОКС (УН1305, Посейдон 625, Белгородский 94, Светлана, Юпитер, Континент). Поскольку селекция подсолнечника ведется в разных направлениях (производство масла, кормопроизводство, кондитерские, технические цели), то низкая комбинационная способность по изучаемому признаку также может быть использована в скрещиваниях.

Таблица 2 Результаты дисперсионного анализа тестеров по признаку «Площадь корзинки», см², 2016–2018 гг.

F		Charus			
Годы	КСП232 КСП228		ЮВ16б	Среднее	
2016	91,6	132,7	134,7	119,7	
2017	181,4	211,1	174,3	188,9	
2018	151,7	191,0	158,3	167,0	
2016–2018	141,6	178,3	155,8	158,5	
F <sub>факт</sub>	19,35*			-	
HCP <sub>0,05</sub>		-			

Таблица 3 Эффекты ОКС сортообразцов подсолнечника по площади корзинки, 2016–2018 гг.

	•		_	
Сортообразец	2016 г.	2017 г.	2018 г.	Среднее
Сластена	18,18	24,51	-8,92	11,27
Степной 81	-4,59	-24,69	15,15	-4,69
Саратовский 20	6,94	-9,56	11,81	3,07
УН 1305	-6,02	-22,36	-54,99	-27,76
УН 1313	18,68	-9,13	4,61	4,71
Вейделевский 99	-10,36	23,14	-10,35	0,81
Посейдон 625	-7,32	-14,36	4,95	-5,59
Фотон	-8,22	1,04	-3,79	-3,63
Натали	13,48	-5,39	21,51	9,87
Белгородский 94	-20,86	-13,03	-5,05	-12,96
Махаон	5,98	-18,09	-28,39	-13,49
Шолоховский	-1,32	5,21	35,68	13,21
Крупняк	1,54	20,11	-4,85	5,61
Вейделевский	29,91	-42,23	14,38	0,64
Мэлин	31,01	-9,36	14,45	12,04
Крепыш	22,44	-2,59	-10,29	3,21
Олигарх	-11,32	-5,96	2,81	-4,86
Любо	-23,59	19,14	-0,92	-1,83
Светлана	-6,96	1,54	-9,02	-4,83
Изабелла	-21,52	22,51	-5,92	-1,63
Белла	-7,86	-12,93	15,51	-1,79
Юпитер	-7,86	-4,63	-9,62	-7,39
Континент	-24,82	-30,39	-28,12	-27,76
Фортими	24,28	51,64	43,98	39,97
Патриот	-11,86	86,07	-0,89	24,44
ЮВС-3	2,08	-30,23	-3,75	-10,63
HCP <sub>0,05</sub>	9,63	12,71	11,74	8,32
	Эффек	ты ОКС тестеров		
КСП232	-4,7423	11,0026	-1,20	1,69
КСП228	-0,5615	-7,7128	-3,14	-3,81
ЮВ16б	5,3039	-3,2898	4,34	2,12

Среди тестеров варьирование эффектов составило -7,71...11,00. Максимальный показатель отметили у линии КСП232 г., а минимальный — у КСП228 в 2017. В среднем за 3 года высокий эффект ОКС зафиксировали у линии ЮВ166, низкий — у КСП228.

Экстремумы значений дисперсии СКС составили: 2016 г. – (min = 0,58), (max = 1825,78); 2017 г. – (min = 33,45), (max = 5106,07); 2018 г. – (min = 2,04), (max = 2656,66); средние за 3 года – (min = 21,14); (max = 2425,12) (табл. 4).

Выявлены сортообразцы с высокой вариансой: 2016 г. — Саратовский 20, Крепыш, Олигарх, Фортими; 2017 г. — Любо; 2018 г. — Любо, ЮВСЗ; среднее за 2016—2018 гг. — Любо, Фортими, ЮВСЗ. В течение трех лет исследования у образца Любо фиксировали значимую дисперсию СКС, и его можно рекомендовать для селекции высокогетерозисных гибридов. ЮВСЗ показал довольно высокие результаты в 2017 и 2018 гг. У генотипа Фортими выявлены высокие и выше среднего показатели в течение всех лет проведения опыта. Установлено, что образцы, проявляющие значимые эффекты ОКС и дисперсию СКС, могут использоваться в селекции как синтетических сортов, так и высокогетерозисных гибридов. В нашем опыте таковым является генотип Фортими. Образцы, показавшие при их изучении высокие значения признака (Патриот, УН1313, Крупняк), не выделились при оценке комбинационной способности.

В процессе изучения источников литературы выявлено, что некоторые генотипы значимо реагируют на изменение условий окружающей среды, и как следствие — наблюдаются отличия в оценке ОКС и СКС (ОКС в меньшей степени, чем СКС). В результате изучения комбинационной способности сортообразцов подсолнечника в различных погодных условиях была выявлена значимая реакция на факторы окружающей среды по обоим параметрам. У большинства генотипов наблюдались существенные различия в оценке ОКС и СКС по годам (табл. 3, 4).

Варьирование дисперсии СКС тестеров находилось в пределах 341,63...925,17. Минимальное и максимальное значения выявили у линии ЮВ166 в разные годы опыта, но в среднем высокие значения дисперсии зафиксировали у тестера КСП228.

Для выявления перспективных тестерных гибридов подсолнечника используют оценку эффектов СКС. Высокие значения зафиксировали у следующих тестерных гибридов: в 2016 г. – КСП232/Любо, КСП228/Саратовский20, КСП228/Крепыш, ЮВ16б/Фотон; в 2017 г. – у комбинаций скрещивания КСП232/Фотон, КСП232/Любо, КСП232/Юпитер, КСП228/Натали, КСП228/Олигарх, КСП228/Любо, ЮВ16б/Крупняк, ЮВ16б/Фортими, ЮВ16б/Изабелла, ЮВ16б/Белла; в 2018 г. – у комбинаций скрещивания КСП232/Степной81, КСП228/Любо, КСП228/Изабелла КСП228/ЮВС3, ЮВ16б/Шолоховский (рис. 3–5).

Значительный эффект СКС был выявлен у комбинации скрещивания КСП232/Любо в годы с повышенной влажностью в начале вегетации, а в 2018 г. у этой формы были отмечены средние значения. Экспериментальный гибрид КСП228/Любо демонстрировал высокий эффект СКС в 2017 и 2018 гг., но в 2016 г. показатели были отрицательными. Невысокие, но относительно стабильные положительные значения эффекта СКС в различных условиях внешней среды выявили у экспериментальных гибридов: КСП228/Крепыш, ЮВ16б/Светлана, КСП232/Степной 81, КСП228/Патриот, ЮВ16б/Фортими, КСП228/ЮВС3 и ЮВ16б/ЮВС3.

По отношению среднеквадратических отклонений общей и специфической комбинационной способности можно установить преобладающее влияние эффекта генов. В течение трех лет исследования частное средних квадратов отклонений ОКС и СКС было больше единицы ( $ms_{\rm OKC}/ms_{\rm CKC}>1$ ), что указывает на превалирование аддитивного эффекта генов над доминантным: 2016 г. -804,03/644,91 = 1,25; 2017 г. -2216,98/1250,15 = 1,77; 2018 г. -1193,87/925,19 = 1,29.

Таблица 4 Дисперсия СКС сортообразцов подсолнечника по площади корзинки, 2016—2018 гг.

Сортообразцы	2016 г.	2017 г.	2018 г.	Среднее				
Сластена	45,45	1522,48	799,32	789,08				
Степной 81	949,12	33,45	724,88	569,15				
Саратовский 20	1602,01	249,60	1157,94	1003,18				
УН 1305	70,07	66,26	453,45	196,59				
УН 1313	0,59	694,16	725,30	473,35				
Вейделевский 99	237,03	722,89	169,68	376,53				
Посейдон 625	291,31	527,24	157,47	325,34				
Фотон	917,19	2873,82	329,61	1373,54				
Натали	99,26	2296,98	751,62	1049,29				
Белгородский 94	171,93	922,50	927,46	673,96				
Махаон	548,26	495,46	1460,43	834,72				
Шолоховский	454,24	375,84	1788,24	872,77				
Крупняк	125,80	2588,67	1289,04	1334,50				
Вейделевский	609,37	833,61	111,68	518,22				
Мэлин	794,39	321,74	736,44	617,52				
Крепыш	1825,78	416,79	2,04	748,20				
Олигарх	122,93	1500,76	386,32	670,00				
Любо	1736,86	5106,07	2193,14	3012,02				
Светлана	824,59	640,07	726,31	730,32				
Изабелла	804,11	2549,86	1152,62	1502,20				
Белла	452,05	820,93	652,38	641,79				
Юпитер	929,24	1185,18	1309,95	1141,46				
Континент	561,29	356,01	441,44	452,91				
Фортими	1379,04	1446,72	1172,42	1332,73				
Патриот	124,16	851,86	852,64	609,55				
ЮВС-3	447,31	1854,36	2656,67	1652,78				
Среднее	620,13	1202,05	889,56	903,90				
Дисперсия СКС тестеров								
КСП232	412,59	887,09	558,70	261,11				
КСП228	535,64	688,00	689,12	340,39				
ЮВ16б	341,63	925,17	602,46	331,76				



Рис. 3. Эффект СКС тестерных гибридов подсолнечника по площади корзинки, 2016 г.

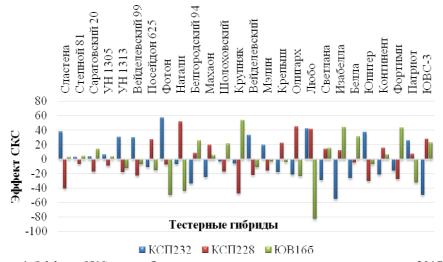


Рис. 4. Эффект СКС сортообразцов подсолнечника по площади корзинки, 2017 г.

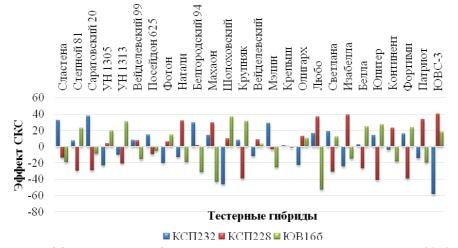


Рис. 5. Эффект СКС сортообразцов подсолнечника по площади корзинки, 2018 г.

#### Выволы

Исследования, проводившиеся в течение трех лет, позволили выявить значимое варьирование площади корзинки сортообразцов подсолнечника и полученных экспериментальных гибридов. При этом выделили генотипы с высокими эффектами ОКС: 2016 г. — Вейделевский, Мэлин, Крепыш, Фортими; 2017 г. — Патриот; 2018 г. — Шолоховский, Фортими. Стабильный высокий эффект ОКС на протяжении трех лет исследований был выявлен у генотипа Фортими.

Высокую дисперсию СКС в течение трех лет проведения опыта установили у образца Любо, и его можно рекомендовать для селекции высокогетерозисных гибридов. ЮВСЗ показал средние результаты в 2017 г. и высокие – в 2018 гг. У генотипа Фортими во все годы проведения опыта выявлены высокие и выше среднего показатели. Этот сортообразец может быть использован в селекции подсолнечника для создания синтетических популяций и высокогетерозисных гибридов.

Среди тестеров варьирование эффекта ОКС составило –7,71...11,00. Максимальный показатель отметили у КСП232, а минимальный – КСП228 в 2017. В среднем за 3 года высокий эффект ОКС зафиксировали у ЮВ16б, низкий – у КСП228.

Варьирование дисперсии СКС тестеров находилось в пределах 341,63...925,17. Минимальное и максимальное значения выявили у линии ЮВ16б в разные годы опыта, но в среднем самое высокое значение дисперсии зафиксировали у тестера КСП228.

По соотношению средних квадратов отклонений OKC/СКС было установлено, что аддитивный эффект генов преобладал над доминантным.

Эффект СКС тестерных гибридов варьировал по годам. Высокий эффект СКС был выявлен у комбинации скрещивания КСП232/Любо в годы с повышенной влажностью в начале вегетации. В 2018 г. этот гибрид показал среднее значение. Комбинация скрещивания КСП228/Любо демонстрировала высокий эффект СКС в годы, контрастные по влагообеспеченности (2017, 2018). В 2016 г. показатели были отрицательными. Невысокие, но стабильные положительные значения эффекта СКС в различных условиях внешней среды показали экспериментальные гибриды: КСП228/Крепыш; ЮВ166/Светлана; КСП232/Степной 81; КСП228/Патриот; ЮВ166/Фортими; КСП228/ЮВС3; ЮВ166/ЮВС3.

## Библиографическийсписок

- 1. *Kovachik A., Skaloud V.* Combining Ability and Prediction of Heterosis in Sunflower (H.annuus L.) // Scientia Agric. 1972. XX (4). Pp. 263–273.
- 2. Pattak A.R., Kukodia M.Ū., Kunadia B.A. Variability and correlation Studies in sunflower // Gujarat Agricultural Univercity Research Journal. − 1986. − № 12 (1). − Pp. 68–70.
- 3. *Petacov D*. Correlation and heritability of some quantitative characters in sunflower diallel crosses // Symposium on breeding of oil and protein crops. Albena: Institute for wheat and sunflower near General Toshevo, Bulgaria. 1994. Pp. 162–164.
- 4. Skoric D., Gerald J. Seiler, Zhao Liu and etc. Sunflower genetics and breeding // Serbian Academy of Science and Arts, Branch in Novi Sad. 2012. 520 p.
- 5. Skoric D., Josic S., Molnar L. General [GCA] and specific [SCA] combining abilities in sunflower // Proc. Of 15<sup>th</sup> Intern. Sunfl. Conf. Touluse, France. 2000. Pp. 23–29.
  - 6. *Васильев Д.С.* Подсолнечник: М. М.: Агропромиздат, 1990. 176 с.
- 7. Виноградов Д.В., Макарова М.П. Особенности выращивания подсолнечника на маслосемена в условиях Рязанской области // Вестник КрасГАУ. -2015. -№ (7). C. 154–157.

- 8. Волгин В.В., Обыдало А.Д. Корреляция хозяйственно-биологических признаков между самоопыленными линиями и гибридами подсолнечника // Масличные культуры: Научно-технический бюллетень ВНИИМК. -2015. -№ 4 (164). -C. 49–57.
- 9. Децына А.А., Илларионова И.В., Щербинина В.О. Оценка экологической пластичности и стабильности крупноплодных сортов подсолнечника // Масличные-культуры. -2019. -№ 3 (179). C. 35–39.
- 10. Доспехов Б.А. Методика полевого опыта. с основами статистической обработки результатов исследований: М. М.: Агропромиздат, 1985. 352 с.
- 11. Жаркова С.В. Морфометрические показатели подсолнечника в условиях степной зоны. [Электронный ресурс]. URL: https://cyberleninka.ru/article/n/morfometricheskie-pokazateli-podsolnechnika-v-usloviyah-stepnoy-zony (дата обращения: 02.04.23).
- 12. Коновалов Ю.Б., Пыльнев В.В., Хупацария Т.И. Общая селекция растений: М. СПб.: Лань, 2013.-480 с.
- 13. *Краснова Л.И., Мордвинцев М.П.* Селекция растений и семеноводство: Учебное пособие. Оренбург: Издательский центр ОГАУ, 2016. 151 с.
- 14. *Кротова Л.А.*, *Белецкая Е.Я*. Влияние генотипа и среды на комбинационную способность хемомутантов мягкой пшеницы по продуктивности растений // Евразийский союз ученых. -2015. -№ 10 (19). C. 12–15.
  - 15. Пустовойт В.С. Подсолнечник: Монография. М.: Колос, 1975. 590 с.
- 16. *Савченко В.К.* Генетический анализ в сетевых пробных скрещиваниях: М. Минск: Наука и техника, 1984. 223 с.
- 17. Таволжанский Н.П. Теория и практика создания гибридов подсолнечника в современных условиях: Автореф. дис. ... д-ра с.-х. наук. [Электронный ресурс]. URL: http://earthpapers.net/teoriya-i-praktika-sozdaniya-gibridov-podsolnechnika-v-sovremennyh-usloviyah#ixzz777ENZUh5 (дата обращения: 03.11.2022).
- 18. *Тишков Н.М., Дряхлов А.А.* Влияние густоты стояния растений на урожайность и качество урожая материнских линий гибридов подсолнечника // Масличные культуры. -2017. -№ 1 (169). С. 49–57.
- 19. Шкорич Д., Джеральд Дж. Сейлер, Жао Лью. Генетика и селекция подсолнечника: Монография / Сербская академия наук и искусств, Ассоциация «Селекция и семеноводство подсолнечника». HTTM, 2015. 184 с.
- 20. Яцюк С.В., Годеева Е.А., Шестакова Н.А. Влияние погодных условий на урожайность гибридов подсолнечника // Аграрный вестник Урала. -2018. -№ 3 (170). C. 26–29.

# STUDYING THE INITIAL MATERIAL OF SUNFLOWER VARIETIES ON THE TRAIT "BASKET'S AREA" UNDER THE CONDITIONS OF THE LOWER VOLGA REGION

# S.A. GUSEVA<sup>1</sup>, O.S. NOSCO<sup>1</sup>, S.P. KUDRYASHOV<sup>2</sup>, V.N. CHEKHONIN<sup>2</sup>, A.V. LEKAREV<sup>2</sup>

(¹R ussian Research, Design and Technology Institute of Sorghum and Corn, ²F ederal Center of Agriculture Research of the South-East Region)

The article presents the results of a three-year study of the combinatory ability of sunflower (HelianthusannuusL.) varieties on the trait "basket's area" by the topcross method. The experiment was conducted in 2016–2018 in the fields of Russian Research, Design and Technology Institute of Sorghum and Corn. The experiment was repeated three times. The plant density was 4.5 plants per  $m^2$ . The area of the plots was 7.7  $m^2$  (two rows 5.5 m long; row spacing was 70 cm). The initial

material for the study consisted of 43 samples of domestic and foreign selection. Three sterile lines (KSP232, KSP228, SE16b) were used as testers.

The meteorological conditions in the years of the experiment were different. The hydrothermal coefficient (May-August) was 0.481 in 2016, 0.975 in 2017, and 0.521 in 2018. Sunflower varieties with high effects of common combining ability (CCA) were identified: 2016 for Veydelevsky, Melin, Krepysh, Fortimi; 2017 – Patriot, Fortimi; 2018 – Sholohovsky, Fortimi. Relatively stable high effects of CCA were found for the Fortimi genotype.

The variety Lubo had the highest dispersion of specific combining ability (SCA) for three years of the experiment, and the Fortimi genotype had relatively high and stable indicators. These varieties can serve as a basis to create hybrids with high heterosis.

Among the testers, a high effect of CCA was observed in YuV16b, and a high variance in KSP228.

The effects of SCA of experimental hybrids varied from year to year. The cross KSP232/Lubo showed high values in years with higher humidity at the beginning of vegetation. The F1 hybrid KSP228/Lyubo demonstrated high effects of SCA during the years of contrasting moisture availability (2017 and 2018). The experimental hybrids KSP228/Krepysh, YuV16b/Svetlana, KSP232/Stepnoy 81, KSP228/Patriot, YuV16b/Fortimi, KSP228/YuVS3 and YuV16b/YuVS3 showed low but consistently positive values under different environmental conditions.

According to the ratio of the mean squares of the deviations of the CCA/SCA, the additive effects of the genes predominated over the dominant ones.

**Key words:** sunflower, combining ability, basket's area, effect of CCA, dispersion of SCA, hybrid F1.

#### References

- 1. Kovachik A., Skaloud V. Combining Ability and Prediction of Heterosis in Sunflower (H.annuus L.). Scientia Agric. 1972; XX; (4): 263–273.
- 2. Pattak A.R., Kukodia M.U., Kunadia B.A. Variability and orrelation Studies in sunflower. Gujarat Agricultural University Research Journal. 1986; 12 (1): 68–70.
- 3. *Petacov D*. Correlation and heritability of some quantitative characters in sunflower diallel crosses. Symposium on breeding of oil and protein crops. Albena, Institute for wheat and sunflower near General Toshevo, Bulgaria, 1994: 162–164.
- 4. Skoric D., Gerald J. Seiler, Zhao Liuand etc. Sunflower genetics and breeding. Serbian Academy of Science and Arts, Branch in Novi Sad, 2012: 520.
- 5. Skoric D., Josic S., Molnar L. General [GCA] and specific [SCA] combining abilities in sunflower. Proc. of 15<sup>th</sup> Intern. Sunfl. Conf., Touluse, France, June 12–15. 2000: 23–29.
  - 6. Vasiliev D.S. Sunflower. Moscow: Agropromizdat, 1990: 176. (In Rus.)
- 7. Vinogradov D.V., Makarova M.P. Features of Growing Sunflower for Oilseeds under Ryazan Region Conditions. Vestnik KrasGAU. 2015; 7: 154–157. (In Rus.)
- 8. *Volgin V.V., Obydalo A.D.* Correlation of Economic and Biological Traits between Self-Pollinated Lines and Sunflower Hybrids. Maslichnye kul'tury. Nauchno-tekhnicheskiy byulleten' VNIIMK. 2015; 4 (164): 49–57. (In Rus.)
- 9. *Detsyna A.A., Illarionova I.V., Shcherbinina V.O.* Evaluation of Ecological Plasticity and Stability of Large-Fruited Sunflower Varieties. Maslichnye kul'tury. 2019; 3 (179): 35–39. (In Rus.)
  - 10. Dospekhov B.A. Methods of Field Experiment. M.: Agropromizdat, 1985: 352. (In Rus.)
- 11. Zharkova S.V. Morphometric indicators of sunflower under the conditions of the steppe zone. [Electronic source]. URL: http://cyberleninka.ru/article/n/morfometriches-kie-pokazateli-podsolnechnika-v-usloviyah-stepnoy-zony (Access date: 02.04.23). (In Rus.)
- 12. Konovalov Yu.B., Pyl'nev V.V., Khupatsaria T.I. General Plant Breeding. St. Petersburg: Lan', 2013: 480. (In Rus.)

- 13. Krasnova L.I., Mordvintsev M.P. Plant Breeding and Seed Production. Orenburg: Izdatel'skiy tsentr OGAU, 2016: 151. (In Rus.)
- 14. *Krotova L.A., Beletskaya E. Ya.* Effect of Genotype and Environment on the Combinative Ability of Chemomutants of Common Wheat Interms of Plant Productivity. Evraziyskiy soyuz uchenykh. 2015; 10 (19): 12–15. (In Rus.)
  - 15. Pustovoyt V.S. Sunflower: Monograph. M.: Kolos, 1975: 590. (In Rus.)
- 16. *Savchenko V.K.* Genetic Analysis in Testcrosses. Minsk: Nauka i tekhnika, 1984: 223 p. (In Rus.)
- 17. Tavolzhanskiy N.P. Theory and Practice of Creating Sunflower Hybrids in Modern Conditions. DSc (Ag) thesis. [Electronic source]. URL: http://earthpapers.net/teoriya-i-praktika-sozdaniya-gibridov-podsolnechnika-v-sovremennyh-usloviyah#ixzz777ENZUh5 (Access date: 03.11.23). (In Rus.)
- 18. *Tishkov N.M., Dryakhlov A.A.* Effect of Plant Density for Productivity and Crop Quality of Sunflower Hybrid Maternallines. Maslichnye kul'tury. 2017; 1 (169): 49–57. (In Rus.)
- 19. Shkorich D., Gerald J. Seiler, Zhao Liu et al. Sunflower Genetics and Breeding. International Monograph. Serbskaya akademiya nauk i iskusstv, Assotsiatsiya "Selektsiya i Semenovodstvo Podsolnechnika. NTTM, 2015: 184. (In Rus.)
- 20. Yatsyuk S.V., Godeeva E.A., Shestakova N.A. Effect of Weather Conditions on the Yield of Sunflower Hybrids. Agrarnyy vestnik Urala. 2018; 3 (170): 26–29. (In Rus.)

Гусева Светлана Александровна, старший научный сотрудник отдела кукурузы и зернобобовых культур, ФГБНУ РОСНИИСК «Россорго»; Российская Федерация, г. Саратов, 4-й Институтский пр-д, 4; e-mail: guseva76@mail.ru; тел.: +79372504489

Носко Оксана Сергеевна, младший научный сотрудник отдела кукурузы и зернобобовых культур, ФГБНУ РОСНИИСК «Россорго»; Российская Федерация, г. Саратов, 4-й Институтский пр-д, 4; e-mail: ocsananosko@yandex.ru; тел.: +79198373504

**Кудряшов Сергей Петрович,** канд. с.-х. наук, ведущий научный сотрудник лаборатории масличных культур ФБГНУ «ФАНЦ Юго-Востока»; Российская Федерация, г. Саратов, ул. Тулайкова, 7; e-mail: kudr-s-p@yandex.ru; тел.: +79271368243

**Чехонин Валерий Николаевич,** старший научный сотрудник лаборатории масличных культур ФБГНУ «ФАНЦ Юго-Востока»; Российская Федерация, г. Саратов, ул. Тулайкова, 7; e-mail: valech54@gmail.com; тел.: +79179898529

**Svetlana A. Guseva,** Senior Research Associate, Department of Corn and Legumes, Russian Research, Design and Technology Institute of Sorghum and Corn (4, 1-iy Institutskiy Passage, Saratov, 410050, Russian Federation; phone: (937) 250–44–89; E-mail: s.guseva76@mail.ru)

Oksana S. Nosco, Junior Research Associate, Department of Corn and Legumes, Russian Research, Design and Technology Institute of Sorghum and Corn (4, 1-iy Institutskiy Passage, Saratov, 410050, Russian Federation; phone: (919) 837–35–04; E-mail: ocsananosko@yandex.ru)

**Sergey P. Kudryashov**, CSc (Ag), Leading Research Associate, Laboratory of Oilseed Crops, Federal Center of Agriculture Research of the South-East Region (7, Tulaykova Str., Saratov, 410010, Russian Federation; phone: (927) 136–82–43; E-mail: kudr-s-p@yandex.ru)

Valeriy N. Chekhonin, Senior Research Associate, Laboratory of Oilseed Crops, Federal Center of Agriculture Research of the South-East Region (7, Tulaykova Str., Saratov, 410010, Russian Federation; phone: (917) 989–85–29; E-mail: valech54@gmail.com)

#### ЗЕМЛЕДЕЛИЕ, РАСТЕНИЕВОДСТВО, ЗАЩИТА РАСТЕНИЙ

УДК 635.25; 632.954; 661.162.2

DOI: 10.26897/0021-342X-2023-3-100-107

Известия ТСХА, выпуск 3, 2023

## ЭФФЕКТИВНОСТЬ ПРИМЕНЕНИЯ ГЕРБИЦИДОВ ПРИ ВОЗДЕЛЫВАНИИ ЛУКА РЕПЧАТОГО В УСЛОВИЯХ СЕВЕРНОГО ПРИКАСПИЯ

#### А.Н. БОНДАРЕНКО

(ФГБНУ «Прикаспийский аграрный федеральный научный центр РАН»)

Для орошаемых условий Нижневолжского региона характерно длительное и весьма жаркое, нередко засушливое лето, что благоприятно сказывается как на овощных культурах, так и на развитии сорной растительности. Сорная растительность существенно затеняет посевы овощных культур. Это приводит к активному развитию и распространению вредителей и болезней, что в свою очередь является главной причиной снижения урожайности культурных растений. Основной целью исследований стала разработка экономически обоснованной эффективной системы защиты лука репчатого в борьбе с однолетними сорными растениями при капельном способе полива в условиях аридного климата Астраханской области. Приведены результаты испытания гербицидов Гоал 2Е, КЭ и Лазурит, СП на основе действующего вещества метрибузина в орошаемых условиях землепользования ФГБНУ «ПАФНЦ РАН» за период с 2020 по 2022 гг. Среди сорняков присутствовали: щирица синеватая запрокинутая; молочай; лебеда садовая; пырей; выонок полевой; солянка обыкновенная (курай), горчак. Обработка гербицидами существенно снизила число сорняков на посадках лука репчатого, что особенно проявилось на вариантах, где был использован препарат Лазурит, СП.

Устранение сорной растительности способствовало формированию достаточно высоких значений товарной урожайности возделываемой культуры. Максимальные показатели товарной урожайности 88,0 и 91,0 m/га были получены на вариантах совместного применения препаратов Лазурит, СП + Аминовит.

Ключевые слова: гибрид, лук репчатый, гербицид, сорная растительность, урожайность.

#### Введение

Современное развитие овощеводства в условиях Северо-Западного Прикаспия происходит за счет активного внедрения в производство интенсивных ресурсосберегающих технологий.

Агроклиматические условия Нижневолжского региона с учетом применения интенсивных ресурсосберегающих технологий создают благоприятные условия для возделывания овощных культур — в частности, сортов и гибридов лука репчатого — высоким потенциалом урожайности.

Возделывание культуры лука репчатого на территории Астраханской и Волгоградской областей является весьма развитым [2, 6]. Возделывание данной овощной культуры предполагает широкое использование различных режимов минерального питания и систем защиты растений в целом [12].

Эффективное снижение числа сорняков на посевах лука репчатого способствует наиболее продуктивному использованию посадками лука репчатого поливной воды, минеральных удобрений, существенному сокращению общепроизводственных

затрат на проведение защитных мероприятий в борьбе с болезнями и вредителями возделываемой культуры [1, 7, 11]. В связи с этим основной целью исследований стала разработка экономически обоснованной эффективной системы защиты лука репчатого в борьбе с однолетними сорными растениями при капельном способе полива.

Для достижения поставленной цели решались следующие задачи:

- оценить эффективность совместного применения гербицидов и комплексного минерального удобрения Аминовит, обладающего мощным антистрессовым эффектом;
- изучить видовой состав сорняков и динамику сезонной засоренности в посевах лука репчатого;
- определить экономическую эффективность применения гербицидов в посевах культуры лука репчатого.

Объект исследований – сорта Кристина, гибрид Байрам F1, F1, гибрид Манас F1.

В ходе НИР методом расщепленных делянок был заложен двухфакторный полевой опыт [4]: фактор A — среднепоздние сорта и гибриды лука репчатого (Байрам F1, Манас F1, Кристина); фактор B — гербицид Гоал 2E, КЭ, Лазурит, удобрение Аминовит.

Варианты опыта: В1 – контроль (обработка водой); В2 – Гоал 2Е, КЭ; В3 – Гоал 2Е, КЭ + Аминовит; В4 – Лазурит; В5 – Лазурит + Аминовит.

Общая площадь под опытом составила  $240,0\,\mathrm{M}^2$ . Лук репчатый высевался с использованием овощной сеялки точного высева Schmotzer с одновременной раскладкой капельных лент. Норма высева семян составляла  $1250\,\mathrm{тыc.}$  шт/га с расстоянием между семенами в ряду  $3...4\,\mathrm{cm.}$  Схема посева — многорядная. Полив осуществлялся с использованием системы капельного орошения.

Общее содержание внесенных минеральных удобрений, рассчитанных для почвенно-климатических условий Астраханской области с учетом выноса питательных веществ, составило для лука репчатого  $N_{180}P_{60}K_{60}$  [8].

На культуре лука репчатого проводились обработки: от вредителей —препаратами Ланнат СП, Борей Нео СК, Брейк СК, Тайра; от болезней — препаратами Экстрасол, Ридомил Голд, Ордан СП, Спирит в соответствии с нормами, рекомендованными товаропроизводителем. Также проводилась обработка гербицидом Стомп Профессионал и Акзифор. Все обработки проводились штанговым опрыскивателем ОН-600 + МТЗ 1021.

## Материал и методы исследований

Учет урожайности лука репчатого проводился поделяночно методом сплошной уборки на всех вариантах по мере технического созревания. Обрезку лука репчатого осуществляли по методике Государственного сортоиспытания сельскохозяйственных культур 2015 г. [3], а также согласно Методическому руководству по проведению регистрационных испытаний агрохимикатов в сельском хозяйстве, 2018 г. [4].

Экономическая эффективность была рассчитана согласно технологической карте и методическим рекомендациям [9, 10].

Эффективность гербицидов, применяемых по вегетирующим растениям, определялась по формуле:

Сиспр = 
$$100 - B0/A0 \cdot 100 \cdot a\kappa/b\kappa$$
,

где Сиспр — снижение числа сорняков, % к исходной засоренности, в опыте с поправкой на контроль;

BO – число сорняков на 1 м<sup>2</sup> при втором (или третьем) учете в опыте;

AO – число сорняков на 1 м<sup>2</sup> при первом учете в опыте (исходная засоренность);

 $a\kappa$  – число сорняков на  $1 \text{ м}^2$  при первом учете на контроле (исходная засоренность);

bk - число сорняков 1 м<sup>2</sup> при втором (или третьем) учете на контроле.

## Результаты и их обсуждение

Действие гербицидов на сорняки в посевах лука репчатого. Лук репчатый является очень требовательным к фитосанитарному состоянию посевов, так как растения обладают весьма низкой конкурентной способностью к сорнякам. Критический период для лука репчатого начинается сразу после появления всходов.

Сразу после посева лука репчатого была произведена фоновая обработка по всем опытным участкам почвенным гербицидом Стомп с нормой расхода препарата 3,0 л/га согласно установленным рекомендациям от товаропроизводителя, что существенно приостановило рост и развитие сорняков по всходам возделываемой культуры.

В период, когда все растения лука репчатого вступили в фазу 4..5 «Настоящий лист», был произведен первый визуальный осмотр опытных участков на наличие сорняков. В этот период состав сорной растительности опытных участков различался как по видам, так и по фазам развития сорняков.

До начала проведения первой обработки в фазе 4...5 «Настоящий лист» был произведен первый подсчет сорняков на опытном участке. В основном присутствовали: щирица синеватая запрокинутая; молочай; лебеда садовая; пырей; выюнок полевой; солянка обыкновенная (курай); горчак.

Через 14 сут. была осуществлена вторая обработка гербицидами, лук в это время находился в фазе начала образования луковицы. Результаты по биологической эффективности гербицидов на однолетние сорняки представлены в таблице 1.

Анализируя полученные данные, необходимо отметить, что обработки гербицидами Гоал 2E, КЭ и Лазурит, СП способствовали существенному сокращению числа сорняков сразу же после первой обработки — в среднем практически вдвое.

Первый учет, произведенный до второй обработки, выявил, что число сорняков по вариантам изучения составляло от 5 до 7 шт/м². Через 30 сут. после второй обработки произошло существенное сокращение сорняков. Особенно выделились варианты с применением препарата Гоал 2E, КЭ (60,89%) и Лазурит, СП (66,33%).

На 50-е сут. выделился вариант, где был использован гербицид Лазурит, СП, и снижение численности сорняков относительно контрольного варианта составило 48,46%. Четвертый учет, произведенный перед уборкой, аналогично выявил преимущество варианта с применением препарата Лазурит, СП, когда снижение относительно контроля составило 34,15%.



Рис. Учет сорных растений

Таблица 1 Биологическая эффективность гербицидов в борьбе с однолетними сорняками при возделывании лука репчатого (на примере сорта Кристина)

		Среднее число сорняков на 1 м², шт.						Снижение		
Вариант опыта	Повторность	учет до первой	1 – учет	после обработки по суткам учетов			численности сорняков, % к контролю			
Ba	Повт	обработки 3-4 наст. лист	до второй обработки	2 –учет 30 сут.	3 –учет 50 сут.	4 – учет перед уборкой	2 – учет 30 сут.	3 – учет 50 сут.	4 – учет перед уборкой	
	I	10	12	14	15	24	-	-	-	
Контроль	II	12	13	16	19	26	-	-	-	
Конт	III	17	18	20	24	26	-		-	
	Среднее	13	14	17	19	25	-	-	-	
_	I	10	6	3	4	9	57,14	46,67	25,00	
E, KG	II	12	5	3	5	8	51,25	31,58	20,00	
Гоал 2Е,	III	13	7	2	5	7	74,29	46,43	30,70	
	Среднее	12	6	3	5	8	60,89	41,56	25,23	
+	I	15	7	3	5	9	63,27	42,86	35,71	
Гоал 2Е, КЭ Аминовит	II	14	9	4	7	10	63,89	46,78	44,40	
лал 2I Амин	III	10	5	3	5	8	46,00	25,00	44,40	
2	Среднее	13	7	3	6	9	57,72	38,21	-10,77	
	I	10	5	3	4	7	48,57	36,00	30,00	
MT, CF	II	12	6	1	4	7	86,46	54,39	41,67	
Лазурит, СП	III	15	5	2	3	5	64,00	55,00	30,77	
	Среднее	12	5	2	4	6	66,33	48,46	34,15	
+	I	12	6	3	5	8	57,14	33,33	33,33	
т, СП	II	13	4	3	4	6	39,06	31,58	25,00	
Лазурит, СП + Аминовит	III	18	6	2	5	7	70,00	37,50	19,23	
Ĕ	Среднее	14	5	3	6	9	55,40	34,14	25,85	
ŀ	HCP <sub>05</sub>	4,8	3,7	3,1	4,1	2,0				

В результате проведенных исследований было установлено, что при дробном внесении препарата сохранялся более высокий уровень биологической эффективности против однолетних сорняков на более продолжительный период времени – практически до самой уборки возделываемой культуры.

Экономическая эффективность возделывания лука репчатого с применением гербицидов. При анализе экономической эффективности были выделены сорт Кристина и гибрид Байрам F1 на варианте при совместном использовании гербицида Лазурит, СП + Аминовит. Чистый доход на 1 га составлял у данных образцов 402,9...440,6 тыс. руб/га, рентабельность производства — 86,3...93,9% при товарной урожайности 87,0...91,0 т/га. Общие затраты на производство находились в диапазоне 467,1...469,4 тыс. руб/га.

Необходимо также отметить, что возделывание лука репчатого с использованием гербицидов является весьма рентабельным производством. Исходя из результатов исследований рентабельность по всем вариантам опыта варьировала от 86,3 до 93,9% (табл. 2).

Таблица 2 Экономическая эффективность лука репчатого в зависимости от вариантов листовой обработки, среднее за 2020–2022 гг.

Сорт, гибрид	Обработки	Уро- жай- ность, т/га	Общие затраты, тыс. руб/га	Себесто- имость, тыс. руб/т	Стоимость реализованной продукции, тыс. руб/т	Чистый доход, тыс. руб/га	Рента- бель- ность, %
	Контроль	50	416,1	8,3	500,0	83,9	20,2
щ	Гоал 2Е, КЭ	77	451,2	5,9	770,0	318,8	70,7
Байрам F	Гоал 2Е, КЭ + Аминовит	83	459,0	5,5	830,0	371,0	80,8
Ба	Лазурит, СП	81	456,4	5,6	810,0	353,6	77,5
	Лазурит, СП + Аминовит	91	469,4	5,2	910,0	440,6	93,9
	Контроль	44	411,2	9,3	440,0	28,8	7,0
虛	Гоал 2Е, КЭ	61	433,3	7,1	610,0	176,7	40,8
Кристина	Гоал 2Е, КЭ + Аминовит	77	454,1	5,9	770,0	315,9	69,6
   কু	Лазурит, СП	83	461,9	5,6	830,0	368,1	79,7
	Лазурит, СП + Аминовит	87	467,1	5,4	870,0	402,9	86,3
	Контроль	38	404,7	10,7	380,0	-24,7	-6,1
ш-	Гоал 2Е, КЭ	54	425,5	7,9	540,0	114,5	26,9
Манас	Гоал 2Е, КЭ + Аминовит	58	430,7	7,4	580,0	149,3	34,7
Ž	Лазурит, СП	73	450,2	6,2	730,0	279,8	62,2
	Лазурит, СП + Аминовит	79	458,0	5,8	790,0	332,0	72,5

#### Выволы

- 1. Максимально эффективным и равномерным подавление однолетних сорняков вследствие комплексного действия гербицидов было отмечено на опытных посевах лука репчатого с обработкой препаратом Лазурит, СП. Снижение численности сорной растительности относительно контроля без обработок по данному варианту по суткам учетов составляло: на 30-е сут. -66,33%; 50-е сут. -48,46%. Перед уборкой число однолетних сорняков составляло 34,15%.
- 2. Применение гербицида Лазурит, СП в рекомендованной норме от товаропроизводителя на луке репчатом существенно отразилось на показателях экономической эффективности. Наибольший эффект был достигнут от совместного использования препаратов Лазурит, СП + Аминовит у сорта Кристина и гибрида байрам F1. Рентабельность производства по данным образцам находилась в диапазоне 86,3...93,9%.

Увеличение продуктивности культуры лука репчатого способствовало значительному снижению себестоимости выращенной продукции, которая по сорту Кристина и гибриду Байрам F1 на варианте Лазурит, СП + Аминовит находилась пределах 5,2...5,4 тыс. руб/т.

## Библиографический список

- 1. *Берназ Н.И., Ирков И.И.* Эффективность минимальных норм препарата Гоал 2E на луке репчатом в однолетней культуре // Картофель и овощи. 2021. № 2. C. 13–15. https://doi.org/10.25630/PAV.2021.63.93.002.
- 2. *Бондаренко А.Н.* Результаты применения стимуляторов роста нового поколения при возделывании лука репчатого // Известия Нижневолжского агроуниверситетского комплекса: наука и профессиональное образование. −2022. –№ 1 (65). –С. 29–37. URL: https://elibrary.ru/item.asp?id=48358595. DOI: 10.32786/2071–9485–2022–01–02.
- 3. Методика Государственного сортоиспытания сельскохозяйственных культур. Вып. 4. Картофель, овощные и бахчевые культуры. М.: Министерство сельского хозяйства  $P\Phi$ , 2015. 61 с.
- 4. Методическое руководство по проведению регистрационных испытаний агрохимикатов в сельском хозяйстве: Производственно-практическое издание. М.: Минсельхоз России, 2018. 132 с.
- 5. *Никитенко Г.Ф. и др.* Опытное дело в полеводстве: М. М.: Сельхозиздат, 1982. 190 с.
- 6. Петров Н.Ю., Калмыкова Е.В., Калмыкова О.В., Зволинский В.В. Эффективные элементы возделывания репчатого лука при капельном орошении // Известия Нижневолжского агроуниверситетского комплекса: наука и высшее профессиональное образование. -2018. № 1 (49). -C. 51–58. URL: https://cyberleninka.ru/article/n/effektivnye-elementy-vozdelyvaniya-repchatogo-luka-pri-kapelnom-oroshenii.
- 7. Солдатенко А.В., Меньших А.М., Федосов А.Ю., Ирков Н.И., Иванов М.И. Повышение конкурентоспособности овощных культур к сорным растениям посредством совершенствования методов борьбы // Овощи России. 2022. № 2 (64). С. 72–87. URL: https://www.vegetables.su/jour/article/view/1958/1359.
- 8. *Челобанов Н.В.* Земледелие в Астраханской области: М. Астрахань: Изд-во «Факел», 1998.-432 с.
- 9. Шпилько  $A.B.~u~\partial p.$  Методика определения экономической эффективности технологий и сельскохозяйственной техники: Методические указания. Ч. 1. М.: РИЦ ГОСНИТИ, 1998. 331 с.

- 10. Эффективность сельскохозяйственного производства: Методические рекомендации; Под ред. И.С. Санду, В.А. Свободина, В.И. Нечаева, М.В. Косолаповой, В.Ф. Федоренко. М.: ФГБНУ «Росинформагротех», 2013. С. 46–50.
- 11. *Bondarenko A., Tyutyuma N.* Biological effectiveness of onion plant protection scheme // Revista de agricultura neotropical. 2022. Vol. 9, № 3. Pp. 1–9. DOI: https://doi.org/10.32404/rean.v9i3.6930.
- 12. Larushin N., Pivovarov V., Kuharev O. & Vershinin Yu. Complex machines for the production of onions on resource-saving technologies. Vegetable crops of Russia. 2019. Pp. 141–145. DOI: 10.18619/2072–9146–2019–6–141–145.

# EFFICACY OF HERBICIDES IN ONION PRODUCTION UNDER NORTHERN PRE-CASPIAN CONDITIONS

#### A.N. BONDARENKO

(Precaspian Agrarian Federal Scientific Center of Russian Academy of Sciences)

The irrigated conditions of the Lower Volga region are characterised by long, very hot and often dry summers, which are favourable both for vegetables and for the development of weeds. Weed growth is a major cause of crop obscuration, pest and disease infestation, and yield loss. The main objective of the study was to develop an economically viable and effective system for protecting bulb onions from annual weeds under drip irrigation in the arid climate of the Astrakhan region. The results of testing the herbicides Goal 2E, KE and Lazurite, SP based on the active substance metribuzine in irrigated land use conditions of Precaspian Agrarian Federal Scientific Center of Russian Academy of Sciences for the period from 2020 to 2022 are presented. Among the weeds present were: a bluish, thrown-back cheek, milkweed, garden swan, wheatgrass, field finch, common solyanka (kurai), gorchak. Herbicide treatment significantly reduced the number of weeds in the onion crop, especially in the varieties where Lazurite, SP was used.

The elimination of weed vegetation contributed to the formation of sufficiently high commercial yields of the crop. The maximum commercial yields of 88.0 t/ha and 91.0 t/ha were obtained in the variants with joint application of Lazurite, SP + Aminovit.

Key words: hybrid, onions, herbicide, weed vegetation, yield.

#### References

- 1. Bernaz N.I., Irkov I.I. Effectiveness of the Minimum Rates of Goal 2E on Bulb Onions in Annual Crop. Kartofel' i ovoshchi. 2021; 2: 13–15. (In Rus.) URL: https://doi.org/10.25630/PAV.2021.63.93.002
- 2. Bondarenko A.N. Results of the Use of New Generation Growth Stimulants in the Cultivation of Onions. Izvestiya Nizhnevolzhskogo agrouniversitetskogo kompleksa: nauka i professional'noe obrazovanie. 2022; 1 (65): 29–37. (In Rus.) DOI: 10.32786/2071–9485–2022–01–02 URL: https://elibrary.ru/item.asp?id=48358595
- 3. Procedure of State Crop Variety Testing. Potatoes, Vegetable and Melon Crops. 4th ed. M.: "Ministerstvo sel'skogo khozyaystva RF", 2015: 61. (In Rus.)
- 4. Guidelines for Registration Tests of Agrochemicals in Agriculture: Production Practical Edition. M.: "Ministerstvo sel'skogo khozyaystva RF", 2018: 132. (In Rus.)
- 5. Nikitenko G.F. et al. Experimental Work in Field Farming. M.: Sel'khozizdat, 1982: 190. (In Rus.)

- 6. Petrov N. Yu., Kalmykova E.V., Kalmykova O.V., Zvolinskiy V.V. Effective Elements of Cultivating Onions during Drip Irrigation. Izvestiya nizhnevolzhskogo agrouniversitetskogo kompleksa: nauka i vysshee obrazovanie. 2018; 1 (49): 51–58. (In Rus.) URL: https://cyberleninka.ru/article/n/effektivnye-elementy-vozdelyvaniya-repchatogo-luka-pri-kapelnom-oroshenii
- 7. Soldatenko A.V., Men'shikh A.M., Fedosov A.Yu., Irkov N.I., Ivanov M.I. Improving Competitiveness of Vegetable Crops to Weeds through Improved Control Methods. Ovoshchi Rossii. 2022; 2 (64): 72–87. (In Rus.) URL: https://www.vegetables.su/jour/article/view/1958/1359
- 8. *Chelobanov N.V.* Agriculture in the Astrakhan Region. Astrakhan: Izd-vo "Fakel", 1998: 432. (In Rus.)
- 9. Shpil'ko A.V. et al. Methodology for Determining the Economic Efficiency of Technologies and Agricultural Machinery. Part 1. Guidelines. M.: RITs GOSNITI, 1998: 331. (In Rus.)
- 10. Sandu I.S., Svobodina V.A., Nechaeva V.I., Kosolapova M.V., Fedorenko V.F. Efficiency of Agricultural Production (Guidelines). M.: FGBNU "Rosinformagrotekh", 2013: 46–50. (In Rus.)
- 11. Bondarenko A., Tyutyuma N. Biological effectiveness of onion plant protection scheme. Revista de agricultura neotropical. 2022; 9; 3: 1–9. URL: https://doi.org/10.32404/rean.v9i3.6930
- 12. Larushin N., Pivovarov V., Kuharev O. & Vershinin Yu. Complex machines for the production of onions on resource-saving technologies. Vegetable crops of Russia. 2019: 141–145. DOI:10.18619/2072–9146–2019–6–141–145

**Бондаренко Анастасия Николаевна,** заведующий лабораторией агротехнологий овощных культур, ФГБНУ «ПАФНЦ РАН»; 416251, Российская Федерация, Астраханская область, Черноярский район, кв-л Северный, 8; e-mail: pniiaz@ mail. ru. (ORSID ID № 0000-0003-4816-5667)

Anastasia N. Bondarenko, Head of the Laboratory of Agricultural Technologies of Vegetable Crops, Precaspian Agrarian Federal Scientific Center of Russian Academy of Sciences (8, sq. Severniy, v.s. Solonoe Zaymishche, Chernoyarskiy district, Astrakhan region, 416251, Russian Federation; ORSID ID № 0000–0003–4816–5667)

#### ЗООТЕХНИЯ, БИОЛОГИЯ И ВЕТЕРИНАРНАЯ МЕДИЦИНА

УДК 636.32:575.162 DOI: 10.26897/0021-342X-2023-3-108-127 Известия ТСХА, выпуск 3, 2023

# К ВОПРОСУ ГЕНЕТИЧЕСКОГО УЛУЧШЕНИЯ ПЛОДОВИТОСТИ ОВЕЦ

# М.И. СЕЛИОНОВА<sup>1</sup>, А.-М.М. АЙБАЗОВ<sup>2</sup>

 $(^{1}$  Российский государственный аграрный университет — MCXA имени К.А. Тимирязева  $^{2}$  ФГБНУ «Северо-Кавказский федеральный научный аграрный центр»)

Большинство пород овец являются малоплодными, что наряду с другими причинами приводит к низкой рентабельности отрасли. В интенсивных системах промышленного овцеводства высокая плодовитость овец может повысить эффективность производства продукции овцеводства. Скрещивание малоплодных пород с многоплодными породами было основным средством генетического улучшения плодовитости, в то время как внутрипородный отбор считался относительно неэффективным по причине низкой наследуемости признака. Мутации, достоверно влияющие на скорость овуляции и, следовательно, на количество ягнят, были обнаружены у нескольких пород по всему миру в генах, обозначенных как «основные гены» плодовитости. Большинство этих мутаций картируется в генах, связанных с суперсемейством ТСГВ. Генотипирование по этим основным генам позволяет применять метод селекции с помощью маркеров для скрещиваний с целью интрогрессии полезных мутаций в новые породы. Анализ митохондриальной ДНК, полногеномные ассоциативные исследования (GWAS), секвенирование всего генома, анализ транскриптома и протеомные исследования овец с высокой и низкой многоплодностью выявили дополнительные генетические вариации со средним или незначительным влиянием на плодовитость. Использование информации о полиморфизме в этих «средних» и «второстепенных» генах может облегчить селекционную работу на более высокую плодовитость в рамках конкретной производственной системы. Несмотря на то, что высокая плодовитость может быть связана с риском токсикоза беременности у овец, увеличением эмбриональной смертности, уменьшением сохранности ягнят в раннем постнатальном онтогенезе, а также с высоким риском сокращения продуктивного долголетия овец, перспектива заключается в том, чтобы идентифицировать набор генов с умеренным влиянием на плодовитость.

**Ключевые слова:** овцы, гены плодовитости, генная интрогрессия.

#### Введение

По данным ФАО, во всем мире насчитывается около 1,2 млрд овец, представленных примерно 1155 породами (FAO, 2021) [24]. Овцы демонстрируют высокое генетическое разнообразие, отличаются выдающейся адаптационной пластичностью, способностью выживать и производить определенную продукцию в самых разнообразных условиях внешней среды: от арктических широт до жарких пустынь. Кроме того, овцеводство как важная отрасль животноводства реализуется в самых разных технологических системах производства: от экстенсивных систем, где условия окружающей среды – такие, как доступность корма и климат, являются ограничивающими факторами для производства, до интенсивных систем, где внешние условия оптимизированы, а управление направлено на полную реализацию продуктивного потенциала.

Российское овцеводство как отрасль в последние десятилетия претерпевает существенные изменения, вызванные в первую очередь экономическими предпосылками. Следствием давления экономических причин стали: 1) перевод овцеводства из общественной сферы в частную собственность; 2) его переход от шерстного на мясное направление; 3) вхождение крупных холдингов (АХ «Мираторг», ГАП «Ресурс», ГК «Дамате») в отрасль. Последние осуществляют значительные инвестиции в овцеводство, прежде всего — в мясное, что закономерно приведет к наращиванию поголовья, коррекции селекционно-племенной работы с животными и технологических решений производства продукции овцеводства. В среднесрочной перспективе динамично развивающееся мясное и молочное овцеводство может стать локомотивом отрасли.

Изменения в отрасли, безусловно, требуют новых подходов к селекционно-племенной работе с овцами, и в первую очередь — такой важнейшей ее составляющей, как воспроизводство стада. Такой важный воспроизводительный показатель, как высокое многоплодие, мог бы стать исключительным экономическим драйвером для развития отрасли, особенно в условиях полуинтенсивных или интенсивных систем производства. Однако именно этот ключевой признак, контролирующий репродуктивную эффективность, не является генетически детерминированным и отсутствует у подавляющего большинства пород овец [1].

Следует признать, что селекция на высокую плодовитость — относительно новое направление в истории овцеводства. Большинство признаков ранней селекции, обнаруженных в полногеномных ассоциативных исследованиях (genome-wide association study, GWAS) овец, было связано в основном с другими признаками — такими, как адаптация к климату и фенотипическая изменчивость, а также производство мяса, молока и шерсти [2, 25, 36, 40].

Овцы большинства пород (как аборигенных, так и культурных) являются малоплодными, производят в большинстве случаев одного ягненка, а в редких случаях двоен подобно диким предкам муфлонам [27]. С другой стороны, получение двоен, троен и даже более ягнят достаточно распространено у плодовитых пород овец таких, как финский ландрас (Finnish Landrace) и романовская (Romanov), у которых регистрируются случаи рождения 6 и даже 7 ягнят [23].

Следует четко осознавать, что определение оптимального размера помета у овец различается в зависимости от производственной системы. Высокая плодовитость (два или более ягненка на овцу) не является желательным признаком в условиях экстенсивного содержания, потому что доступность питательных веществ может не поддерживать метаболические потребности многоплодных овец, а также ввиду различных негативных последствий высокой плодовитости на материнскую продуктивность в течение всей жизни [45]. В то же время в полуинтенсивных или интенсивных системах, например, производства баранины, увеличение плодовитости будет экономически выгодным ввиду увеличения доходов от продажи живых ягнят или молодой баранины [11]. Действительно, в различных странах были начаты селекционные программы для повышения плодовитости овец путем внутрипородного отбора, интрогрессии новых пород и скрещивания [50].

В овцеводстве нашей страны селекционных программ для повышения плодовитости овец не было, и, как уже подчеркивалось, этот ключевой признак является недетерминированным генетически и низким у подавляющего большинства отечественных пород овец. В этой ситуации просматриваются четыре вектора повышения параметра многоплодия, возможные и параллельно осуществимые: 1) масштабный завоз животных зарубежной селекции, в полной мере отвечающих требованиям высокого многоплодия, и их разведение; 2) завоз лучших и высокопрепотентных производителей-носителей желательного генофонда зарубежной селекции, их массовое

и длительное использование на овцах отечественных пород для получения российских кроссов с требуемыми характеристиками; 3) широкое использование биотехнологических методов и приемов для направленного регулирования функции размножения и ее улучшения; 4) программы разведения на основе геномной селекции, направленные на создание многоплодных животных.

Все четыре вектора развития имеют перспективу и параллельно осуществимы, хотя первый является финансово затратным; недостатком второго является растянутость во времени; третий не может обеспечить собственно генетическое улучшение российских популяций овец; четвертый является достаточно дорогостоящим, его результаты — трудно прогнозируемыми и чреватыми побочными негативными последствиями.

Следует отметить, что увеличение плодовитости овец имеет как плюсы, так и минусы [10]. Повышение плодовитости овец мясного типа, выращиваемых в рамках от полуинтенсивного до интенсивного содержания, имеет позитивное экономическое обоснование, тогда как в молочном овцеводстве экономическая прибыль от увеличения производства ягнят может не компенсировать возможные экономические потери от снижения продажи молока по причине необходимости поддерживать искусственное выращивание дополнительных ягнят [70].

Доказано, что плоды, вынашиваемые при многоплодной беременности, подвергаются стрессовым факторам – таким, как недостаток питательных веществ, гипоксия и окислительный стресс [70]. Это приводит к задержке внутриутробного развития, низкой массе тела при рождении [31] и более высокой неонатальной, перинатальной и постнатальной смертности ягнят [22]. У высокоплодовитых овец дефицит метаболических ресурсов во время беременности также увеличивает риск токсикоза беременных матерей [74]. Наконец, высокая плодовитость может иметь негативные последствия для здоровья и продуктивности животных в период после окота и в дальнейшем сказаться на продуктивном долголетии животных [61]. Тем не менее, несмотря на очевидные риски, ввиду растущего спроса на продукты животного происхождения во всем мире повышение плодовитости будет важной целью при разведении овец.

К генетическому улучшению репродуктивной функции у овец могут приводить различные пути.

**Цель исследований:** анализ последних достижений и будущих возможностей селекции для повышения плодовитости овец.

Генетические методы улучшения плодовитости. Внутрипородный отбор. Плодовитость овец в течение долгого времени считалась количественным полигенным признаком с низкой наследуемостью [60], что предполагает медленное ежегодное увеличение на 1–2% при внутрипородном отборе. Высокие значения наследуемости, отмеченные для породы лакон (Lacaune) [61] и шведских овец (Swedish Sheep) [28], вероятно, были отражением сегрегации основных генов, обеспечивающих высокую плодовитость в этих популяциях. Несмотря на относительно низкую наследуемость, размер помета был включен в качестве цели разведения в различные схемы разведения. Статистические модели, используемые при расчете племенной ценности плодовитости, должны учитывать, что размер помета — дискретный показатель — является материнским признаком и что статистические модели должны включать в себя такие параметры, как способ осеменения (после естественной или индуцированной течки), характеристику спермы (свежеполученная, охлажденная, криоконсервированная), а также способ введения спермы в половые пути (цервикальное или внутриматочное осеменение).

В последние годы при селекции на более высокое многоплодие в нескольких программах разведения была принята геномная селекция [8].

Скрещивание. Из множества пород овец во всем мире можно выделить лишь несколько высокопродуктивных пород со средней плодовитостью 2,0–3,0 потомка на овцу за одно ягнение, среди которых – европейские финские (European Finnsheep), хиосские (Chios), романовские (Romanov) и восточно-фризские породы (East Friesian breeds), китайские короткохвостые породы хань (Small-Tail Han) и ху (Hu), тропические барбадосские чернобрюхие овцы (Barbados Black Belly sheep) [23].

К сожалению, история овцеводства пока не знает примеров масштабного и позитивного использования многоплодных пород овец за пределами места их происхождения. Это связано главным образом с трудностями, возникающими в управлении исключительно высокой плодовитостью овец в большинстве производственных систем, их относительно низким производством мяса, молока и шерсти по сравнению с местными породами и в некоторых случаях – с их недостаточной приспособляемостью к новым климатическим условиям, как это было раньше в случае с финской овцой (Finn sheep) [6] и восточно-фризской (East Friesian) породой [33], завезенными из северной Европы в субтропический средиземноморский регион. Тем не менее в отличие от внутрипородной селекции скрещивание местных пород с импортированными высокоплодовитыми породами считается быстрым способом увеличения производства ягнят и успешно применяется во всем мире. Например, плодовитость помесей F1 финских овец была на 22-66% выше, чем у местных пород. Высокое многоплодие пород использовалось в различных системах спаривания включая производство и использование кроссов F1, производство трехпородных кроссов и выведение смешанных пород с различной кровностью по улучшающей породе. При этом выявлено, что гетерозис не оказывал существенного влияния на плодовитость [9].

Многие породы с улучшенными воспроизводительными качествами были образованы путем скрещивания местных пород с плодовитыми породами с последующим межпородным скрещиванием нескольких поколений. Эти породы, как правило, сочетают в себе более высокую плодовитость с преимуществами местных пород по другим полезным признакам: в частности, высокую приспособляемость, неприхотливость в кормлении и в некоторых случаях — устойчивость к болезням. Было обнаружено, что на каждый 1% увеличения размножения финских овец в США рождается примерно на 0,01 ягненка больше на один окот овцы [64]. Породы, содержащие от 25 до 49% кровности финских овец, были выведены, в частности, в США (Polypay), Канаде (Rideau Arcott и Outaouais Arcott) [64] и Англии (Cambridge) [7]. Во Франции путем скрещивания пород романовская (Romanov) и берришон дю шер (Berrichon du Cher) [55] была выведена порода INRA 401, позже названная как Romane. В Израиле в результате скрещивания местных пород с восточно-фризской породой (East Friesian) была получена выдающаяся молочная порода ассаф (Assaf), которая впоследствии была распространена во многих других странах [58].

Использование основных генов для улучшения плодовитости. В 1980-е гг. стало очевидно, что высокая плодовитость некоторых многоплодных пород наследуется как качественный, а не количественный признак ввиду наличия основных генов, оказывающих большое влияние на скорость овуляции и, следовательно, на размер помета [18]. Изучение этих генов, обозначенных как гены плодовитости (Fec), проливает свет на процессы, протекающие в яичниках и регулирующие рост и созревание фолликулов [43], а также функции гипофиза, связанные с высокой плодовитостью [66, 75].

**Полиморфизм генов, связанных с суперсемейством ТСГР.** Первый основной ген, влияющий на плодовитость, обозначенный как FecB, был идентифицирован при анализе родословных австралийской породы бурула (Booroola Merino) [51]. Наличие одной копии мутации Booroola (B+) увеличивало уровень овуляции на 1,65

яйцеклетки и размер помета на 0,9 ягненка на овцу. Дальнейшее увеличение на 1,65 яйцеклетки и 0,3 рожденных ягнят было оценено для овец, гомозиготных по мутации (BB). Позже мутация Booroola была картирована в гене рецептора костного морфогенетического белка типа 1B (BMPR1B) на хромосоме 6 овцы [69].

После разработки теста ДНК для овец, несущих мутацию Booroola, стало ясно, что носительство мутации *FecB* не является исключительным для овец Booroola Merino и что это также является сегрегирующей мутацией для нескольких других плодовитых пород в Индии [13, 17, 53], Индонезии [19], Китая [21, 35]. Мутация, связанная с плодовитостью, смежная с мутацией Booroola в *BMPR1B*, была обнаружена и в иранской породе мехрабан (Mehraban) [63].

BMPR1B принадлежит суперсемейству трансформирующего фактора роста  $\beta$  ( $TGF\beta$ ). Мутации, влияющие на плодовитость, были идентифицированы в других генах этого семейства включая: GDF9 с мутациями, обозначенными как FecG; X-сцепленный ген BMP15 с мутациями, обозначенными как FecX; мутации в TGF-BR, BMP2 и BMP7. Полногеномное секвенирование баранов разных пород в США выявило дополнительные мутации в BMPR1B, BMP15 и GDF9, некоторые из них — с предполагаемым влиянием на функцию генов [34].

Как и в случае с мутацией Booroola, мутации в GDF9 и BMP15 были идентифицированы у различных пород по всему миру. В отличие от мутаций в BMP18 некоторые мутации в BMP15 и GDF9 в гомозиготном состоянии вызывают аномальное развитие яичников, что приводит к полному бесплодию у овец [62, 39].

У некоторых плодовитых пород имеется более одной сегрегирующей мутации в главном гене высокой плодовитости. Например, овцы белклер (Belclare) в Ирландии несут мутации  $FecX^{G}$  и  $FecX^{G}$  в BMP15 и мутацию  $FecG^{H}$  в GDF9. Точно так же мутации FecB и  $FecX^{G}$  разделяются в короткохвостой породе хань (Small-Tail Han) в Китае. С другой стороны, наличие известной мутации в основных генах не было обнаружено у многих плодовитых пород. Так, было установлено, что плодовитая хиосская порода (Chios) не несет мутаций FecB,  $FecX^{H}$  и  $FecX^{H}$  [20].

Ранние исследования предполагали, что многоплодные финские и романовские породы не несут мутаций в *BMP15* или *GDF9*. Однако недавние исследования предоставили доказательства сегрегации мутаций в этих основных генах у данных плодовитых пород [3, 52, 70]. Это поднимает некоторые вопросы, касающиеся различий между породами с точки зрения их высокой плодовитости, наследуемой количественным или качественным образом.

Результаты различных исследований убедительно показали, что оценки эффектов основных генов различаются в разных исследованиях. Повышение плодовитости чистопородных овец, гетерозиготных по гену FecB, по сравнению с неносителями колеблется от 0,2 до 1,1 ягненка на овцу аналогично диапазону 0,4—1,3 ягненка на овцу у кроссов Booroola Merino [26]. Неоднородность среди исследований, касающихся влияния мутаций на плодовитость, также наблюдалась для мутаций в BMP15 (диапазон 0,09—1,13 ягненка на овцу) и GDF9 (диапазон 0,13—0,77 ягненка на овцу).

Регрессионный анализ показал, что различия в эффектах мутаций среди исследований не связаны со средней плодовитостью, характерной для групп, не являющихся носителями. Это предполагает участие неустановленных эффектов генетических факторов и факторов окружающей среды.

**Полиморфизм генов, не относящихся к суперсемейству ТСГ** $\beta$ . Полиморфизм, связанный с большим влиянием на плодовитость, в частности, на скорость овуляции и размер помета у овец, также наблюдался в генах, не связанных с суперсемейством  $TGF\beta$ . Например, мутация B4GALNT2 была впервые описана во французской породе лакон (French Lacaune) и разделяется в этой породе с мутацией  $FecX^L$  [21].

У китайских пород овец были идентифицированы мутации в COIL, FSHR, GUCY1A1, HIRA, INHBB, LEPR, KISS1, NELFE, SLC5A1, SmaD1, PRL и PRLR [37, 41, 65, 73]. Небольшой эффект влияния гена на плодовитость был связан с мутациями в гене рецептора лептина (LEPR), где мутации не увеличивают, а снижают плодовитость по сравнению с аллелем дикого типа. Представляют интерес биологическое значение мутаций в гене лептина овец (LEP), а также взаимодействие различных мутаций в LEP и LEPR и их предполагаемые эффекты на плодовитость овец [56].

Использование основных генов в селекции на высокую плодовитосты. Преимущество интеграции основных генов высокой плодовитости в программу разведения заключается в возможности интрогрессии путем скрещивания желаемых мутаций с другими породами, что может значительно улучшить плодовитость и продуктивность ягнят в течение относительно короткого времени. Результатом таких селекционных стратегий является сохранение преимуществ аборигенной породы в приспособляемости и продуктивности в сочетании с большей плодовитостью. Это является противоположным формированию смешанных пород, где, как правило, проявление желаемых признаков зависит от относительного вклада родительских пород. Чтобы использовать их высокую плодовитость, гомозиготные бараны бурула мерино (Воогооlа Мегіпо) были скрещены со многими породами по всему миру. Результаты показали, что средняя плодовитость поколения F1 гетерозиготных самок с мутацией Воогооlа выше, чем у местных пород овец, примерно на 0,5 ягненка на овцу.

Сообщалось об улучшении производства ягнят местными породами после введения мутации Booroola в породы авасси (Avassi) и ассаф (Assaf) в Израиле с целью получения плодовитого типа овец афек (Afec). Это также было сделано для улучшения производства ягнят породы Деккани (Deccani) в Индии и породы меринос д'Арль (Mérinos d'Arles) во Франции, которые в оригинале имеют низкую плодовитость [32]. Однако неблагоприятные результаты были получены при интрогрессии мутации Booroola в австралийские и американские породы овец, так как смертность ягнят значительно увеличилась у многоплодных овец, выращиваемых в экстенсивных условиях.

Интрогрессия мутации  $FecG^{T}$  в GDF9 в породе тока (Thoka) улучшала плодовитость породы шевиот (Cheviot) в Англии [48]. В то же время авторы указывают, что носительство мутации индуцировало бесплодие у гомозиготных овец. В другом исследовании [16] приводятся сведения о том, что мутация  $FecX^{L}$  в BMP15, вызывающая бесплодие в гомозиготном состоянии, была ликвидирована в породе лакон (Lacaune) во Франции.

После генной интрогрессии разведение гомозиготных овец по основным генным мутациям не рекомендуется в коммерческих стадах ввиду высокой потери ягнят при исключительно высокой плодовитости овец, гомозиготных по BMPR1B, или стерильности овец, гомозиготных по мутациям BMP15 или GDF9. Кроме того, гомозиготность по гену BMPR1B неблагоприятно влияет на вес ягненка при рождении, скорость роста после отъема и живую массу в половозрелом возрасте.

Таким образом, отбор овец для ремонта стада должен производиться по результатам молекулярного генотипирования и определения гетерозиготности и может стать частью системы поддержания стад плодовитых овец с генной интрогрессией. На этой основе были предложены оптимизированные стратегии спаривания для управления гетерозиготным преимуществом основного гена у овец [54].

Дальнейшие исследования генетической основы высокой плодовитости. GWAS, полногеномное секвенирование, анализ транскриптома и протеомные исследования среди пород или с участием пород с высокой и низкой плодовитостью выявили дополнительные генетические вариации, связанные с многоплодием. Эти

исследования определили больше генов как возможных целей для внутрипородной селекции или интрогрессии генов, направленных на повышение плодовитости. Например, с помощью GWAS у белуджских овец (Baluchi) было идентифицировано несколько значимых хромосомных маркеров двоен [30]. Хи et al. (2018), используя массив BeadChip с однонуклеотидным полиморфизмом (SNP) высокой плотности, при помощи GWAS сравнили плодовитые породы вади (Wadi), ху (Hu), исландская (Icelandic), финская овца (Finnsheep) и романовская (Romanov) с низкоплодовитой породой тексель (Texel) [72]. В каждой из пород были обнаружены несколько новых генов-кандидатов, связанных с изменчивостью плодовитости, что подчеркивает различные биологические пути, которые потенциально участвуют в контроле изменчивости плодовитости включая фолликулогенез, функцию яичников, секрецию гонадотропина, плацентарную функцию и выживание эмбриона.

При сравнении овец породы лори-бахтиари (Lori-Bakhtiari), производящих ягнят-одинцов и ягнят-двоен, посредством GWAS был обнаружен ген LHCGR в качестве гена-кандидата, контролирующего многоплодие. Дополнительный GWAS на той же породе овец показал TEX12, BCO2 и WDR70 в качестве генов-кандидатов, влияющих на общее число приплода при рождении [5].

Использование GWAS для сравнения романовской породы (Romanov) с менее плодовитыми породами выявило несколько генов, в том числе LEPR, PDGFRL и KLF5, которые, как известно, участвуют в степени проявления плодовитости овец [48]. В другом исследовании полногеномное секвенирование выявило связь между маркерами гена HIRA и размером помета в породе короткохвостых хань (Small-Tail Han) [77].

Анализ транскриптома яичников, сравнивающий плодовитую породу финских овец (Finnsheep), низкоплодную породу тексель (Texel) и их потомков F1, выявил дифференциально экспрессируемые гены яичников, которые можно считать генами-кандидатами высокой плодовитости [52]. Аналогичный подход к обнаружению дифференциальной экспрессии генов в яичниках между высоко- и низкоплодными породами овец использовался по отношению к черным овцам пород кира (Qira) и хетиан (Hetian) в Китае [14]. Дальнейшие транскриптомные исследования выявили дифференциальную регуляцию микроРНК и длинных некодирующих РНК, связанных с плодовитостью у разных овец, а транскриптомный анализ яичников выявил альтернативный сплайсинг, связанный с плодовитостью у разных пород овец [47].

Протеомные исследования с многоплодными и малоплодными короткохвостыми овцами хань (Small-Tail Han) выявили дифференциальную экспрессию генов между группами в яичниках и матке, что еще раз продемонстрировало сложность генетического контроля плодовитости [38].

**Редактирование генов и селекция для высокой плодовитости.** Технологии редактирования генома открывают новый путь модификации генов, кодирующих желательные параметры у сельскохозяйственных животных, после того, как становится известен целевой ген [57]. Например, создание комолого молочного скота путем редактирования генов продемонстрировало эффективность этого метода [12].

Модификация *BMPR1B* у овец с использованием техники редактирования генов CRISPR/Cas9 показала, что редактирование генома может заменить традиционные долгосрочные подходы к генной интрогрессии. Редактирование генов также можно использовать для введения мутации с умеренным или незначительным влиянием на плодовитость, приспосабливая ожидаемое генетическое увеличение плодовитости к практическим условиям содержания [77]. Однако в 2017 г. Управление по санитарному надзору за качеством пищевых продуктов и медикаментов США объявило, что рассматривает использование CRISPR/Cas9 у животных как форму генной терапии и что оно должно регулироваться как ветеринарный препарат. В 2018 г. Европейский

суд постановил (дело C-528/16), что редактирование генома, включая CRISPR/Cas9, считается генной инженерией, а продукты, разработанные с использованием редактирования генов, должны быть помечены как «генетически модифицированные» [29]. Это может значительно ограничить использование редактирования генов в качестве инструмента селекции, направленной на достижение генетически обусловленной более высокой плодовитости у овец. В Российской Федерации методика редактирования генов в качестве инструмента селекции законодательно не регулируется.

Митохондриальная ДНК и генетический контроль плодовитости. Помимо полиморфизмов ядерной ДНК, вариации последовательности митохондриальной ДНК (мтДНК) также связаны с вариациями плодовитости овец. МтДНК играет важную роль в клеточных функциях включая производство энергии, образование активных форм кислорода, клеточный гомеостаз кальция, термогенез и апоптоз. мтДНК овец представляет собой небольшую кольцевую молекулу длиной около 16,7 т.п.н., которая содержит 13 генов, кодирующих полипептиды, 2 гена рибосомной РНК, 22 гена транспортной РНК (тРНК) и «контрольную область», которая контролирует митохондриальную репликацию и транскрипцию.

Исследованиями были идентифицированы 5 митохондриальных гаплогрупп овец (НА, НВ, НС, НВ и НЕ) [44]. У азиатских пород овец основными гаплотипами являются А и В, тогда как у европейских овец доминирует гаплотип В. У овец, разводимых на Ближнем Востоке и в Азии, присутствует гаплотип С. Значительные различия в многоплодии существуют среди овец, принадлежащих А-, В- и С-гаплогруппам. Например, у породы афек-ассаф (Afec-Assaf) средняя плодовитость овец гаплогрупп А, В и С составила 2,14; 2,25; 2,30 ягненка на овцу соответственно. Кроме того, связь между размером помета и полиморфизмом гена тРНК-Lys мтДНК была продемонстрирована у короткохвостых овец хань (Small-Tail Han) [15]. Примерно в это же время было продемонстрировано, что митохондриальные полиморфизмы также связаны с размером гнезда у свиней [65]. Функциональные различия между гаплотипами мтДНК в метаболических признаках – таких, как потребление кислорода, внеклеточное окисление и экспрессия мРНК, были показаны в экспериментах с трансмитохондриальными гибридами свиней и КРС [73]. У овец роль митохондриальной функции во влиянии на вариации плодовитости была продемонстрирована дифференциальной экспрессией белков, связанных с функциями митохондриального окисления, при сравнении плодовитых и неплодовитых овец хань (Small-Tail Han) [46].

Селекция митохондриального гаплотипа может быть средством для осуществления умеренного изменения (увеличения или уменьшения) плодовитости — в основном у неевропейских пород овец. Однако если принимать во внимание, что мтДНК наследуется по материнской линии, отбор желаемых митохондриальных гаплогрупп не может быть осуществлен путем отбора баранов. Это является обычной практикой во многих программах разведения овец и скорее зависит исключительно от отбора среди самок, выбранных в качестве замены. Поскольку вариации мтДНК связаны с различными продуктивными признаками у сельскохозяйственных животных, при отборе гаплотипа мтДНК у овец необходимо учитывать возможное влияние на различные продуктивные признаки и признаки здоровья.

#### Выводы

Большинство программ разведения для более высокой плодовитости в наши дни основано на традиционных методах скрещивания и межпородного или внутрипородного отбора. Обнаружение основных генов, влияющих на плодовитость, и разработка молекулярных средств для выявления носителей желаемых мутаций были

весьма привлекательными для овцеводов ввиду возможности быстрого прогресса в производстве ягнят. Тем не менее неполноценность гомозиготных самок, несущих мутации известных основных генов, ввиду бесплодия (GDF9, BMP15) или исключительной плодовитости (BMPR1B), наряду с вариабельностью влияния основных генов на плодовитость, препятствует широкомасштабному внедрению основной стратегии селекции генов. Кроме того, необходимость применения массового генотипирования для сохранения гетерозиготных самок в качестве замены ограничивает использование основных генов для более высокой плодовитости. Геномные, транскриптомные и протеомные исследования выявляют все больше и больше генов, участвующих в различных биологических путях, контролирующих скорость овуляции.

Таким образом, перспектива на будущее, по-видимому, заключается в том, чтобы идентифицировать набор генов с умеренным и незначительным влиянием на плодовитость. Это позволит использовать метод селекции с помощью маркеров для внутрипородной селекции на более высокую плодовитость, относящуюся к конкретной системе овцеводства.

#### Библиографический список

- 1. *Айбазов А.-М.М., Мамонтова Т.В.* Эффективное воспроизводство овец и коз: Монография. Ставрополь: «Ставрополь-Сервис-Школа», 2020. 212 с.
- 2. Дейкин А.В., Селионова М.И., Криворучко А.Ю., Коваленко Д.В., Трухачев В.И. Генетические маркеры в мясном овцеводстве // Вавиловский журнал генетики и селекции. -2016. Т. 20, № 5. С. 576–583. https://doi.org/10.18699/VJ16.139.
- 3. Марзанов Н.С., Малюченко О.П., Корецкая Е.А., Марзанова С.Н., Марзанова Л.К., Тимошенко Ю.И., Файзуллаев Ф.Р. Характеристикаромановской породы полокусу ВМР-15, ответственному за многоплодие овец // Российская сельскохозяйственная наука. -2019. № 3. Pp. 47-50. https://doi.org/10.31857/S2500-26272019347-50.
- 4. *Трухачев В.И.*, *Селионова М.И.*, *Криворучко А.Ю.*, *Айбазов А.М.М.* Генетические маркеры мясной продуктивности овец (Ovis aries L.). Сообщение І. Миостатин, кальпаин, кальпастатин // Сельскохозяйственная биология. − 2018. − Т. 53, № 6. − С. 1107–1119. https://doi.org/10.15389/agrobiology.2018.6.1107rus.
- 5. Abdoli R., Mirhoseini S.Z., Ghavi Hossein-Zadeh N., Zamani P., Ferdosi M.H., Gondro C. Genome-wide association study of four composite reproductive traits in Iranian fat-tailed sheep//Reprod. Fertil. Dev. −2019. −№ 31.−Pp. 1127–1133. https://doi.org/10.1071/RD18282.
- 6. *Aboul-Naga A.M.* Finnsheep and their crosses under subtropical conditions // Agric. Food Sci. − 1988. − № 60. − Pp. 473–480. https://doi.org/10.23986/afsci.72323.
- 7. Ap Dewi I., Owen J.B., El-Sheikh A., Axford R.F.E., Beigi-Nassiri M. Variation in ovulation rate and litter size of Cambridge sheep // Animal Science. 1996. № 62. Pp. 489—494. https://doi.org/10.1017/S1357729800015022.
- 8. Bolormaa S., Brown D.J., Swan A.A., van der Werf J.H.J., Hayes B.J., Daetwyler H.D. Genomic prediction of reproduction traits for Merino sheep // Anim. Genet. 2017. № 48. Pp. 338–348. https://doi.org/10.1111/age.12541.
- 9. *Boylan W.* Crossbreeding for fecundity // Land R., Robinson D. (Eds.). Genetics of Reproduction in Sheep. Butterwoorth, London, UK. 1985. Pp. 19–24.
- 10. Butterworths Kenyon P.R., Roca Fraga F.J., Blumer S., Thompson A.N. Triplet lambs and their dams-a review of current knowledge and management systems // New Zeal. J. Agric. Res. 2019. № 62. Pp. 399–437. https://doi.org/10.1080/00288233.2019.1616568.
- 11. Byrne T.J., Ludemann C.I., Amer P.R., Young M.J. Broadening breeding objectives for maternal and terminal sheep // Livest. Sci. 2012. № 144. Pp. 20–36. https://doi.org/10. 1016/j.livsci.2011.10.010.

- 12. Carlson D.F., Lancto C.A., Zang B., Kim E. S., Walton M., Oldeschulte D., Seabury C., Sonstegard T.S., Fahrenkrug S.C. Production of hornless dairy cattle from genome-edited cell lines // Nat. Biotechnol. 2016. № 34. Pp. 479–481. https://doi.org/10.1038/nbt. 3560.
- 13. Chaudhari A., Ramanujam R., Ragothaman V. Effect of Booroola fecundity (FeCB) gene on litter size and scope for use in restoration of Nilagiri sheep from threatened status // Rev. Agrária Acadêmica. − 2019. − № 2. − Pp. 11–16.
- 14. Chen H.Y., Shen H., Jia B., Zhang Y.S., Wang X.H., Zeng X.C. Differential gene expression in ovaries of Qira black sheep and Hetian sheep using RNA-Seq technique // PLoS One. −2015. − № 10. − P. e0120170. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0120170.
- 15. Chen X., Wang D., Xiang H., Dun W., Brahi D.O.H., Yin T., Zhao X. Mitochondrial DNA T7719G in tRNA-Lys gene affects litter size in Small-tailed Han sheep // J. Anim. Sci. Biotechnol. 2017. № 8. P. 31. https://doi.org/10.1186/s40104–017–0160-x.
- 16. *Chong Y., Liu G., Jiang X.* Effect of BMPRIB gene on litter size of sheep in China: a meta-analysis // Anim. Reprod. Sci. −2019. −№ 210. −P. 106175. https://doi.org/10.1016/j. anireprosci.2019.106175.
- 17. Dash S., Maity A., Bisoi P.C., Palai T.K., Polley S., Mukherjee A., De S. Coexistence of polymorphism in fecundity genes bmpr 1b and gdf 9 of indian kendrapada sheep // Explor Anim. Med. Res. 2017.  $\mathbb{N}$  7. Pp. 33–38.
- 18. *Davis G.H.* Major genes affecting ovulation rate in sheep // Genet. Sel. Evol. 2005. № 37. Pp. 11–23. https://doi.org/10.1051/gse:2004026.
- 19. Davis G.H., Galloway S.M., Ross I.K., Gregan S.M., Ward J., Nimbkar B.V., Ghalsasi P.M., Nimbkar C., Gray G.D., Subandriyo Inounu I., Tiesnamurti B., Martyniuk E., Eythorsdottir E., Mulsant P., Lecerf F., Hanrahan J.P., Bradford G.E., Wilson T. DNA tests in prolific sheep from eight countries provide new evidence on origin of the booroola (FecB) mutation // Biol. Reprod. − 2002. − № 66. − Pp. 1869–1874. https://doi.org/10.1095/biolreprod66.6.1869.
- 20. *Dinçel D., Ardiçli S., Şamli H., Balci F.* Genotype frequency of FecXB (Belclare) mutation of BMP15 gene in Chios (Sakiz) sheep. Uludağ Üniversitesi Vet // Fakültesi Derg. 2018. № 37. Pp. 1–5. https://doi.org/10.30782/uluvfd.413857.
- 21. Drouilhet L., Mansanet C., Sarry J., Tabet K., Bardou P., Woloszyn F., Lluch J., Harichaux G., Viguié C., Monniaux D., Bodin L., Mulsant P., Fabre S. The highly prolific phenotype of lacaune sheep is associated with an ectopic expression of the B4GALNT2 gene within the ovary // PLoS Genet. −2013. − № 9. − P. e1003809. https://doi.org/10. 1371/journal.pgen.1003809.
- 22. Dwyer C.M., Conington J., Corbiere F., Holmøy I.H., Muri K., Nowak R., Rooke J., Vipond J., Gautier J.M. Invited review: improving neonatal survival in small ruminants: science into practice // Animal. −2016. −№ 10.−Pp. 449–459. https://doi.org/10.1017/S1751731115001974.
- 23. Fahmy M.H., Davis G.H. Breeds with newly discovered genes for prolificacy//Fahmy M.H. (ed.): Prolific Sheep. CAB International, Wallingford, UK, 1996. Pp. 174–177.
  - 24. FAOSTAT, 2021. http://www.fao.org/faostat/en/#data/QL. Accessed 31 March 2023.
- 25. Fariello M. I., Servin B., Tosser-Klopp G., Rupp R., Moreno C., Cristobal M.S., Boitard S. Selection signatures in worldwide sheep populations // PLoS One. 2014. № 9. P. e103813. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0103813.
- 26. Fogarty N.M. A review of the effects of the Booroola gene (FecB) on sheep production // Small Rumin. Res. 2009. № 85. Pp. 75–84. https://doi.org/10.1016/j. smallrumres.2009. 08.003.
- 27. Garel M., Cugnasse J.M., Gaillard J.M., Loison A., Gibert P., Douvre P., Dubray D. Reproductive output of female mouflon (Ovis gmelini musimon × Ovis sp.): a comparative analysis // J. Zool. − 2005. − № 266. − Pp. 65–71. https://doi.org/10.1017/ S0952836905006667.

- 28. Gates P.J., Urioste J.I. Heritability and sire genetic trend for litter size in Swedish sheep estimated with linear and threshold models // Acta Agric. Scand. Sect. A-Anim. Sci. -1995. -N 45 (4). Pp. 228–235. https://doi.org/10.1080/09064709509413081.
- 29. Gelinsky E., Hilbeck A. European Court of Justice ruling regarding new genetic engineering methods scientifically justified: a commentary on the biased reporting about the recent ruling // Environ. Sci. Eur. -2018. No 30 (1). Pp. 52. https://doi.org/10.1186/s12302-018-0182-9.
- 30. Gholizadeh M., Rahimi-Mianji G., Nejati-Javaremi A., De Koning D.J., Jonas E. Genomewide association study to detect QTL for twinning rate in Baluchi sheep // J. Genet. -2014. -N 93. Pp. 489–493. https://doi.org/10.1007/s12041-014-0372-1.
- 31. *Gootwine E.* Meta-analysis of morphometric parameters of late-gestation fetal sheep developed under natural and artificial constraints // J. Anim. Sci. −2013. − № 91 (1). − Pp. 111–119. https://doi.org/10.2527/jas.2013–5363.
- 32. *Gootwine E.* Mini review: breeding Awassi and Assaf sheep for diverse management conditions // Trop. Anim. Health Prod. − 2011. − № 43. − Pp. 1289–1296. https://doi.org/10. 1007/s11250–011–9852-y.
- 33. *Gootwine E., Goot H.* Lamb and milk production of Awassi and East-Friesian sheep and their crosses under Mediterranean environment // Small Ruminant Research. 1996. № 20. Pp. 255–260. https://doi.org/10.1016/0921–4488(95)00807–1.
- 34. Heaton M.P., Smith T.P.L., Freking B.A., Workman A.M., Bennett G.L., Carnahan J.K., Kalbfleisch T.S. Using sheep genomes from diverse U.S. Breeds to identify missense variants in genes affecting fecundity // F1000Research. -2017. No. 6. P. 1303. https://doi. org/10.12688/f1000research.12216.1.
- 35. *Jia J., Chen Q., Gui L., Jin J., Li Y., Ru Q., Hou S.* Association of polymorphisms in bone morphogenetic protein receptor-1B gene exon-9 with litter size in Dorset, Mongolian, and Small Tail Han ewes // Asian-Australasian J. Anim. Sci. − 2019. − № 32. − Pp. 949–955. https://doi.org/10.5713/ajas.18.0541.
- 36. Kijas J.W., Lenstra J.A., Hayes B., Boitard S., Porto Neto L.R., San Cristobal M., Servin B., McCulloch R., Whan V., Gietzen K., Paiva S., Barendse W., Ciani E., Raadsma H., McEwan J., Dalrymple B. Genome-wide analysis of the world's sheep breeds reveals high levels of historic mixture and strong recent selection // PLoS Biol. − 2012. − № 10. − P. e1001258. https://doi.org/10.1371/journal.pbio.1001258.
- 37. La Y., Liu Q., Zhang L., Chu M. Single nucleotide polymorphisms in SLC5A1, CCNA1, and ABCC1 and the association with litter size in small-tail Han sheep // Animals. 2019. № 9. P. 432. https://doi.org/10.3390/ani9070432.
- 38. La Y., Tang J., Guo X., Zhang L., Gan S., Zhang X., Zhang J., Hu W., Chu M. Proteomic analysis of sheep uterus reveals its role in prolificacy // J. Proteomics. 2020. № 210. P. 103526. https://doi.org/10.1016/j.jprot.2019.103526.
- 39. Lassoued N., Benkhlil Z., Woloszyn F., Rejeb A., Aouina M., Rekik M., Fabre S., Bedhiaf-Romdhani S. FecX Bar a Novel BMP15 mutation responsible for prolificacy and female sterility in Tunisian Barbarine Sheep // BMC Genet. − 2017. − № 18. − P. 43. https://doi.org/10.1186/s12863–017–0510-x.
- 40. Lv F.H., Agha S., Kantanen J., Colli L., Stucki S., Kijas J.W., Joost S., Li M.H., Marsan P.A. Adaptations to climate-mediated selective pressures in sheep // Mol. Biol. Evol. 2014. № 31. Pp. 3324–3343. https://doi.org/10.1093/molbev/msu264.
- 41. Ma H., Fang C., Liu L., Wang Q., Aniwashi J., Sulaiman Y., Abudilaheman K., Liu W. Identification of novel genes associated with litter size of indigenous sheep population in Xinjiang, China using specific-locus amplified fragment sequencing technology // Peer J. -2019. No 7. P. e8079. https://doi.org/10.7717/peerj.8079.

- 42. Martin P., Raoul J., Bodin L. Effects of the FecL major gene in the Lacaune meat sheep population // Genet. Sel. Evol. -2014.  $-N_{\odot}$  46. -P. 48. https://doi.org/10.1186/1297-9686-46-48.
- 43. *McNatty K.P., Heath D.A., Clark Z., Reader K., Juengel J.L., Pitman J.L.* Ovarian characteristics in sheep with multiple fecundity genes // Reproduction. 2017. № 153. Pp. 233–240. https://doi.org/10.1530/REP-16–0587.
- 44. *Meadows J.R.S.*, *Cemal I.*, *Karaca O.*, *Gootwine E.*, *Kijas J.W.* Five ovine mitochondrial lineages identified from sheep breeds of the near east // Genetics. 2007. № 175. Pp. 1371–1379. https://doi.org/10.1534/genetics.106.068353.
- 45. Menéndez Buxadera A., Alexandre G., Mandonnet N. Discussion on the importance, definition and genetic components of the number of animals born in the litter with particular emphasis on small ruminants in tropical conditions // Small Rumin. Res. − 2004. − № 54. − Pp. 1–11. https://doi.org/10.1016/j.smallrumres.2003.10.007.
- 46. *Miao X., Luo Q., Zhao H., Qin X.* Ovarian proteomic study reveals the possible molecular mechanism for hyper prolificacy of Small Tail Han sheep // Sci. Rep. 2016. № 6. P. 27606. https://doi.org/10.1038/srep27606.
- 47. *Miao X., Luo Q., Zhao H., Qin X. O*varian transcriptomic analysis reveals the alternative splicing events associated with fecundity in different sheep breeds // Anim. Reprod. Sci. − 2018. − № 198. − Pp. 177–183. https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2018.09.017.
- 48. Nicol L., Bishop S.C., Pong-Wong R., Bendixen C., Holm L.E., Rhind S.M., Mc-Neilly A.S. Homozygosity for a single base-pair mutation in the oocyte-specific GDF9 gene results in sterility in Thoka sheep // Reproduction. − 2009. − № 138. − Pp. 921–933. https://doi.org/10.1530/REP-09–0193.
- 49. Nosrati M., Asadollahpour Nanaei H., Amiri Ghanatsaman Z., Esmailizadeh A. Whole genome sequence analysis to detect signatures of positive selection for high fecundity in sheep // Reprod. Domest. Anim. -2019. No 54. Pp. 358–364. https://doi.org/10.1111/ rda.13368.
- 50. *Notter D.R.* Genetic aspects of reproduction in sheep // Reprod. Domest. Anim. 2008 № 2. Pp. 122–128. https://doi.org/10.1111/j.1439–0531.2008.01151.x.
- 51. *Piper L.R., Bindon B.M., Davis G.H.* The single gene inheritance of the high litter size of the booroola merino // Land R.B., Robinson D.W. (Eds.). Genetics of Reproduction in Sheep. Butterworths, London Elsevier. 1985. Pp. 115–125. https://doi.org/10.1016/B978–0–407–00302–6.50016–7.
- 52. Pokharel K., Peippo J., Honkatukia M., Seppälä A., Rautiainen J., Ghanem N., Hamama T.M., Crowe M.A., Andersson M., Li M.H., Kantanen J. Integrated ovarian mRNA and miRNA transcriptome profiling characterizes the genetic basis of prolificacy traits in sheep (Ovis aries) // BMC Genomics. − 2018. − № 19. − Pp. 1–17. https://doi.org/10.1186/s12864–017–4400–4.
- 53. *Praveena K., Ramana D.B.V., Pankaj P.K.* Booroola Gene (FecB) Polymorphism and its Liaison with Litter Size in Indigenous Sheep Breeds of Telangana, India // J. Anim. Res. 2017. № 7. Pp. 227–231. https://doi.org/10.5958/2277–940X.2017.00034.1.
- 54. Raoul J., Palhière I., Astruc J.M., Swan A., Elsen J.M. Optimal mating strategies to manage a heterozygous advantage major gene in sheep // Animal. 2018. № 12. Pp. 454–463. https://doi.org/10.1017/S1751731117001835.
- 55. Razungles J., Tchamitchian L., Bibe B., Lefevre C., Brunel J., Ricordeau G. The performance of Romanov crosses and their merits as a basis for selection // Land R., Robinson D. (Eds.). Genetics of Reproduction in Sheep. Butterworths, London—Elsevier.—1985.—Pp. 39—45.
- 56. Reicher S., Gertler A., Seroussi E., Shpilman M., Gootwine E. Biochemical and in vitro biological significance of natural sequence variation in the ovine leptin gene // Gen. Comp. Endocrinol. −2011. −№ 173. −Pp. 63–71. https://doi.org/10.1016/j.ygcen.2011.04.030.

- 57. Ruan J., Xu J., Chen-Tsai R.Y., Li K. Genome editing in livestock: Are we ready for a revolution in animal breeding industry? // Transgenic Res. 2017. № 26. Pp. 715–726. https://doi.org/10.1007/s11248–017–0049–7.
- 58. Rummel T., Valle Zàrate A., Gootwine E. The world wide gene flow of the improved awasi and assaf sheep breeds from Israel // Gene Flow in Animal Genetic Resources: A Study on Status, Impact and Trends. GTZ, BMZ. 2006. Pp. 305–358.
- 59. *Safari E., Fogarty N.M., Gilmour A.R.* A review of genetic parameter estimates for wool, growth, meat and reproduction traits in sheep // Livest. Prod. Sci. 2005. № 92. Pp. 271–289. https://doi.org/10.1016/j.livprodsci.2004.09.003.
- 60. San Cristobal-Gaudy M., Bodin L., Elsen J. M., Chevalet C. Genetic components of litter size variability in sheep // Genet. Sel. Evol. 2001. № 33. P. 249. https://doi.org/10.1186/1297–9686–33–3–249.
- 61. Sinclair K.D., Rutherford K.M.D., Wallace J.M., Brameld J.M., Stöger R., Alberio R., Sweetman D., Gardner D.S., Perry V.E.A., Adam C.L., Ashworth C.J., Robinson J.E., Dwyer C.M. Epigenetics and developmental programming of welfare and production traits in farm animals // Reprod. Fertil. Dev. − 2016. − № 28. − Pp. 1443−1478. https://doi. org/10.1071/RD16102.
- 62. Souza C.J.H., McNeilly A.S., Benavides M.V., Melo E.O., Moraes J.C.F. Mutation in the protease cleavage site of GDF9 increases ovulation rate and litter size in heterozygous ewes and causes infertility in homozygous ewes // Anim. Genet. − 2014. − № 45. − Pp. 732–739. https://doi.org/10.1111/age.12190.
- 63. *Talebi R.*, *Ahmadi A.*, *Afraz F.*, *Sarry J.*, *Woloszyn F.*, *Fabre S.* Detection of single nucleotide polymorphisms at major prolificacy genes in the Mehraban sheep and association with litter size // Ann. Anim. Sci. − 2018. − № 18. − Pp. 685–698. https://doi.org/10. 2478/aoas-2018–0014.
- 64. *Thomas D.L.* Performance and utilization of Northern European short-tailed breeds of sheep and their crosses in North America: a review // Animal. 2010. № 4. Pp. 1283–1296. https://doi.org/10.1017/S1751731110000856.
- 65. *Tian Z.L.*, *Tang J.S.*, *Sun Q.*, *Wang Y.Q.*, *Zhang X.S.*, *Zhang J.L.*, *Chu M.X.* Tissue expression and polymorphism of sheep SmaD1 gene and their association with litter size // Sci. Agric. Sin. − 2019. − № 52. − Pp. 755–766. https://doi.org/10.3864/j. issn.0578–1752. 2019.04.015.
- 66. Trukhachev V., Skripkin V., Kvochko A., Yatsyk O., Krivoruchko A., Kulichenko A., Kovalev D., Pisarenko S., Volynkina A., Selionova M., Aybazov M., Shumaenko S., Omarov A., Mamontova T. Polymorphisms of the IGF1 gene in Russian sheep breeds and their influence on some meat production parameters // Slovenian Veterinary Research. − 2016. − № 53 (2). − Pp. 77–83. EDN XFOXBX.
- 67. *Vera M., Aguion M., Bouza C.* Detection of grivette BMP15 prolificacy variant (FecX) in different sheep breeds presented in Galicia (NW Spain) // Gene Rep. 2018. № 12. Pp. 109–114. https://doi.org/10.1016/j.genrep.2018.06.008.
- 68. Wang D., Ning C., Xiang H., Zheng X., Kong M., Yin T., Liu J., Zhao X. Polymorphism of mitochondrial tRNA genes associated with the number of pigs born alive // J. Anim. Sci. Biotechnol. -2018. No 9. P. 86. https://doi.org/10.1186/s40104-018-0299-0.
- 69. Wilson T., Wu X. Y., Juengel J.L., Ross I.K., Lumsden J.M., Lord E.A., Dodds K.G., Walling G.A., Mc Ewan J.C., O'Connell A.R., McNatty K.P., Montgomery G.W. Highly prolific booroola sheep have a mutation in the intracellular kinase domain of bone morphogenetic protein IB receptor (ALK-6) that is expressed in both oocytes and granulosa cells 1 // Biol. Reprod. 2001.  $Noldsymbol{0}$  64. Pp. 1225–1235. https://doi.org/10.1095/ biolreprod64.4.1225.

- 70. Wolfová M., Wolf J., Krupová Z., Margetín M. Estimation of economic values for traits of dairy sheep: II. Model application to a production system with one lambing per year//J. Dairy Sci. −2009. −№ 92. −Pp. 2195–2203. https://doi.org/10.3168/jds.2008–1412.
- 71. Wu G., Bazer F.W., Satterfield M.C., Li X., Wang X., Johnson G.A., Burghardt R.C., Dai Z., Wang J., Wu Z. Impacts of arginine nutrition on embryonic and fetal development in mammals // Amino Acids. − 2013. − № 45 (2). − Pp. 241–256. https://doi.org/10.1007/s00726–013–1515-z.
- 72. Xu S.S., Gao L., Xie X.L., Ren Y.L., Shen Z.Q., Wang F., Shen M., Eypórsdóttir E., Hallsson J.H., Kiseleva T., Kantanen J., Li M.H. Genome-wide association analyses highlight the potential for different genetic mechanisms for litter size among sheep breeds // Front. Genet. − 2018. − № 9. − Pp. 1–14. https://doi.org/10.3389/fgene.2018.00118.
- 73. Yu G., Xiang H., Tian J., Yin J., Pinkert C.A., Li Q., Zhao X. Mitochondrial haplotypes influence metabolic traits in porcine transmitochondrial cybrids // Sci. Rep. 2015. № 5. P. 13118. https://doi.org/10.1038/srep13118.
- 74. Zamir S., Rozov A., Gootwine E. Treatment of pregnancy toxaemia in sheep with flunixin meglumine // Vet. Rec. − 2009. − № 165. − Pp. 265–266. https://doi.org/10.1136/vr.165.9.265.
- 75. Zheng J., Wang Z., Yang H., Yao X., Yang P., Ren C.F., Wang F., Zhang Y.L. Pituitary transcriptomic study reveals the differential regulation of lncRNAs and mRNAs related to prolificacy in different FecB genotyping sheep // Genes (Basel). − 2019. − № 10. − Pp. 1–17 https://doi.org/10.3390/genes10020157.
- 76. Zhou M., Pan Z., Cao X., Gu X., He X., Sun Q., Di R., Hu W., Wang X., Zhang X., Zhang J., Zhang C., Liu Q., Chu M. Single nucleotide polymorphisms in the HIRA gene affect litter size in Small Tail Han sheep // Animals. − 2018. − № 8. − P. 71. https://doi.org/10.3390/ani8050071.
- 77. Zhou S., Yu H., Zhao X., Cai B., Ding Q., Huang Y., Li Yaxin, Li Yan, Niu Y., Lei A., Kou Q., Huang X., Petersen B., Ma B., Chen Y., Wang X. Generation of gene-edited sheep with a defined Booroola fecundity gene (FecBB) mutation in bone morphogenetic protein receptor type 1B (BMPR1B) via clustered regularly interspaced short palindromic repeat (CRISPR)/CRISPR-associated (Cas) 9 // Reprod. Fertil. Dev. − 2018. − № 30. − Pp. 1616–1621. https://doi.org/10.1071/RD18086.

#### TO THE ISSUE OF GENETIC IMPROVEMENT OF PROLIFICACY IN SHEEP

#### M.I. SELIONOVA<sup>1</sup>, A.-M.M. AYBAZOV<sup>2</sup>

(¹R ussian State Agrarian University – Moscow Timiryazev Agricultural Academy, ²N orth Caucasus Federal Agrarian Research Centre)

Most sheep breeds are low-prolific, which, along with other reasons, leads to low profitability of the industry. In intensive systems of industrial sheep breeding, high prolificacy of sheep can increase the efficiency of sheep production. Cross-breeding of low-prolific breeds with high-prolific breeds has been the main means of genetic improvement of prolificacy, while intra-breed selection has been considered relatively ineffective due to low heritability of the trait. Mutations that reliably affect ovulation rate and hence lamb numbers have been found in several breeds around the world in genes designated as "major genes". Most of these mutations are mapped in genes related to the  $TGF\beta$  superfamily. Genotyping for these major genes permits the use of a marker-assisted selection method for crossbreeding to introduce useful mutations into new breeds. Mitochondrial DNA analysis, whole genome association studies (GWAS), whole genome sequencing, transcriptome analysis and proteomic studies of high- and low-prolific sheep have identified additional

genetic variations with moderate or minor effects on prolificacy. Using information on polymorphisms in these "medium genes" and "minor genes" may facilitate selection work for higher prolificacy within a particular production system. Although high prolificacy is associated with a risk of pregnancy toxicosis, increased embryonic mortality, reduced lamb survival in early postnatal ontogeny, and a high risk of shortening the productive longevity of sheep, the prospect is to identify a set of genes with moderate effects on prolificacy.

Key words: sheep, prolificacy genes, gene introgression

#### References

- 1. *Aybazov A. M.M., Mamontova T.V.* Efficient Reproduction of Sheep and Goats: Monograph. Stavropol': "Stavropol'-Servis-Shkola", 2020: 212. (In Rus.)
- 2. Deykin A.V., Selionova M.I., Krivoruchko A.Yu., Kovalenko D.V., Trukhachev V.I. Genetic Markers in Meat Sheep Breeding. Vavilovskiy zhurnal genetiki i selektsii. 2016; 20; 5: 576–583. URL: https://doi.org/10.18699/VJ16.139 (In Rus.)
- 3. Marzanov N.S., Malyuchenko O.P., Koretskaya E.A., Marzanova S.N., Marzanova L.K., Timoshenko Yu.I., Fayzullaev F.R. Characteristics of the Romanovskaya Breed According to the BMP-15 Locus Responsible for the Multiplicity of Sheep. Rossiyskaya sel'skokhozyaystvennayanauka. 2019;3:47–50. https://doi.org/10.31857/S2500–26272019347–50 (In Rus.)
- 4. Trukhachev V.I., Selionova M.I., Krivoruchko A.Yu., Aybazov A.M.M. Genetic Markers of Meat Productivity of Sheep (Ovis aries L.). Communication I. Myostatin, calpain, calpastatin. Sel'skokhozyaystvennaya biologiya. 2018; 53; 6: 1107–1119. URL: https://doi.org/10.15389/agrobiology.2018.6.1107rus. (In Rus.)
- 5. Abdoli R., Mirhoseini S.Z., Ghavi Hossein-Zadeh N., Zamani P., Ferdosi M.H., Gondro C. Genome-wide association study of four composite reproductive traits in Iranian fat-tailed sheep. Reprod. Fertil. Dev. 2019; 31: 1127–1133 URL: https://doi.org/10.1071/RD18282
- 6. *Aboul-Naga A.M.* Finnsheep and their crosses under subtropical conditions. Agric. Food Sci. 1988; 60: 473–480. URL: https://doi.org/10.23986/afsci.72323
- 7. Ap Dewi I., Owen J.B., El-Sheikh A., Axford R.F.E., Beigi-Nassiri M. Variation in ovulation rate and litter size of Cambridge sheep. Animal Science.1996; 62: 489–494. URL: https://doi.org/10.1017/S1357729800015022
- 8. Bolormaa S., Brown D.J., Swan A.A., van der Werf J.H.J., Hayes B.J., Daetwyler H.D. Genomic prediction of reproduction traits for Merino sheep. Anim. Genet. 2017; 48: 338–348. URL: https://doi.org/10.1111/age.12541
- 9. Boylan W. Crossbreeding for fecundity. In: Land R., Robinson D. (Eds.). Genetics of Reproduction in Sheep. Butterwoorth, London, UK, 1985: 19–24.
- 10. Butterworths Kenyon P.R., Roca Fraga F.J., Blumer S., Thompson A.N. Triplet lambs and their dams—a review of current knowledge and management systems. New Zeal. J. Agric. Res. 2019; 62: 399–437. URL: https://doi.org/10.1080/00288233.2019.1616568
- 11. Byrne T.J., Ludemann C.I., Amer P.R., Young M.J. Broadening breeding objectives for maternal and terminal sheep. Livest. Sci. 2012; 144: 20–36. URL: https://doi.org/10.1016/j.livsci.2011.10.010
- 12. Carlson D.F., Lancto C.A., Zang B., Kim E.—S., Walton M., Oldeschulte D., Seabury C., Sonstegard T.S., Fahrenkrug S.C. Production of hornless dairy cattle from genome-edited cell lines. Nat. Biotechnol. 2016; 34: 479–481. URL: https://doi.org/10.1038/nbt. 3560
- 13. Chaudhari A., Ramanujam R., Ragothaman V. Effect of Booroola fecundity (FeCB) gene on litter size and scope for use in restoration of Nilagiri sheep from threatened status. Rev. Agrária Acadêmica. 2019; 2: 11–16.

- 14. Chen H.Y., Shen H., Jia B., Zhang Y.S., Wang X.H., Zeng X.C. Differential gene expression in ovaries of Qira black sheep and Hetian sheep using RNA-Seq technique. PLoS One. 2015; 10; e0120170. URL: https://doi.org/10.1371/journal.pone.0120170
- 15. Chen X., Wang D., Xiang H., Dun W., Brahi D.O.H., Yin T., Zhao X. Mitochondrial DNA T7719G in tRNA-Lys gene affects litter size in Small-tailed Han sheep. J. Anim. Sci. Biotechnol. 2017; 8: 31. URL: https://doi.org/10.1186/s40104-017-0160-x
- 16. *Chong Y., Liu G., Jiang X.* Effect of BMPRIB gene on litter size of sheep in China: a meta-analysis. Anim. Reprod. Sci. 2019; 210: 106175. URL: https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2019.106175
- 17. Dash S., Maity A., Bisoi P.C., Palai T.K., Polley S., Mukherjee A., De S. Coexistence of polymorphism in fecundity genes bmpr 1b and gdf 9 of indian kendrapada sheep. Explor Anim. Med. Res. 2017; 7: 33–38.
- 18. *Davis G.H.* Major genes affecting ovulation rate in sheep. Genet. Sel. Evol. 2005; 37: 11–23. URL: https://doi.org/10.1051/gse:2004026
- 19. Davis G.H., Galloway S.M., Ross I.K., Gregan S.M., Ward J., Nimbkar B.V., Ghalsasi P.M., Nimbkar C., Gray G.D., Subandriyo Inounu I., Tiesnamurti B., Martyniuk E., Eythorsdottir E., Mulsant P., Lecerf F., Hanrahan J.P., Bradford G.E., Wilson T. DNA tests in prolific sheep from eight countries provide new evidence on origin of the booroola (FecB) mutation. Biol. Reprod. 2002; 66: 1869–1874. URL: https://doi.org/10.1095/biolreprod66.6.1869
- 20. Dinçel D., Ardiçli S., Şamli H., Balci F. Genotype frequency of FecXB (Belclare) mutation of BMP15 gene in Chios (Sakiz) sheep. Uludağ Üniversitesi Vet. Fakültesi Derg. 2018; 37: 1–5. URL: https://doi.org/10.30782/uluvfd.413857
- 21. Drouilhet L., Mansanet C., Sarry J., Tabet K., Bardou P., Woloszyn F., Lluch J., Harichaux G., Viguié C., Monniaux D., Bodin L., Mulsant P., Fabre S. The highly prolific phenotype of lacaune sheep is associated with an ectopic expression of the B4GALNT2 gene within the ovary. PLoS Genet. 2013; 9; e1003809. URL: https://doi.org/10. 1371/journal.pgen.1003809
- 22. Dwyer C.M., Conington J., Corbiere F., Holmøy I.H., Muri K., Nowak R., Rooke J., Vipond J., Gautier J.M. Invited review: improving neonatal survival in small ruminants: science into practice. Animal. 2016; 10: 449–459. URL: https://doi.org/10.1017/ S1751731115001974
- 23. *Fahmy M.H.*, *Davis G.H.* Breeds with newly discovered genes for prolificacy. In: Fahmy M.H. (ed.): Prolific Sheep. CAB International, Wallingford, UK, 1996: 174–177.
- 24. FAOSTAT, 2021. URL: http://www.fao.org/faostat/en/#data/QL (Access date: 31.03.23).
- 25. Fariello M. I., Servin B., Tosser-Klopp G., Rupp R., Moreno C., Cristobal M.S., Boitard S. Selection signatures in worldwide sheep populations. PLoS One. 2014; 9; e103813. URL: https://doi.org/10.1371/journal.pone.0103813
- 26. Fogarty N.M. A review of the effects of the Booroola gene (FecB) on sheep production. Small Rumin. Res. 2009; 85: 75–84. URL: https://doi.org/10.1016/j.smallrumres.2009. 08.003
- 27. Garel M., Cugnasse J.M., Gaillard J.M., Loison A., Gibert P., Douvre P., Dubray D. Reproductive output of female mouflon (Ovis gmelini musimon × Ovis sp.): a comparative analysis. J. Zool. 2005; 266: 65–71. https://doi.org/10.1017/ S0952836905006667
- 28. *Gates P.J.*, *Urioste J.I*. Heritability and sire genetic trend for litter size in Swedish sheep estimated with linear and threshold models. Acta Agric. Scand. Sect. A Anim. Sci. 1995; 45(4): 228–235. URL: https://doi.org/10.1080/09064709509413081
- 29. Gelinsky E., Hilbeck A. European Court of Justice ruling regarding new genetic engineering methods scientifically justified: a commentary

- on the biased reporting about the recent ruling. Environ. Sci. Eur. 2018; 30(1): 52. URL: https://doi.org/10.1186/s12302-018-0182-9
- 30. Gholizadeh M., Rahimi-Mianji G., Nejati-Javaremi A., De Koning D.J., Jonas E. Genomewide association study to detect QTL for twinning rate in Baluchi sheep. J. Genet. 2014; 93: 489–493. URL: https://doi.org/10.1007/s12041–014–0372–1
- 31. *Gootwine E.* Meta-analysis of morphometric parameters of late-gestation fetal sheep developed under natural and artificial constraints. J. Anim. Sci. 2013; 91(1): 111–119. URL: https://doi.org/10.2527/jas.2013–5363
- 32. *Gootwine E.* Mini review: breeding Awassi and Assaf sheep for diverse management conditions. Trop. Anim. Health Prod. 2011; 43: 1289–1296. URL: https://doi.org/10.1007/s11250–011–9852-y
- 33. *Gootwine E., Goot H.* Lamb and milk production of Awassi and East-Friesian sheep and their crosses under Mediterranean environment. Small Ruminant Research. 1996; 20: 255–260. URL: https://doi.org/10.1016/0921-4488(95)00807-1
- 34. Heaton M.P., Smith T.P.L., Freking B.A., Workman A.M., Bennett G.L., Carnahan J.K., Kalbfleisch T.S. Using sheep genomes from diverse U.S. Breeds to identify missense variants in genes affecting fecundity. F1000Research. 2017; 6: 1303. URL: https://doi.org/10.12688/f1000research.12216.1
- 35. *Jia J.*, *Chen Q.*, *Gui L.*, *Jin J.*, *Li Y.*, *Ru Q.*, *Hou S.* Association of polymorphisms in bone morphogenetic protein receptor-1B gene exon-9 with litter size in Dorset, Mongolian, and Small Tail Han ewes. Asian-Australasian J. Anim. Sci. 2019; 32: 949–955. URL: https://doi.org/10.5713/ajas.18.0541
- 36. Kijas J.W., Lenstra J.A., Hayes B., Boitard S., Porto Neto L.R., San Cristobal M., Servin B., McCulloch R., Whan V., Gietzen K., Paiva S., Barendse W., Ciani E., Raadsma H., McEwan J., Dalrymple B. Genome-wide analysis of the world's sheep breeds reveals high levels of historic mixture and strong recent selection. PLoS Biol. 2012; 10; e1001258. URL: https://doi.org/10.1371/journal.pbio.1001258
- 37. La Y., Liu Q., Zhang L., Chu M. Single nucleotide polymorphisms in SLC5A1, CCNA1, and ABCC1 and the association with litter size in small-tail Han sheep. Animals. 2019; 9: 432. URL: https://doi.org/10.3390/ani9070432
- 38. La Y., Tang J., Guo X., Zhang L., Gan S., Zhang X., Zhang J., Hu W., Chu M. Proteomic analysis of sheep uterus reveals its role in prolificacy. J. Proteomics. 2020; 210: 103526. URL: https://doi.org/10.1016/j.jprot.2019.103526
- 39. Lassoued N., Benkhlil Z., Woloszyn F., Rejeb A., Aouina M., Rekik M., Fabre S., Bedhiaf-Romdhani S. FecX Bar a Novel BMP15 mutation responsible for prolificacy and female sterility in Tunisian Barbarine Sheep. BMC Genet. 2017; 18: 43. URL: https://doi.org/10.1186/s12863-017-0510-x
- 40. Lv F.H., Agha S., Kantanen J., Colli L., Stucki S., Kijas J.W., Joost S., Li M.H., Marsan P.A. Adaptations to climate-mediated selective pressures in sheep. Mol. Biol. Evol. 2014; 31: 3324–3343. URL: https://doi.org/10.1093/molbev/msu264
- 41. Ma H., Fang C., Liu L., Wang Q. Aniwashi J., Sulaiman Y., Abudilaheman K., Liu W. Identification of novel genes associated with litter size of indigenous sheep population in Xinjiang, China using specific-locus amplified fragment sequencing technology. Peer J. 2019; 7; e8079. URL: https://doi.org/10.7717/peerj.8079
- 42. Martin P., Raoul J., Bodin L. Effects of the FecL major gene in the Lacaune meat sheep population. Genet. Sel. Evol. 2014; 46: 48. URL: https://doi.org/10.1186/1297–9686–46–48
- 43. McNatty K.P., Heath D.A., Clark Z., Reader K., Juengel J.L., Pitman J.L. Ovarian characteristics in sheep with multiple fecundity genes. Reproduction. 2017; 153: 233–240. URL: https://doi.org/10.1530/REP-16-0587

- 44. *Meadows J.R.S.*, *Cemal I.*, *Karaca O.*, *Gootwine E.*, *Kijas J.W.* Five ovine mitochondrial lineages identified from sheep breeds of the near east. Genetics. 2007; 175: 1371–1379. URL: https://doi.org/10.1534/genetics.106.068353
- 45. Menéndez Buxadera A., Alexandre G., Mandonnet N. Discussion on the importance, definition and genetic components of the number of animals born in the litter with particular emphasis on small ruminants in tropical conditions. Small Rumin. Res. 2004; 54: 1–11. URL: https://doi.org/10.1016/j.smallrumres.2003.10.007
- 46. *Miao X., Luo Q., Zhao H., Qin X.* Ovarian proteomic study reveals the possible molecular mechanism for hyper prolificacy of Small Tail Han sheep. Sci. Rep. 2016; 6: 27606. URL: https://doi.org/10.1038/srep27606
- 47. *Miao X., Luo Q., Zhao H., Qin X. O*varian transcriptomic analysis reveals the alternative splicing events associated with fecundity in different sheep breeds. Anim. Reprod. Sci. 2018; 198: 177–183. URL: https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2018.09.017
- 48. Nicol L., Bishop S.C., Pong-Wong R., Bendixen C., Holm L.E., Rhind S.M., McNeilly A.S. Homozygosity for a single base-pair mutation in the oocyte-specific GDF9 gene results in sterility in Thoka sheep. Reproduction. 2009; 138: 921–933. URL: https://doi.org/10.1530/REP-09-0193
- 49. Nosrati M., Asadollahpour Nanaei H., Amiri Ghanatsaman Z., Esmailizadeh A. Whole genome sequence analysis to detect signatures of positive selection for high fecundity in sheep. Reprod. Domest. Anim. 2019; 54: 358–364. URL: https://doi.org/10.1111/rda.13368
- 50. *Notter D.R.* Genetic aspects of reproduction in sheep. Reprod. Domest. Anim. 2008; 2: 122–128. URL: https://doi.org/10.1111/j.1439–0531.2008.01151.x
- 51. *Piper L.R.*, *Bindon B.M.*, *Davis G.H.* The single gene inheritance of the high litter size of the booroola merino. In: Land R.B., *Robinson D.W.* (Eds.). Genetics of Reproduction in Sheep. Butterworths, London: Elsevier, 1985: 115–125. URL: https://doi.org/10.1016/B978–0–407–00302–6.50016–7
- 52. Pokharel K., Peippo J., Honkatukia M., Seppälä A., Rautiainen J., Ghanem N., Hamama T.M., Crowe M.A., Andersson M., Li M.H., Kantanen J. Integrated ovarian mRNA and miRNA transcriptome profiling characterizes the genetic basis of prolificacy traits in sheep (Ovis aries). BMC Genomics. 2018; 19: 1–17. URL: https://doi.org/10.1186/s12864-017-4400-4
- 53. *Praveena K., Ramana D.B.V., Pankaj P.K.* Booroola Gene (FecB) Polymorphism and its Liaison with Litter Size in Indigenous Sheep Breeds of Telangana, India. J. Anim. Res. 2017; 7: 227–231. URL: https://doi.org/10.5958/2277–940X.2017.00034.1
- 54. Raoul J., Palhière I., Astruc J.M., Swan A., Elsen J.M. Optimal mating strategies to manage a heterozygous advantage major gene in sheep. Animal. 2018; 12: 454–463. URL: https://doi.org/10.1017/S1751731117001835
- 55. Razungles J., Tchamitchian L., Bibe B., Lefevre C., Brunel J., Ricordeau G. The performance of Romanov crosses and their merits as a basis for selection. In: Land R., Robinson D. (Eds.). Genetics of Reproduction in Sheep. Butterworths, London: Elsevier, 1985: 39–45.
- 56. Reicher S., Gertler A., Seroussi E., Shpilman M., Gootwine E. Biochemical and in vitro biological significance of natural sequence variation in the ovine leptin gene. Gen. Comp. Endocrinol. 2011; 173: 63–71. URL: https://doi.org/10.1016/j.ygcen.2011.04.030
- 57. Ruan J., Xu J., Chen-Tsai R.Y., Li K. Genome editing in livestock: Are we ready for a revolution in animal breeding industry? Transgenic Res. 2017; 26: 715–726. URL: https://doi.org/10.1007/s11248-017-0049-7
- 58. Rummel T., Valle Zàrate A., Gootwine E. The world wide gene flow of the improved awasi and assaf sheep breeds from Israel. In: Valle Zàrate A., Musavaya K.,

- Schäfer C. (Eds.). Gene Flow in Animal Genetic Resources: A Study on Status, Impact and Trends. GTZ, BMZ. 2006: 305–358.
- 59. Safari E., Fogarty N.M., Gilmour A.R. A review of genetic parameter estimates for wool, growth, meat and reproduction traits in sheep. Livest. Prod. Sci. 2005; 92: 271–289. URL: https://doi.org/10.1016/j.livprodsci.2004.09.003
- 60. SanCristobal-Gaudy M., Bodin L., Elsen J. M., Chevalet C. Genetic components of litter size variability in sheep. Genet. Sel. Evol. 2001; 33: 249. URL: https://doi.org/10.1186/1297–9686–33–3–249
- 61. Sinclair K.D., Rutherford K.M.D., Wallace J.M., Brameld J.M., Stöger R., Alberio R., Sweetman D., Gardner D.S., Perry V.E.A., Adam C.L., Ashworth C.J., Robinson J.E., Dwyer C.M. Epigenetics and developmental programming of welfare and production traits in farm animals. Reprod. Fertil. Dev. 2016; 28: 1443–1478. URL: https://doi.org/10.1071/RD16102
- 62. Souza C.J.H., McNeilly A.S., Benavides M.V., Melo E.O., Moraes J.C.F. Mutation in the protease cleavage site of GDF9 increases ovulation rate and litter size in heterozygous ewes and causes infertility in homozygous ewes. Anim. Genet. 2014; 45: 732–739. URL: https://doi.org/10.1111/age.12190
- 63. *Talebi R., Ahmadi A., Afraz F., Sarry J., Woloszyn F., Fabre S.* Detection of single nucleotide polymorphisms at major prolificacy genes in the Mehraban sheep and association with litter size. Ann. Anim. Sci. 2018; 18: 685—698. URL: https://doi.org/10. 2478/aoas-2018—0014
- 64. *Thomas D.L.* Performance and utilization of Northern European short-tailed breeds of sheep and their crosses in North America: a review. Animal. 2010; 4: 1283–1296. URL: https://doi.org/10.1017/S1751731110000856
- 65. *Tian Z.L.*, *Tang J.S.*, *Sun Q.*, *Wang Y.Q.*, *Zhang X.S.*, *Zhang J.L.*, *Chu M.X.* Tissue expression and polymorphism of sheep SmaD1 gene and their association with litter size. Sci. Agric. Sin. 2019; 52: 755–766. URL: https://doi.org/10.3864/j.issn.0578–1752.2019.04.015
- 66. Trukhachev V., Skripkin V., Kvochko A., Yatsyk O., Krivoruchko A., Kulichenko A., Kovalev D., Pisarenko S., Volynkina A., Selionova M., Aybazov M., Shumaenko S., Omarov A., Mamontova T. Polymorphisms of the IGF1 gene in Russian sheep breeds and their influence on some meat production parameters. Slovenian Veterinary Research. 2016; 53; 2: 77–83. EDN XFOXBX.
- 67. *Vera M., Aguion M., Bouza C.* Detection of grivette BMP15 prolificacy variant (FecX) in different sheep breeds presented in Galicia (NW Spain). Gene Rep. 2018; 12: 109–114. URL: https://doi.org/10.1016/j.genrep.2018.06.008
- 68. Wang D., Ning C., Xiang H., Zheng X., Kong M., Yin T., Liu J., Zhao X. Polymorphism of mitochondrial tRNA genes associated with the number of pigs born alive. J. Anim. Sci. Biotechnol. 2018; 9: 86. URL: https://doi.org/10.1186/s40104-018-0299-0
- 69. Wilson T., Wu X. Y., Juengel J.L., Ross I.K., Lumsden J.M., Lord E.A., Dodds K.G., Walling G.A., McEwan J.C., O'Connell A.R., McNatty K.P., Montgomery G.W. Highly prolific booroola sheep have a mutation in the intracellular kinase domain of bone morphogenetic protein IB receptor (ALK-6) that is expressed in both oocytes and granulosa cells. Biol. Reprod. 2001; 64: 1225–1235. URL: https://doi.org/10.1095/biolreprod64.4.1225
- 70. Wolfová M., Wolf J., Krupová Z., Margetín M. Estimation of economic values for traits of dairy sheep: II. Model application to a production system with one lambing per year. J. Dairy Sci. 2009; 92: 2195–2203. URL: https://doi.org/10.3168/jds.2008–1412
- 71. Wu G., Bazer F.W., Satterfield M.C., Li X., Wang X., Johnson G.A., Burghardt R.C., Dai Z., Wang J., Wu Z. Impacts of arginine nutrition

on embryonic and fetal development in mammals. Amino Acids. 2013; 45(2): 241–256. URL: https://doi.org/10.1007/s00726-013-1515-z

- 72. Xu S.S., Gao L., Xie X.L., Ren Y.L., Shen Z.Q., Wang F., Shen M., Eypórsdóttir E., Hallsson J.H., Kiseleva T., Kantanen J., Li M.H. Genome-wide association analyses highlight the potential for different genetic mechanisms for litter size among sheep breeds. Front. Genet. 2018; 9: 1–14. URL: https://doi.org/10.3389/fgene.2018.00118
- 73. Yu G., Xiang H., Tian J., Yin J., Pinkert C.A., Li Q., Zhao X. Mitochondrial haplotypes influence metabolic traits in porcine transmitochondrial cybrids. Sci. Rep. 2015; 5: 13118. URL: https://doi.org/10.1038/srep13118
- 74. Zamir S., Rozov A., Gootwine E. Treatment of pregnancy toxaemia in sheep with flunixinmeglumine. Vet. Rec. 2009; 165: 265–266. URL: https://doi.org/10.1136/vr.165.9.265
- 75. Zheng J., Wang Z., Yang H., Yao X., Yang P., Ren C.F., Wang F., Zhang Y.L. Pituitary transcriptomic study reveals the differential regulation of lncRNAs and mRNAs related to prolificacy in different FecB genotyping sheep. Genes (Basel). 2019; 10: 1–17. URL: https://doi.org/10.3390/genes10020157
- 76. Zhou M., Pan Z., Cao X., Gu, X., He X., Sun Q., Di R., Hu W., Wang X., Zhang X., Zhang J., Zhang C., Liu Q., Chu M. Single nucleotide polymorphisms in the HIRA gene affect litter size in Small Tail Han sheep. Animals. 2018; 8: 71. URL: https://doi.org/10.3390/ani8050071
- 77. Zhou S., Yu H., Zhao X., Cai B., Ding Q., Huang Y., Li Yaxin, Li Yan, Niu Y., Lei A., Kou Q., Huang X., Petersen B., Ma B., Chen Y., Wang X. Generation of gene-edited sheep with a defined Booroola fecundity gene (FecBB) mutation in bone morphogenetic protein receptor type 1B (BMPR1B) via clustered regularly interspaced short palindromic repeat (CRISPR)/CRISPR-associated (Cas) 9. Reprod. Fertil. Dev. 2018; 30: 1616–1621. URL: https://doi.org/10.1071/RD18086

Селионова Марина Ивановна, д-р биол. наук, профессор РАН, заведующий кафедрой разведения, генетики и биотехнологии животных, РГАУ-МСХА имени К.А. Тимирязева; 127550, Российская Федерация, г. Москва, ул. Тимирязевская, 52; e-mail: selionova@rgau-msha.ru; тел.: (499) 976–34–34

**Айбазов Али-Магомет Муссаевич,** д-р с.-х. наук, профессор, главный научный сотрудник, Всероссийский НИИ овцеводства и козоводства — филиал Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Северо-Кавказский федеральный научный аграрный центр»; 355004, Российская Федерация, Ставропольский край, г. Ставрополь, пер. Зоотехнический, 15; e-mail: velikii-1@yandex.ru; тел.: (8652) 71–95–59

Marina I. Selionova, DSc (Bio), Professor of the Russian Academy of Sciences, Head of the Department of Animal Breeding, Genetics and Biotechnology, Russian State Agrarian University – Moscow Timiryazev Agricultural Academy (49, Timiryazevskaya Str., Moscow, 127434, Russian Federation; phone: (499) 976–34–34; E-mail: selionova@rgau-msha.ru)

Ali-Magomet M. Aybazov, DSc (Ag), Professor, Chief Research Associate, North Caucasus Federal Agrarian Research Centre (15, Zootekhnicheskiy Lane, Stavropol, 355002, Russian Federation; phone: (8652) 71–95–59; E-mail: velikii-1@yandex.ru)

УДК 63.639.68.41.53 DOI: 10.26897/0021-342X-2023-3-128-136

## ИЗУЧЕНИЕ КИШЕЧНОГО МИКРОБИОМА СИБИРСКОЙ КОСУЛИ

#### Н.П. ТАРАБУКИНА, А.М. МАРКОВА, М.П. НЕУСТРОЕВ, С.И. ПАРНИКОВА, М.П. СКРЯБИНА

(ФГБУН «Якутский научно-исследовательский институт сельского хозяйства им. М.Г. Сафронова»)

Животный мир в Якутии богат и разнообразен, но эпизоотическая ситуация республики по инфекционным болезням диких животных остается слабоизученной. В литературе практически отсутствуют сообщения об изучении микробиоты диких копытных Арктики и Субарктики. Изучение микробиома диких животных является не только актуальным, но и информативным исследованием, так как микробиота – чуткий индикатор, реагирующий на многие факторы внешней и внутренней среды организма. Целью исследований стало изучение микробиома диких животных в арктической и субарктической зонах России. В статье представлены результаты исследования кишечной микробиоты сибирской косули. Исследован биологический материал – тонкий и толстый отделы кишечника (просветная и пристеночная микробиота). Для количественного учета микроорганизмов применяли общепринятый метод разведений. Анализ полученных результатов показал, что у исследованных сибирских косуль (43 гол.) в нормальной микробиоте (пристеночной и просветной) доминируют аэробные бациллы рода Bacillus – до 88–100% соответственно. Значительно им уступают основные представители нормофлоры кишечника: бифидобактерии (от 61,3-68,1%), лактобактерии (36,3-63,6%), энтерококки (59-66%) и лактозоположительные эшерихии (54,5-59%). В количественном отношении в кишечном микробиоценозе косуль отмечено также сравнительное высокое число бацилл (до 104 КОЕ/г), на порядок меньше – лактобактерий, энтерококков и лактозоположительных эшерихий, значительно в малом количестве (до 101 КОЕ/г) зарегистрированы бифидобактерии. При исследовании материала, взятого от трупов павших косуль, установлено отсутствие представителей нормальной микрофлоры, кроме лактозоположительных эшерихий, которые обнаружены в пристеночном содержимом. При микробиологическом исследовании патматериала (паренхиматозных органов и кишечника) выделены потенциальные энтеропатогены – лактозонегативные эшерихии, которые при дальнейшем исследовании идентифицированы как Salmonella abortus equi с высокой вирулентностью к лабораторным животным. Проведенные исследования показали выраженный дисбактериоз у павших косуль кишечника, который характеризуется отсутствием основных представителей нормальной микрофлоры наряду с преобладанием в большом количестве потенциальных энтеропатогенов до 10<sup>4</sup> КОЕ/г. Наличие в кишечной микробиоте косуль высоковирулентного возбудителя сальмонеллеза указывает на их этиологическую роль в причине падежа животных. Таким образом, обобщая результаты проведенных исследований, можно заключить, что в кишечной микробиоте сибирской косули доминируют аэробные бациллы рода Bacillus, и именно они выполняют основную защитную функцию от патогенных микроорганизмов.

**Ключевые слова:** дикие копытные животные, кишечник, нормальная микрофлора, патогенная микрофлора, микробиология.

#### Введение

В природе насчитывается около 1,5 млн видов представителей дикой фауны. По разным оценкам исследователей, 41000 видам растений и животных грозит вымирание. Такие экологические факторы, как загрязнение окружающей среды, выброс

химических пестицидов в местах обитания животных и многое другое, негативно влияют на организм и популяции дикой фауны. Кроме того, считается, что дикие животные являются резервуаром около 75% инфекционных болезней. Следовательно, они могут быть источниками и переносчиками многих инфекционных болезней животных и человека, что приводит к необходимости изучения, разработки реалистичных и эффективных стратегий по их оздоровлению и сохранению. Разработка таких стратегий требует в первую очередь понимания факторов, влияющих на здоровье.

В последние годы, по мнению специалистов по микробиологической экологии, у диких животных, как и у людей, микробные сообщества, то есть микробиомы, играют ведущую роль в благополучии своих хозяев. Микробные консорциумы, населяющие все: от кишечника животных до их кожи, — способствуют адаптации, приспособляемости к изменяющимся внешним условиям обитания, регулируют пищеварение и устойчивость к инфекциям. Предполагается, что именно с помощью знаний микробиомов определенных видов можно повысить успешность программ реинтродукции, разведения животных в неволе, а также сохранить здоровье живущих в дикой природе [1, 3, 14, 17].

В Якутии животный мир богат и разнообразен, но эпизоотическая ситуация республики по инфекционным болезням диких животных остается слабоизученной несмотря на существование особо опасных природно-очаговых инфекций — таких, как бешенство, бруцеллез, лептоспироз, сибирская язва и т.п. [4, 6]. В доступной литературе практически отсутствуют сообщения об изучении микробиоты диких копытных животных Арктики и Субарктики.

Изучение микробиома диких животных является не только актуальным, но и информативным исследованием, так как микробиота, как известно, является чутким индикатором, реагирующим на многие факторы внешней и внутренней среды организма [10, 15]. При этом исследователи придают особое физиологическое значение для жизнедеятельности организма состоянию микробиоценоза кишечника. Представители нормофлоры, прикрепляясь к рецепторам энтероцитов, уменьшают потенциал патогенного воздействия на стенку кишечника со стороны болезнетворных микробов. Одновременно с этим нормофлора, вызывая антигенное раздражение слизистой оболочки кишечника, потенцирует включение механизмов неспецифической резистентности, системного и местного иммунитета (увеличение синтеза иммуноглобулинов, лизоцима). Ассоциативные связи между энтероцитами и микробными колониями нормофлоры приводят к формированию на поверхности интестинальных слизистых оболочек защитного биослоя, «уплотняющего» стенку кишечника и препятствующего проникновению в кровоток токсинов болезнетворных возбудителей [9].

В связи с вышеизложенным знание кишечной микробиоты имеет важное значение при оценке состояния здоровья животного.

Дикие копытные животные Севера: косули, лоси, изюбры — питаются растениями, которые насчитывают более 300 видов, и получают из них микроэлементы, минеральные соли, белки, витамины, антиоксиданты, ферменты, в том числе полезные бактерии. Известна способность диких копытных к перевариванию грубых растительных кормов. В связи с этим можно предположить наличие в их желудочно-кишечном тракте микроорганизмов — продуцентов различных биологически активных веществ, что также представляет интерес для современной сельскохозяйственной биотехнологии [7, 8].

**Цель исследований:** изучение микробиома диких животных, обитающих в арктической и субарктической зонах России.

В статье представлены результаты исследования кишечной микробиоты сибирской косули (*Capreokus pugargus*).

#### Материал и методы исследований

Биологический материал для исследований – тонкий и толстый отделы кишечника косуль. Биоматериал – отрезки кишечников с содержимым, с двух концов завязанные веревками или подобным подручным материалом, поступали в лабораторию в замороженном виде. Размораживание проводили при комнатной температуре в течение 4—5 ч. С соблюдением правил асептики брали пробы просветного и пристеночного содержимого кишечников. Для исследования просветной микробиоты срезали скальпелем лигатуру с одного конца отрезка кишечника и выжимали содержимое в стерильную тару. Для взятия пристеночной слизи отрезок кишечника выворачивали, промывали под струей стерильной дистиллированной воды, затем брали соскоб слизистой оболочки в отдельную стерильную тару. Отбирали по 2 г, добавляли стерильный физиологический раствор из расчета 1:10. Для количественного учета микроорганизмов применяли общепринятый метод разведений.

При исследовании микробиоты использовали следующие среды: ГМФ — агар (ТУ 9385–058–39484474–2009) — для аэробных бацилл после прогрева до  $80^{\circ}$ С в течение 15 мин; Азидную (ТУ 9385–019–14237183–07) — для выделения и учета энтерококков; Эндо (ТУ 9398–027–78095326–2007) — для учета эшерихий; Бифидум-среду (ТУ 9398–041–78095326–2008) — для учета бифидобактерий; Лактобакагар (ТУ 9398–104–78095326–2010) — для молочно-кислых бактерий; Байерд-Паркера (ТУ 20.59.52. -263–78095326–2017) — для выделения стафилококков; Чапека (ТУ 9229–014–00419789–95)—длявыделениягрибов; (ТУ 9398–029–78095326–2007)—среду для выделения иерсиний.

Подсчет выросших колоний производили в счетчике колоний, окраску мазков готовили по Граму. Учет результатов посевов проводили через 24, 48 ч для бактерий, 5 дней — для грибов. Количество микроорганизмов определяли в колониеобразующих единицах (КОЕ) в 1 г. Родовую и видовую идентификацию выделенных микроорганизмов производили согласно «Определителю бактерий Берджи» (1997), а также по «Определителю зоопатогенных микроорганизмов» (1995).

Математическую обработку полученных данных осуществляли с использованием прикладной программы Snedecor, Microsoft Excel. Результаты опытов подвергли также статистической обработке по методу Стьюдента.

#### Результаты и их обсуждение

Научно-исследовательская работа проведена в 2015—2022 гг. в лаборатории по разработке микробных препаратов Якутского НИИ сельского хозяйства. Исследован биоматериал от 43 гол. косуль, полученных в результате охотничьего промысла, лицензированного Департаментом охотничьего хозяйства и особо охраняемых природных территорий Республики Саха (Якутия). Следует отметить, что предоставленный биоматериал состоял из 28 образцов толстого отдела, 5 образцов тонкого отдела, и только 10 проб были взяты из обоих отделов кишечника, поэтому представлены обобщенные результаты кишечной микрофлоры сибирской косули. Также исследован патологический материал, взятый от трех трупов косуль. Результаты исследований представлены в таблице 1 и на рисунках 1, 2.

Анализ полученных результатов показал (табл. 1, рис. 1), что у всех исследованных сибирских косуль (43 гол.) в нормальной микробиоте (пристеночной и просветной) доминируют аэробные бациллы рода Bacillus (до 88-100% соответственно). Значительно им уступают основные представители нормофлоры кишечника: бифидобактерии (от 61,3-68,1%), лактобактерии (36,3-63,6%), энтерококки (59-66%) и лактозоположительные эшерихии (54,5-59). В количественном отношении в кишечном

микробиоценозе косуль отмечено также сравнительное высокое число бацилл (до  $10^4$  KOE/, на порядок меньше — лактобактерий, энтерококков и  $\Pi$ + эшерихий, значительно в малом количестве — до  $10^1$  KOE/г — зарегистрированы бифидобактерии.

Как следует из данных таблицы и рисунка 1, в просветном содержимом и пристеночном микробиоме кишечника здоровых косуль также присутствуют условно-патогенные микроорганизмы в небольшом количестве ( $10^2 \, \text{KOE/r}$  до  $10^1 \, \text{KOE/r}$ ): стафилококки, лактозонегативные эшерихии, иерсинии и плесневые грибы рода Mucor, которые отмечены только в просветном содержимом.

Таблица 1 Количественный состав кишечной микробиоты сибирской косули, КОЕ/г

	Количество микроорганизмов, КОЕ/г, в кишечнике косуль		
Группы бактерий	43 гол. (охотпромысел)	3 гол. (патматериал)	
Лактобактерии	10³	-	
Бифидобактерии	10¹	-	
Энтерококки	10³	-	
Аэробные бациллы рода Bacillus	10⁴	-	
Эшерихии Л+	10³	10 <sup>2</sup>	
Эшерихии Л-	10 <sup>2</sup>	104	
Стафилококки	10 <sup>2</sup>	104	
Иерсинии	10 <sup>2</sup>	-	
Микроскопические грибы	10¹	-	

 $\Pi$ римечание. — нет роста;  $\Pi$ + — лактозоположительные эшерихии;  $\Pi$ - — лактозонегативные эшерихии.

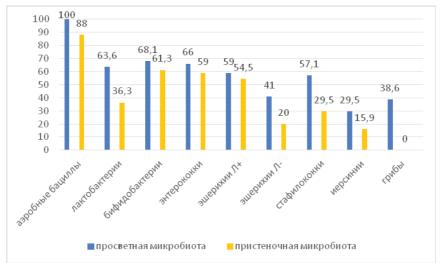


Рис. 1. Содержание групп микроорганизмов в микробиоме косуль, %

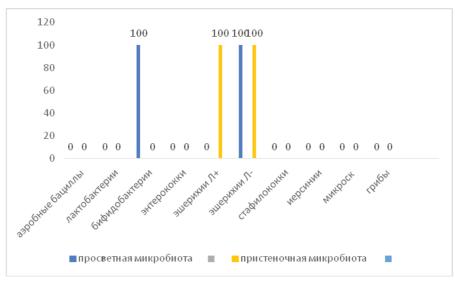


Рис. 2. Содержание групп микроорганизмов в микробиоме павших косуль, %

Пристеночная микробиота кишечника сибирских косуль представлена также в большой мере аэробными бациллами (88%), процент обнаружения основных представителей нормальной флоры (лакто- и бифидобактерий) составляет 36 и 61% соответственно. В слизистой пристеночной микробиоте встречаются условно-патогенные микроорганизмы — такие, как стафилококки (в 30%), лактозонегативные эшерихии (в 20%), а также в 16% случаях исследований — патогены (возбудители иерсиниозов).

Полученные данные согласуются с мнением Е.Л. Никоновой, Е.М. Поповой (2019) в том, что немаловажную роль в функционировании нормобиоза играют микроорганизмы, обитающие в пристеночной микробиоте кишечника, где в основном усваиваются питательные вещества и куда проникают вредные бактерии [9].

Результаты исследований микробиоты кишечника, взятой от трупов павших косуль, представлены в рисунке 2.

При исследовании патологического материала, взятого от трупов косуль (рис. 2), установлено полное отсутствие представителей нормальной микрофлоры кишечника, кроме  $\Pi^+$  эшерихий, которые обнаружены только в пристеночном содержимом. Следует отметить совершенное отсутствие аэробных бацилл, которые в 100% регистрируются в микробиоте кишечника здоровых косуль.

При микробиологическом исследовании патматериала (паренхиматозных органов и кишечника) выделены потенциальные энтеропатогены — лактозонегативные эшерихии, которые при дальнейшем исследовании идентифицированы как Salmonella abortus equi с высокой вирулентностью к лабораторным животным. Белые мыши при внутрибрющинном заражении выделенными культурами пали через 18 ч. Проведенные исследования показали у павших косуль выраженный дисбактериоз кишечника, который характеризуется отсутствием основных представителей нормальной микрофлоры наряду с преобладанием в большом количестве потенциальных энтеропатогенов — до 10<sup>4</sup> КОЕ/г. Также наличие в кишечной микробиоте косуль высоковирулентного возбудителя сальмонеллеза указывает на их этиологическую роль в причине гибели животных.

Косуля в Сибири является промысловым охотничьим животным. В динамике численности сибирской косули в Центральной Якутии выделяются периоды подъема и спада численности популяции с интервалами 20–25 лет [2, 5]. Зимовка 2018 г., когда обнаружены трупы косуль, оказалась тяжелой для многих копытных – как диких,

так и домашних. Отмечен падеж среди косуль и табунных лошадей. Косули часто в поисках корма пасутся в местах дополнительного кормления лошадей. Трупы косуль обнаружены коневодами на местах тебеневки, где ослабленных лошадей подкармливали сеном и овсом. В этих косяках отмечен падеж лошадей от сальмонеллеза, вызванный высокопатогенным изолятом Salmonella abortus equi, относящимся к виду Salmonella enterica. Полученные факты предполагают падеж табунных лошадей и диких копытных от одной инфекции.

Исследования микробиома диких животных, несмотря на высокую значимость, имеют определенные трудности как в сборе, взятии материалов, недоступности особей, обитающих в дикой природе, так и в обсуждении полученных результатов ввиду малой информации об этой проблеме [17]. Полученные данные согласуются с результатами предыдущих исследований, заключающимися в том, что в микробиоценозе мерзлотных почв, микробиоте домашних, диких, а также ископаемых животных, сохранившихся в многолетних мерзлых грунтах, доминируют спорообразующие аэробные бактерии рода *Bacillus* [4, 14]. Постоянное присутствие и доминирование аэробных бацилл как в просветной, так и в пристеночной микробиоте кишечника сибирской косули, подтверждают наше мнение о том, что их следует считать полноправными представителями нормальной микрофлоры животных, обитающих в условиях Арктики и Субарктики.

#### Выводы

Таким образом, проведенные исследования микробиома сибирской косули показали, что в нормальной микробиоте кишечника (пристеночной и просветной) доминируют аэробные бациллы рода Bacillus (до 88-100% соответственно). Значительно уступают им основные представители нормофлоры: бифидобактерии (от 61,3-68,1%) и лактобактерии (36,3-63,6%), энтерококки (59-66%) и лактозоположительные эшерихии (54,5-59%). В количественном соотношении также отмечено сравнительно высокое число бацилл – до  $10^4$  КОЕ/г, на порядок меньше – лактобактерий, энтерококков и лактозоположительных эшерихий, значительно в малом количестве (до  $10^1$  КОЕ/г) зарегистрированы бифидобактерии.

Обобщая результаты проведенных исследований, можно заключить, что в кишечной микробиоте сибирской косули доминируют аэробные бациллы рода *Bacillus*, и именно они выполняют основную защитную функцию от патогенных микроорганизмов.

#### Библиографический список

- 1. Андреенков О.Н., Бундина Л.М., Хрусталев А.В. Современное состояние изученности природно-очаговых зоонозов центральных регионов России // Российский журнал мелкие домашние и дикие животные. -2014. -№ 5. C. 18–20.
- 2. *Аргунов А.В.*, *Стеменова В.В.* Структура рациона сибирской косули в Якутии // Экология. -2011. -№ 2. -C. 144-147.
- 3. *Бедоева З.М., Божьева Ю.В.* Эпизоотологический мониторинг инфекционных болезней у диких плотоядных животных // Ветеринарная медицина. -2011. − № 3 (4). -C. 120–122.
- 4. Владимиров Л.Н., Неустроев М.П., Тарабукина Н.П. Арктические штаммы Bacillus subtilis в современной микробиотехнологии // Ветеринария и кормление. 2020. № 2. С. 17—20. DOI: org/10.30917/ATT-VK-1814.
- 5. *Кривошапкин А.А., Аргунов А.В.* Численность сибирской косули (Capreolus pygargus pall.) в Центральной Якутии // Амурский зоологический журнал. -2013. -№ 1. <math>-C 97-104.

- 6. Леляк А.А., Штерниис М.В. Антагонистический потенциал сибирских штаммов Bacillus spp. в отношении возбудителей болезней животных и растений // Вестник Томского государственного университета. Биология. − 2014. − № 1. − С. 42–55.
- 7. *Мандро Н.С.*, *Земленская Н.И*. Экология видового состава бактерий, изолированных от диких млекопитающих и птиц // Вестник Крас $\Gamma$ ау. -2013. -№ 1. -ℂ. 91–94.
- 8. *Неустроев М.П. и др.* Микробиоценоз кишечника молодняка лошадей табунного содержания в условиях Якутии // Коневодство и конный спорт. -2015. -№ 2. -C. 24–27.
- 9. *Никонова Е.Л.*, *Попова Е.Н*. Микробиота: Монография. М.: Изд-во «Медиа-Сфера», 2019.-255 с.
- 10. Романова Э.В., Ревазова З.И. Биохимические свойства микроорганизмов, выделенных из пищеварительного тракта медведя и косули // Известия Горского государственного аграрного университета. -2013. -T. 50, № 3. -C. 267-269.
- 11. Определитель бактерий Берджи: Справочник / Под ред. Дж. Хоулта и др.: Пер. с англ.; Под. ред. акад. РАН Г.А. Заварзина. 9-е изд. М.: Мир, 1997. 26 с.
- 12. Определитель зоопатогенных микроорганизмов: Справочник / Под ред. М.А. Сидорова, Д.И. Скородумова, В.Б. Федорова. М.: Колос, 1995. 319 с.
- 13. Саттон Д. Определитель патогенных и условно-патогенных грибов / Под ред.: Д. Саттон, А. Фотергилл, М. Ринальди. М.: Мир, 2001.-486 с.
- 14. *Tarabukina N.P. et al.* Yakutia zoolite microflora // Nternational journal of the French Guaternary association. -2010. № 3. Pp. 59-60.
- 15. *Chen B. et al.* Gut microbiota and meat quality // J. Frontiers in Microbiology. 2022. № 8, Vol. 23. Pp. 1–14. DOI: 10.3389/fmcb.2022.951726.
- 16. Huber I. et al. Symposium report: emerging threats for human health impact of socioeconomic and climate change on zoonotic diseases in the Republic ofSakha (Yakutia), Russia // International Journal of Circumpolar Health. 2020. № 79:1. P. 1715698. DOI: 10.1080/22423982.2020.1715.
- 17. Barron M. Into the Wild: Animal Microbiomes in Conservation // American Society for Microbiology. 2022. Vol. 16. Pp. 1–5.

#### STUDYING THE INTESTINAL MICROBIOME OF SIBERIAN ROE DEER

# N.P. TARABUKINA, A.M. MARKOVA, M.P. NEUSTROEV, S.I. PARNIKOVA, M.P. SCRYABINA

(Yakut Scientific Research Institute of Agriculture)

The fauna of Yakutia is rich and diverse, but the epizootic situation of the republic with regard to infectious diseases of wild animals remains poorly studied. There are practically no reports in the literature on the study of the microbiota of wild ungulates of the Arctic and Subarctic. The study of the microbiome of wild animals is not only relevant but also informative research, as the microbiota is a sensitive indicator that responds to many factors of the external and internal environment of the body. The aim is to study the microbiome of wild animals in the Arctic and Subarctic zones of Russia. The article presents the results of the study of the intestinal microbiota of Siberian roe deer. The biological material (thin and thick sections of the intestine (lumen and wall microbiota)) was studied. The generally accepted dilution method was used for quantitative counting of microorganisms. Analysis of the results showed that in the studied Siberian roe deer (43 heads), aerobic bacilli of the genus Bacillus dominate in the normal microbiota (wall and lumen) up to 88–100% (respectively), the main representatives of the intestinal normoflora are significantly inferior to them are: bifidobacteria (61.3–68.1%), lactobacilli (36.3–63.6%), enterococci (59–66%), and lactose-positive escherichia (54.5–59%). Quantitatively, the intestinal microbiocenosis of roe deer showed

a comparatively high number of bacilli – up to 10<sup>4</sup> CFU/g, the number of lactobacilli, enterococci and lactose-positive escherichia was much less, and bifidobacteria were registered in a significantly low amount – up to 10<sup>4</sup> CFU/g. Examination of material taken from the carcasses of dead roe deer revealed the absence of representatives of normal microflora, except for lactose-positive escherichia, which were found in the wall contents. Microbiological examination of the post-mortem material (parenchymal organs and intestines) revealed potential enteropathogens – lactose-negative escherichia, which, were further identified as Salmonella abortus equi, with high virulence to laboratory animals. The conducted studies showed pronounced intestinal dysbiosis in fallen roe deer, which is characterised by the absence of the main representatives of normal microflora along with the predominance of a large number of potential enteropathogens up to 10<sup>4</sup> CFU/g. The presence of a highly virulent causative agent of salmonellosis in the intestinal microbiota of roe deer indicates their etiological role in the cause of animal deaths. Thus, summarizing the results of the conducted studies, it can be concluded that aerobic bacilli of the genus Bacillus dominate in the intestinal microbiota of the Siberian roe deer and they have the main protective function against pathogenic microorganisms.

Key words: wild ungulates, intestine, normal microflora, pathogenic microflora, microbiology.

#### References

- 1. Andreenkov O.N., Bundina L.M., Khrustalev A.V. et al. Current State of Knowledge of Natural Focal Zoonoses in the Central Regions of Russia. Rossiyskiy zhurnal melkie domashnie i dikie zhivotnye. 2014; 5: 18–20. (In Rus.)
- 2. Argunov A.V., Stepanova V.V. Structure of the Diet of Siberian Roe Deer in Yakutia. Ekologiya. 2011; 2: 144–147. (In Rus.)
- 3. *Bedoeva Z.M., Bozh'eva Y.V.* Epizootological Monitoring of Infectious Diseases in Wild Carnivores. Veterinarnaya meditsina. 2011; 3(4): 120–122. (In Rus.)
- 4. *Vladimirov L.N.*, *Neustroev M.P.*, *Tarabukina N.P.* Arctic Strains of Bacillus Subtilis in Modern Microbiotechnology. Veterinariya i kormleniye. 2020; 2: 17–20. DOI: doi.org/10.30917/ATT-VK-1814 (In Rus.)
- 5. Krivoshapkin A.A., Argunov A.V. Number of Siberian Roe Deer (Capreolus pygargus pall.) in Central Yakutia. Amurskiy zoologicheskiy zhurnal. 2013; 1: 97–104. (In Rus.)
- 6. *Lelyak A.A.*, *Shternshis M.V.* Antagonistic Potential of Siberian Strains of Bacillus spp. in Relation to Pathogens of Animals and Plants. Vestnik Tomskogo gosudarstvennogo universiteta. Biologiya. 2014; 1: 42–55. (In Rus.)
- 7. Mandro N.S., Zemlenskaya N.I. Ecology of the Species Composition of Bacteria Isolated from Wild Mammals and Birds. Vestnik KrasGau. 2013; 1: 91–94. (In Rus.)
- 8. *Neustroev M.P. et al.* Microbiocenosis of the Intestines of Young Herd Horses in the Conditions of Yakutia. Konevodstvo i konnyy sport. 2015; 2: 24–27. (In Rus.)
- 9. Nikonova E.L., Popova E.N. Microbiota. Monograph. M.: Izd-vo "Media-Sfera", 2019: 255. (In Rus.)
- 10. Romanova E.V., Revazova Z.I. Biochemical Properties of Microorganisms Isolated from the Digestive Tract of the Bear and Roe Deer. Izvestiya Gorskogo gosudarstvennogo agrarnogo universiteta. 2013; 3: 267–269. (In Rus.)
- 11. *Holt J. et al.* Bergey's Bacteria Determinant: Handbook. 9th ed. M.: Mir, 1997: 26. (In Rus.)
- 12. *Sidorov M.A., Skorodumov D.I., Fedorov V.B.* Key to Zoopathogenic Microorganisms: Handbook. M.: Kolos, 1995: 319. (In Rus.)
- 13. Sutton D., Fothergill A., Rinaldi M. Key to Pathogenic and Opportunistic Fungi. M.: Mir, 2001: 486. (In Rus.)
- 14. *Tarabukina N.P. et al.* Yakutia Zoolite Microflora. International journal of the French Guaternary association. 2010; 3: 59–60.

- 15. Chen B. et al. Gut microbiota and meat quality. J. Frontiers in Microbiology. 2022; 08; 23: 01–14. DOI: 10.3389/fmcb.2022.951726
- 16. *Huber I. et al.* Symposium Report: Emerging Threats for Human Health Impact of Socioeconomic and Climate Change on Zoonotic Diseases in the Republic of Sakha (Yakutia), Russia. International Journal of Circumpolar Health. 2020; 79: 2242–3982. DOI: 10.1080/22423982.2020.1715
- 17. *Barron M*. Into the Wild: Animal Microbiomes in Conservation. American Society for Microbiology. 2022; 16: 1–5.

Тарабукина Надежда Петровна, заведующий лабораторией по разработке микробных препаратов, д-р ветеринар. наук, профессор, Федеральное государственное бюджетное учреждение науки «Якутский научно-исследовательский институт сельского хозяйства им. М.Г. Сафронова»; 677000, Российская Федерация, Республика Саха (Якутия), г. Якутск, ул. Бестужева-Марлинского, 23/1; e-mail: hotubact@mail.ru; тел.: 8–924871–45–78

**Неустроев Михаил Петрович,** заведующий лабораторией ветеринарной биотехнологии, д-р ветеринар. наук, профессор, Федеральное государственное бюджетное учреждение науки «Якутский научно-исследовательский институт сельского хозяйства им. М.Г. Сафронова»; 677000, Российская Федерация, Республика Саха (Якутия), г. Якутск, ул. Бестужева-Марлинского, 23/1; e-mail: mneyc@mail.ru; тел.: (924) 461–65–95

Маркова Анна Михайловна, старший научный сотрудник лаборатории по разработке микробных препаратов, канд. ветеринар. наук, Федеральное государственное бюджетное учреждение науки «Якутский научно-исследовательский институт сельского хозяйства им. М.Г. Сафронова»; 677000, Российская Федерация, Республика Саха (Якутия), г. Якутск, ул. Бестужева-Марлинского, 23/1; e-mail: stepanova anna1985@mail.ru; тел.: (984) 116–76–14

Парникова Светлана Ивановна, старший научный сотрудник лаборатории по разработке микробных препаратов, канд. ветеринар. наук, Федеральное государственное бюджетное учреждение науки «Якутский научно-исследовательский институт сельского хозяйства им. М.Г. Сафронова»; 677000, Российская Федерация, Республика Саха (Якутия), г. Якутск, ул. Бестужева-Марлинского, 23/1; e-mail: hotubact@mail.ru; тел.: (984) 107–06–34

Nadezhda P. Tarabukina, DSc (Vet), Professor, Head of the Laboratory for the Development of Microbial Preparations, Yakut Scientific Research Institute of Agriculture (23/1, Bestuzheva-Marlinskogo Str., Yakutsk, Republic of Sakha (Yakutia), 677000, Russian Federation; phone: (924) 871–45–78; E-mail: hotubact@mail.ru)

**Mikhail P. Neustroev,** DSc (Vet), Professor, Head of the Laboratory for the Veterinary Biotechnology, Yakut Scientific Research Institute of Agriculture (23/1, Bestuzheva-Marlinskogo Str., Yakutsk, Republic of Sakha (Yakutia), 677000, Russian Federation; phone: (924) 461–65–95; E-mail: mneyc@mail.ru)

Anna M. Markova, CSc (Vet), Senior Research Associate, Laboratory for the Development of Microbial Preparations, Yakut Scientific Research Institute of Agriculture (23/1, Bestuzheva-Marlinskogo Str., Yakutsk, Republic of Sakha (Yakutia), 677000, Russian Federation; phone: (984) 116–76–14; E-mail: stepanova anna1985@mail.ru)

**Parnikova Svetlana Ivanovna,** CSc (Vet), Senior Research Associate, Laboratory for the Development of Microbial Preparations, Yakut Scientific Research Institute of Agriculture (23/1, Bestuzheva-Marlinskogo Str., Yakutsk, Republic of Sakha (Yakutia), 677000, Russian Federation; phone: (984) 107–06–34; E-mail: hotubact@mail.ru)

УДК: 636.294.082.(571.15) DOI: 10.26897/0021-342X-2023-3-137-147

# ГЕНЕТИЧЕСКАЯ ОЦЕНКА НОВОТАЛИЦКОЙ И ШЕБАЛИНСКОЙ ПОПУЛЯЦИЙ МАРАЛОВ

#### М.В. ЛУБЕННИКОВА, В.А. АФАНАСЬЕВ, К.А. АФАНАСЬЕВ, А.А. НЕПРИЯТЕЛЬ

(Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Федеральный Алтайский научный центр агробиотехнологий»)

В исследованиях генофонда различных пород и популяций, установления их генетической структуры и разнообразия в настоящее время используются различные подходы, в том числе молекулярно-генетические методы. Развитие методов молекулярной генетики открыло новые возможности для оценки генетического разнообразия, установления популяционной структуры и контроля степени инбридинга. Одним из типов молекулярно-генетических маркеров являются микросателлиты. Целью исследований стала генетическая оценка с помощью микросателлитных маркеров новоталицкой и шебалинской популяций маралов. Молекулярно-генетические исследования были проведены совместно с лабораторией биоинженерии на базе Алтайского государственного университета. Биоматериал от мараловрогачей (хрящевая ткань ушных раковин) отобран в филиале ОС «Новоталицкое» ФГБНУ ФАНЦА (Чарышский район, Алтайский край) и ООО «Марал-Толусома» (Шебалинский район, Республика Алтай). Полиморфизм в популяциях маралов изучен на 5 маркерах (ЕТН225, Haut14, ILSTS06, INRA35, MM12). Установлено, что число аллелей данных локусов в новоталицкой популяции варьирует от 7 (MM12) до 34 (ILSTS06), а в шебалинской популяции – от 8 (MM12) до 27 (ILSTS06, ETH225), в среднем по 21,8 аллелей в каждой. При анализе 5 локусов обнаружено по 109 аллелей в каждой популяции. Наиболее распространенными генотипами в новоталицкой популяции являются 091/091 локуса ММ12, в шебалинской – 090/090 локуса MM12 и 103/103 локуса INRA35. Гетерозиготность по микросателлитным локусам варьирует от 0,00 по локусу MM12 до 0,56 по локусу ILSTS06 (новоталицкая и шебалинская популяции) и 0,57 по локусу ЕТН225 (новоталицкая популяция). В результате анализа выявлен достаточно высокий уровень инбридинга в популяциях.

**Ключевые слова:** маралы, популяция, локус, аллель, маркер, микросателлиты, гетерозиготность, полиморфизм.

#### Введение

Генетика популяций изучает закономерности наследования признаков и генетическую структуру популяций при их естественном размножении [1, 6, 10].

Генетическая структура популяций во многом определяется типом размножения особей и представляет собой совокупность таких процессов, как особенности наследования и распределения аллелей, генотипов и фенотипов в популяции, а также типов ее изменчивости [5, 9, 13].

В вопросах динамики генетического состава популяций важным параметром является гетерозиготность. Ее оценка в настоящее время необходима практически во всех популяционно-генетических исследованиях [2, 16].

В животноводстве популяционная генетика имеет важное прикладное значение. Она определяет направление селекции, решает вопросы ее эффективности в породах и популяциях, изучает генетические процессы, протекающие в популяциях [15].

В популяционной генетике в последнее время все чаще стали применяться микросателлитные маркеры, поскольку они встречаются в геноме в большом количестве и характеризуются наличием полиморфных вариантов [7, 8, 14].

Микросателлитные маркеры с успехом применяются в исследованиях оленей для решения разного рода задач, в том числе для установления генетической структуры и степени биоразнообразия популяций, выявления генетических взаимоотношений внутри одного вида, для решения вопросов, связанных с эволюцией и происхождением оленеводства, историей и процессом одомашнивания [3, 4, 11, 12].

В настоящее время малоизученным с генетической точки зрения сельскохозяйственным животным остается представитель подвида благородных оленей — марал (Cervus elaphus sibiricus). Биологическое разнообразие маралов представляет большой интерес с точки зрения популяционной генетики, сохранения генофонда, выявления высокоценных генотипов. Изучение полиморфизма ДНК даст возможность исследовать генетическую структуру, дифференцировать и идентифицировать популяции маралов, что и обусловило цель проведенных исследований.

**Цель исследований:** генетическая оценка новоталицкой и шебалинской популяций маралов с помощью микросателлитных маркеров.

Задачи достижения цели исследований заключались в том, чтобы:

- изучить полиморфизм 5 локусов микросателлитов новоталицкой и шебалинской популяций маралов;
  - произвести расчет основных популяционно-генетических показателей;
  - проанализировать степень инбридинга в двух популяциях маралов.

#### Материал и методы исследований

Работа по изучению полиморфизма микросателлитных маркеров проведена в лаборатории биотехнологии пантовых оленей отдела ВНИИПО ФГБНУ ФАН-ЦА совместно с лабораторией биоинженерии на базе Алтайского государственного университета.

Биоматериал от маралов-рогачей (хрящевая ткань ушных раковин) отобран в филиале «ОС «Новоталицкое» ФГБНУ ФАНЦА (Чарышский район, Алтайский край) — новоталицкая популяция, в ООО «Марал-Толусома» (Шебалинский район, Республика Алтай) — шебалинская популяция.

Проведен скрининг полиморфизма 13 микросателлитных маркеров (BM1818, Cer14, CSPS115, CSSM14, CSSM16, CSSM19, CSSM22, CSSM66, ETH225, Haut14, ILSTS06, INRA35, MM12), ранее приводимыми как маркерные и ассоциированные с размером рогов. Полиморфизм был выявлен с помощью 5 маркеров (ETH225, Haut14, ILSTS06, INRA35, MM12). Данные микросателлиты использованы нами в настоящих исследованиях.

Выделение ДНК было основано на преципитации ДНК (Diamond DNA) из ушной ткани рогачей. ПЦР проведена в реакционном объеме 20 мкл, содержащем 2 × буфер для ПЦР BiolabMix, 0,5 мкл каждого праймера и 1 мкл ДНК. Программа амплификации состояла из начальной денатурации при 94 °C в течение 3 мин, затем 35 циклов денатурации при 94 °C в течение 1 мин, отжиг при X °C в течение 1 мин и удлинение при 72 °C в течение 1 мин. Конечная элонгация — 3 мин при 72 °C (табл. 1).

Анализ длины микросателлитов проведен с помощью капиллярного гель-электрофореза на приборе QIAxcel Advanced и набора для разделения фрагментов ДНК QIAxcel DNA High Resolution.

Данные об аллелях каждого животного послужили основой для статистической обработки результатов по стандартным методикам (n = 190).

Таблица 1 Условия проведения ПЦР и последовательности праймеров

Название локуса	Последовательность праймера 5'-3'	Температура отжига, °С	Тип повтора
MM12	F caagacaggtgtttcaatct R atcgactctggggatgatgt	55	Pure (GT)
Haut14	F ccagggaagatgaagtgacc R tgaccttcactcatgttattaa	53	Pure (GT)
INRA35	F ttgtgctttatgacactatccg R atcctttgcagcctccacattc	56	Pure (GT)
ETH225	F acatgacagccagctgctact R gatcaccttgccactatttcct	56	Interrupted (GT)
ILSTS06	F tgtctgtatttctgctgtgg R acacggaagcgatctaaacg	54	Pure (GT)

Каждый локус оценивали по длине, числу аллелей, частоте встречаемости, наблюдаемой и ожидаемой гетерозиготности. В ходе изучения генетической структуры популяций маралов выявлены генотипы по каждому локусу.

На основе матрицы длин аллелей по 5 локусам проанализирована степень инбридинга в новоталицкой и шебалинской популяциях марала. На основании расчета представлены две оценки Fis: оценка Weir & Cockerham (W&C) и оценка Robertson & Hill (R&H) [17, 18].

### Результаты и их обсуждение

В результате микросателлитного анализа ДНК маралов новоталицкой и шебалинской популяций получена характеристика аллельного разнообразия и частот генотипов исследуемых микросателлитных локусов.

В ходе проведения сравнительной генетической характеристики локуса  $\mathrm{Haut}14$  в новоталицкой популяции обнаружено 19 аллелей длиной от 117 до 144 п.н., а в шебалинской — 24 аллеля длиной от 114 до 148 п.н. У животных новоталицкой популяции чаще других встречался аллель длиной 125 (0,255) и 126 п.н. (0,213), а в шебалинской — длиной 124 (0,191) и 126 п.н. (0,128). Редкими аллелями данного локуса в новоталицкой популяции являются аллели 117, 140 и 144 (0,005), а в шебалинской — 120 и 148 (0,005). Возможно, данные аллели появились вследствие мутационного процесса.

По локусу Haut14 у маралов новоталицкой популяции выявлено 32 генотипа. Наиболее часто встречались генотипы 125/125 (21%), 126/126 (21%) и 127/127 (10%). На долю генотипов с частотой встречаемости 0,010 приходилось 23%. В шебалинской популяции по данному локусу выявлено 39 генотипов. Наиболее часто встречались генотипы 124/124 (16%) и 126/126 (12%). Генотипов с частотой встречаемости 0,010 было 28%.

У маралов новоталицкой популяции выявлено 7 аллелей локуса ММ12 размером от 090 до 096 п.н. Наибольшая частота встречаемости отмечена для аллелей длиной 091 (0,448) и 093 п.н. (0,188). Редкие аллели в данном локусе не выявлены. Полиморфизм данного локуса в шебалинской популяции представлен 8 аллелями

от 090 до 097 п.н. В шебалинской популяции в отличие от новоталицкой обнаружен аллель длиной 097 п.н. (0,043). В шебалинской популяции наибольшее распространение получил аллель длиной 090 п.н. (0,447).

В новоталицкой популяции маралов по локусу ММ12 выявлено 7 различных генотипов. Наиболее часто встречались генотипы 091/091 (45%) и 093/093 (19%). В шебалинской популяции выявлено 8 генотипов. Наибольшее распространение получил генотип 090/090 (45%).

В результате анализа ДНК по локусу ILSTS06 у маралов новоталицкой популяции обнаружено 34 аллеля длиной от 263 до 298 п.н., что свидетельствует о высокой полиморфности. Наибольшее распространение имели аллели длиной 279 (0,104), 280 (0,094) и 275 п.н. (0,057). У маралов шебалинской популяции выявлено 27 аллельных вариантов локуса ILSTS06 размером от 263 до 292 п.н. Наибольшее распространение имели аллели длиной 283 (0,096), 282 (0,090) и 264 п.н. (0,080).

У маралов новоталицкой популяции по данному локусу выявлено 66 различных генотипов. Наиболее часто встречались генотипы 279/279 (7%) и 280/280 (6%). Обнаружено большое число редких генотипов (55%) с частотой встречаемости 0,010. В шебалинской популяции выявлено 57 генотипов. Более распространенными генотипами являлись 283/283 (6%) и 291/291 (5%). На долю редких генотипов с частотой встречаемости 0,010 приходилось 41%.

По локусу ЕТН225 у маралов новоталицкой популяции определено 29 аллелей, длина которых варьировала в пределах 149–186 п.н. В представленном диапазоне 7 аллелей (156, 157, 162, 163, 164, 168, 169) имели частоту больше 0,05. В шебалинской популяции выявлено 27 аллельных вариантов локуса ЕТН225 размером от 150 до 186 п.н. Наибольшее распространение получил аллель длиной 157 п.н. (0,144).

В новоталицкой популяции маралов по локусу ЕТН225 представлено 60 генотипов. Наибольшее распространение получили два генотипа 156/156 и 162/162–6 и 5% соответственно. Имеется значительное число генотипов с частотой встречаемости 0,010 (46%). У маралов шебалинской популяции по данному локусу выявлено 50 различных генотипов. Чаще других встречались генотипы 157/157 (10%) и 150/150 (6%). Число генотипов с частотой встречаемости 0,010 составило 35%.

У маралов новоталицкой популяции по локусу INRA35 определено 20 аллелей длиной 101-162 п.н. При этом наиболее часто присутствуют аллели длиной 103 (0,307), 110 (0,167), 104 п.н. (0,146). Редкими аллелями в данном локусе являются 113, 117, 124, 126, 135, 162-0,005. У шебалинской популяции маралов по локусу INRA35 определено 23 аллеля длиной 098-162 п.н. Наибольшее распространение получили аллели длиной 103 (0,351), 104 (0,138), 110 п.н. (0,117).

В новоталицкой популяции по локусу INRA35 выявлено 26 генотипов. Наибольшей частотой встречаемости характеризуются генотипы 103/103 (24%), 104/104 (11%) и 110/110 (11%). Генотипов с частотой встречаемости 0,010 было 13%. У животных шебалинской популяции выявлено 38 генотипов по данному локусу. Наиболее часто встречались генотипы 103/103 (31%) и 104/104 (12%). С частотой встречаемости 0,010 было 29% генотипов.

Как известно, для описания своеобразия генофондов актуальны уникальные или оригинальные аллели, которые амплифицируются в ПЦР с пробами ДНК лишь из одной популяции. Они более информативны для оценки специфики генофондов, дополняют именно на популяционном уровне описание оригинальности генофонда. В ходе изучения полиморфизма 5 локусов микросателлитов в новоталицкой и шебалинской популяциях маралов было выявлено по 25 уникальных аллелей.

Мерой генетической изменчивости в популяции является степень наблюдаемой гетерозиготности. Частота гетерозигот — важный показатель, поскольку каждая гетерозигота несет разные аллели и иллюстрирует наличие изменчивости.

Для точной оценки изменчивости популяции вводится показатель ожидаемой гетерозиготности, рассматривающий уровень аллельного разнообразия. В связи с этим нами была дана оценка наблюдаемой и ожидаемой степени гетерозиготности, рассчитанная по каждому локусу.

Разные микросателлиты имели неодинаковое максимальное число аллелей. Всего идентифицировано в 5 микросателлитных локусах по 109 аллелей в каждой популяции. Итоговые результаты отражены в таблице 2.

Ожидаемая гетерозиготность оказалась достаточно высокой у всех микросателлитов: 0,73–0,95 (p<0,001). Выявлено, что количество гомозиготных особей превышает количество гетерозиготных по двум локусам Haut14 и INRA35. По локусу MM12 гетерозиготные особи в обеих популяциях не обнаружены. По локусам ILSTS06 (новоталицкая и шебалинская популяции) и ETH225 (новоталицкая популяция) наблюдается перевес в сторону гетерозигот.

Селекция на закрепление и улучшение показателей пантовой продуктивности при помощи инбридинга способствует увеличению численности гомозиготных особей в популяции.

Таблица 2 Показатели генетического разнообразия маралов

Локус	Количество аллелей	Длина аллелей, п.н.	H <sub>o</sub>	H <sub>e</sub>			
	новоталицкая популяция						
Haut14	19	117–144	0,24	0,86			
MM12	7	090–096	0,00	0,73			
ILSTS06	34	263–298	0,56	0,95			
ETH225	29	149–186	0,57	0,94			
INRA35	20	101–162	0,32	0,83			
среднее	21,8±5,19	-	0,33±0,119	0,86±0,045			
	шебалинская популяция						
Haut14	24	114–148	0,23	0,91			
MM12	8	090–097	0,00	0,74			
ILSTS06	27	263–292	0,56	0,94			
ETH225	27	150–186	0,46	0,93			
INRA35	23	098–162	0,24	0,83			
среднее	21,8±3,96	-	0,29±0,109	0,87±0,042			

На основе матрицы длины аллелей по 5 локусам проанализирована степень инбридинга в новоталицкой и шебалинской популяциях марала. На основании расчета представлены: стандартная ошибка (S.E.) оценки коэффициента инбридинга; две оценки Fis; оценка Weir & Cockerham (W&C); оценка Robertson & Hill (R&H). Коэффициент R&H имеет более низкую дисперсию при нулевой гипотезе. Приводится количество «шагов»: для алгоритма цепей Маркова — количество выполненных «переключений» (изменение генотипической матрицы). В таблице 3 представлены результаты оценки коэффициента инбридинга для отдельных локусов.

Коэффициент инбридинга (Fis) указывает на степень инбридинга в популяции. В результате анализа выявлен достаточно высокий уровень инбридинга: от 0,3930 (0,3164) для локуса ETH225 до 1,0000 (1,0108) для локуса ММ12.

Среднее значение по всем локусам для новоталицкой популяции составило 0,6291 (W&C) и 0,5124 (R&H), для шебалинской популяции по всем локусам – 0,6747 и 0,6182 соответственно.

Проведенные генетические исследования маралов Алтайского края и Республики Алтай наглядно показывают уникальность и своеобразие местных популяций. Поскольку повышение уровня гомозиготности может приводить к ухудшению многих признаков, необходимо уточнить причины дефицита гетерозигот, которыми могут быть закрытость популяции, наличие в выборке особей из генетически однородных групп, малый объем изучаемой выборки. Для поддержания оптимального уровня генетического разнообразия необходимо проводить контроль параметров генетической структуры популяции, ротацию рогачей-производителей.

Таблица 3 Оценка коэффициента инбридинга для отдельных локусов

Локус	P-val	S.E.	W&C	R&H	Steps
новоталицкая популяция					
Haut14	0,0000	0,0000	0,7234	0,4630	3378 switches
MM12	0,0000	0,0000	1,0000	1,0105	32066 switches
ILSTS06	0,0000	0,0000	0,4140	0,3044	1530 switches
ETH225	0,0020	0,0020	0,3930	0,3164	2041 switches
INRA35	0,0000	0,0000	0,6149	0,4679	1929 switches
шебалинская популяция					
Haut14	0,0000	0,0000	0,7456	0,6571	2820 switches
MM12	0,0000	0,0000	1,0000	1,0108	21926 switches
ILSTS06	0,0000	0,0000	0,4066	0,3438	2831 switches
ETH225	0,0000	0,0000	0,5131	0,4785	2333 switches
INRA35	0,0000	0,0000	0,7080	0,6009	1743 switches

#### Выволы

- 1. Изученные микросателлиты (Haut14, MM12, ILSTS06, ETH225, INRA35) имели неодинаковое максимальное число аллелей. Число аллелей отдельных локусов в новоталицкой популяции варьирует от 7 (MM12) до 34 (ILSTS06), а в шебалинской популяции от 8 (MM12) до 27 (ILSTS06, ETH225), в среднем по 21,8 аллелей в каждой. Всего при анализе 5 локусов обнаружено по 109 аллелей в каждой популяции. Частота встречаемости аллелей у исследуемых животных варьирует от 0,005 до 0,448. Наибольшую распространенность среди аллелей 5 локусов в новоталицкой популяции имеет аллель 091 п.н. локуса MM12 и 103 п.н. локуса INRA35, а в шебалинской популяции аллель 090 п.н. локуса MM12 и 103 п.н. локуса INRA35.
- 2. Наиболее распространенными генотипами в новоталицкой популяции являются 091/091 локуса ММ12, в шебалинской 090/090 локуса ММ12 и 103/103 локуса INRA35. Высокая частота встречаемости данных генотипов позволяет считать их характерными для новоталицкой и шебалинской популяций соответственно. С частотой встречаемости 0,010 в новоталицкой популяции установлено 127 генотипов, в шебалинской 120.
- 3. Гетерозиготность по микросателлитным локусам варьирует от 0,00 по локусу ММ12 до 0,56 по локусу ILSTS06 (новоталицкая и шебалинская популяции) и 0,57 по локусу ЕТН225 (новоталицкая популяция). В обеих популяциях по 5 локусам ожидаемая гетерозиготность превышала наблюдаемую.
- 4. В результате анализа выявлен достаточно высокий уровень инбридинга: от 0,3930 (0,3164) для локуса ЕТН225 до 1,0000 (1,0108) для локуса ММ12. Среднее значение по всем локусам для новоталицкой популяции составило 0,6291 (W&C) и 0,5124 (R&H), для шебалинской популяции по всем локусам 0,6747 и 0,6182 соответственно.
- 5. Большой интерес представляют уникальные аллели, встречающиеся только в одной популяции. В каждой популяции было выявлено по 25 уникальных аллелей.

# Библиографический список

- 1. *Бородай И.С.* К истории становления и развития генетики как теоретической основы зоотехнической науки // Вестник Томского государственного университета. -2012. -№ 359. -C. 75–78.
- 2. Глинская Н.А., Приловская Е.И., Каспирович Д.А. u др. Особенности SSR-полиморфизма лошадей // Вестник Полесского государственного университета. Серия природоведческих наук. -2017. № 1. С. 8–13.
- 3. Голосова О.С., Холодова М.В., Володин И.А. и др. Генетическое разнообразие восточных подвидов благородного оленя (Cervus elaphus) России по данным полиморфизма мтДНК и микросателлитных локусов // Журнал общей биологии. -2022.-T.83, № 6.-C.419-433.
- 4. Денискова Т.Е., Харзинова В.Р., Доцев А.В. и др. Генетическая характеристика региональных популяций ненецкой породы северного оленя (Rangifer tarandus) // Сельскохозяйственная биология. -2018. Т. 53, № 6. С. 1152-1161.
- 5. *Казанцева Н.П., Васильева М.И.* Генофонд сельскохозяйственных животных: Учебное пособие. Ижевск: Ижевская ГСХА, 2020. 84 с.
- 6.  $\mathit{Кирдей}\ \mathit{T.A.}$  Генетика растений и животных: Учебное пособие. Иваново: ИГСХА им. академика Д.К. Беляева, 2021. 211 с.

- 7. Лубенникова М.В., Афанасьев К.А., Афанасьев В.А. Полиморфизм микросателлитных маркеров в новоталицкой популяции маралов // Вестник Ульяновской государственной сельскохозяйственной академии. -2023. -№ 1 (61). -C. 128–134.
- 8. Племящов К.В., Смарагдов М.Г., Романов М.Н. Молекулярно-генетический полиморфизм в популяциях животных и его применение в интенсивной селекции молочного скота: Обзор // Материалы 3-й Международной научно-практической конференции «Молекулярно-генетические технологии анализа экспрессии генов продуктивности и устойчивости к заболеваниям животных». 2021. С. 368—378.
- 9. *Романенко Т.М., Харзинова В.Р., Лайшев К.А.* Сравнительная характеристика микропопуляций северных оленей ненецкой породы малоземельской тундры НАО // Генетика и разведение животных. 2020. № 2. С. 37–43.
- 10. Соловьева А.Д., Харзинова В.Р., Доцев А.В. Исследование пород северного оленя Якутии по микросателлитам // Сборник научных трудов Краснодарского научного центра по зоотехнии и ветеринарии. -2022. № 1. С. 29-32.
- 11. Столновский W. А. Популяционно-генетические основы сохранения генофондов доместицированных видов животных // Вавиловский журнал генетики и селекции. 2013. N 4—2. C. 900—915.
- 12. Столповский Ю.А., Бабаян О.В., Каштанов С.Н. и др. Генетическая оценка пород северного оленя (Rangifer tarandus) и их дикого предка с помощью новой панели STR-маркеров // Генетика. -2020. T. 56, № 12. C. 1410–1426.
- 13.  $\overline{\mathit{Танана}}$  Л.А.,  $\overline{\mathit{Глинская}}$  Н.А.,  $\overline{\mathit{Епишко}}$  О.А. Характеристика STR-полиморфизма крупного рогатого скота белорусской черно-пестрой породы // Вестник Гродненского государственного университета имени Янки Купалы. − 2014. № 3 (182). С. 116–122.
- 14. *Тараканец Л.Д., Кабицкая Я.А., Глазунова Л.А. и др.* Генетическая структура популяции северного оленя (Rangifer tarandus) Тюменской области // Вестник Рязанского государственного агротехнологического университета им. П.А. Костычева. -2022. -№ 2. -C. 97–108.
- 15. Файзуллин Р.А., Сайфутдинов М.Р. Использование методов популяционной генетики в селекции свиней крупной белой породы // Вестник Марийского государственного университета. -2016. -№ 3 (7). C. 60–64.
- 17. Robertson A., Hill W.G. Deviations from Hardy-Weinberg proportions: sampling variances and use in estimation of inbreeding coefficients // Genetics. -1984. -T. 107, No. 4. -Pp. 703-718.
- 18. Weir B.S., Cockerham C.C. Estimating F-statistics for the analysis of population structure // Evolution.  $-1984. N_{\odot} 38 (6). Pp. 1358-1370.$

## GENETIC EVALUATION OF THE NOVOTALITSKAYA AND SHEBALINSKAYA POPULATIONS OF MARALS (CERVUS ELAPHUS SIBIRICUS)

#### M.V. LUBENNIKOVA, V.A. AFANAS'EV, K.A. AFANAS'EV, A.A. NEPRIYATEL'

(Federal Altai Scientific Centre of Agro-BioTechnologies)

Currently, various approaches, including molecular genetic methods, are used to study the gene pool of different breeds and populations and to determine their genetic structure and diversity. The development of molecular genetic methods has opened up new possibilities for evaluating genetic diversity, determining population structure, and controlling the degree of inbreeding. One type of molecular genetic marker is microsatellites. The aim of the research was the genetic evaluation of the Novotalitskaya and Shebalinskaya maral populations using microsatellite markers. Molecular genetic studies were carried out in collaboration with the Bioengineering Laboratory of the Altai State University. Biological material from maral stags (ear concha cartilaginous tissue) was sampled in the branch "OS Novotalitskoe" of the Federal Altai Research Center of Agro-Biotechnologies (Charyshskiy District, Altai Region) and the LLC "Maral-Tolusoma" (Shebalinskiy District, Republic of Altai). Polymorphism in the maral populations was studied using five markers (ETH225, Haut14, ILSTS06, INRA35, and MM12). The number of alleles of these loci was found to vary from 7 (MM12) to 34 (ILSTS06) in the Novotalitskaya population, and from 8 (MM12) to 27 (ILSTS06, ETH225) in the Shebalinskaya population, with an average of 21.8 alleles in each. When analysing five loci, 109 alleles were found in each population. The most frequent genotypes in the Novotalitskaya population are 091/091 of the MM12 locus; in the Shebalinskaya population – 090/090 of the MM12 locus and 103/103 of the INRA35 locus. The heterozygosity of the microsatellite loci varies from 0.00 for the MM12 locus to 0.56 for the ILSTS06 locus (Novotalitskaya and Shebalinskaya populations), and 0.57 for the ETH225 locus (Novotalitskaya population). The analysis revealed a rather high level of inbreeding in the populations.

**Key words:** marals (Cervus elaphus sibiricus), population, locus, allele, marker, microsatellites, heterozygosity, polymorphism.

#### References

- 1. Boroday I.S. On the History of the Formation and Development of Genetics as a Theoretical Basis of Zootechnical Science. Vestnik Tomskogo gosudarstvennogo universiteta. 2012; 359: 75–78. (In Rus.)
- 2. Glinskaya N.A., Prilovskaya E.I., Kaspirovich D.A. et al. Features of SSR Polymorphism of Horses. Vestnik Polesskogo gosudarstvennogo universiteta. Seriya prirodovedcheskikh nauk. 2017; 1: 8–13. (In Rus.)
- 3. Golosova O.S., Kholodova M.V., Volodin I.A et al. Genetic Diversity of Eastern Subspecies of Red Deer (Cervus Elaphus) Russia according to mtDNA Polymorphism and Microsatellite Loci. Zhurnal obshchey biologii. 2022; 83; 6: 419–433. (In Rus.)
- 4. Deniskova T.E., Kharzinova V.R., Dotsev A.V. et al. Genetic Characteristics of Regional Populations of Nenets Reindeer (Rangifer Tarandus). Sel'skokhozyaystvennaya biologiya. 2018; 53; 6: 1152–1161. (In Rus.)
- 5. *Kazantseva N.P., Vasil'eva M.I.* Gene Pool of Farm Animals: Textbook. Izhevsk: Izhevskaya GSKhA. 2020: 84. (In Rus.)
- 6. *Kirdey T.A.* Genetics of Plants and Animals: Textbook. Ivanovo: IGSKhA im. akad. D.K. Belyaeva. 2021: 211. (In Rus.)

- 7. Lubennikova M.V., Afanas'ev K.A., Afanas'ev V.A. Polymorphism of Microsatellite Markers in the Novotalitskaya Population of Marals. Vestnik Ul'yanovskoy gosudarstvennoy sel'skokhozyaystvennoy akademii. 2023; 1 (61): 128–134. (In Rus.)
- 8. Plemyashov K.V., Smaragdov M.G., Romanov M.N. Molecular Genetic Polymorphism in Animal Populations and Its Application in Intensive Breeding of Dairy Cattle: Overview. Materialy 3-y Mezhdunarodnoy nauchno-prakticheskoy konferentsii "Molekulyarno-geneticheskie tekhnologii analiza ekspressii genov produktivnosti i ustoychivosti k zabolevaniyam zhivotnykh". 2021: 368–378. (In Rus.)
- 9. Romanenko T.M., Kharzinova V.R., Layshev K.A. Comparative Characteristics of Micropopulations of Reindeer of the Nenets Breed of the Low-Earth Tundra of the NAO. Genetika i razvedenie zhivotnykh. 2020; 2: 37–43. (In Rus.)
- 10. Solov'eva A.D., Kharzinova V.R., Dotsev A.V. Investigation of Yakutia Reindeer Breeds by Microsatellites. Sbornik nauchnykh trudov Krasnodarskogo nauchnogo tsentra po zootekhnii i veterinarii. 2022; 1: 29–32. (In Rus.)
- 11. Stolpovskiy Yu.A. Population-Genetic Bases of Conservation of Gene Pools of Domesticated Animal Species. Vavilovskiy zhurnal genetiki i selektsii. 2013; 4–2: 900–915. (In Rus.)
- 12. Stolpovskiy Yu.A., Babayan O.V., Kashtanov S.N. et al. Genetic Evaluation of Reindeer (Rangifer Tarandus) Breeds and Their Wild Ancestor Using a New Panel of STR Markers. Genetika. 2020; 56; 12: 1410–1426. (In Rus.)
- 13. *Tanana L.A.*, *Glinskaya N.A.*, *Epishko O.A.* Characteristics of STR Polymorphism of Belarusian Black-And-White Cattle. Vestnik Grodnenskogo gosudarstvennogo universiteta imeni Yanki Kupaly. 2014; 3 (182): 116–122. (In Rus.)
- 14. Tarakanets L.D., Kabitskaya Ya.A., Glazunova L.A. et al. Genetic Structure of the Reindeer Population (Rangifer Tarandus) Tyumen Region. Vestnik Ryazanskogo gosudarstvennogo agrotekhnologicheskogo universiteta im. P.A. Kostycheva. 2022; 2: 97–108. (In Rus.)
- 15. Fayzullin R.A., Sayfutdinov M.R. Use of Population Genetics Methods in the Breeding of Large White Breed Pigs. Vestnik Mariyskogo gosudarstvennogo universiteta. 2016; 3 (7): 60–64. (In Rus.)
- 16. Filippova N.P., Koryakina L.P., Pavlova A.I. Study of the Allelofund of the Even Reindeer Breed by Transferrin and Microsatellite Loci. Genetika i razvedenie zhivotnykh. 2020; 1: 44–49. (In Rus.)
- 17. Robertson A., Hill W.G. Deviations from Hardy-Weinberg proportions: sampling variances and use in estimation of inbreeding coefficients. Genetics. 1984; 107; 4: 703–718.
- 18. Weir B.S., Cockerham C.C. Estimating F-statistics for the analysis of population structure. Evolution. 1984; 38(6): 1358–1370.

Лубенникова Марина Владимировна, старший научный сотрудник, заведующий лабораторией биотехнологии пантовых оленей, канд. с.-х. наук, Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Федеральный Алтайский научный центр агробиотехнологий»; 656910, Российская Федерация, Алтайский край, г. Барнаул, Научный городок, 35; e-mail: otdel\_wniipo@mail.ru; тел.: (3852)50–13–40

**Афанасьев Виктор Александрович,** научный сотрудник лаборатории биотехнологии пантовых оленей, канд. ветеринар. наук, Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Федеральный Алтайский научный центр агробиотехнологий»; 656910, Российская Федерация, Алтайский край, г. Барнаул, Научный городок, 35; e-mail: otdel\_wniipo@mail.ru; тел.: (3852)50–13–40

Афанасьев Константин Александрович, научный сотрудник лаборатории биотехнологии пантовых оленей, канд. ветеринар. наук, Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Федеральный Алтайский научный центр агробиотехнологий»; 656910, Российская Федерация, Алтайский край, г. Барнаул, Научный городок, 35; e-mail: otdel\_wniipo@mail.ru; тел.: (3852)50–13–40

**Неприятель Алексей Анатольевич,** главный научный сотрудник лаборатории переработки и сертификации пантовой продукции, д-р с.-х. наук, Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Федеральный Алтайский научный центр агробиотехнологий»; 656910, Российская Федерация, Алтайский край, г. Барнаул, Научный городок, 35; e-mail: otdel\_wniipo@mail.ru; тел.: (3852)50–13–40

Marina V. Lubennikova, CSc (Ag), Senior Research Associate, Head of the Velvet Antler Deer Biotechnology Laboratory, Federal Altai Scientific Centre of Agro-BioTechnologies, (35, Nauchniy Gorodok, Barnaul, Altai Krai, 656910, Russian Federation; phone: (3852) 50–13–40; E-mail: otdel\_wniipo@mail.ru)

Viktor A. Afanas'ev, CSc (Vet), Research Associate, the Velvet Antler Deer Biotechnology Laboratory, Federal Altai Scientific Centre of Agro-BioTechnologies, (35, Nauchniy Gorodok, Barnaul, Altai Krai, 656910, Russian Federation; phone: (3852) 50–13–40; E-mail: otdel wniipo@mail.ru)

Konstantin A. Afanas'ev, CSc (Vet), Research Associate, the Velvet Antler Deer Biotechnology Laboratory, Federal Altai Scientific Centre of Agro-BioTechnologies, (35, Nauchniy Gorodok, Barnaul, Altai Krai, 656910, Russian Federation; phone: (3852) 50–13–40; E-mail: otdel\_wniipo@mail.ru)

Aleksey A. Nepriyatel', DSc (Ag), Chief Research Associate, Laboratory of Processing and Certification of Velvet Antler Products, Federal Altai Scientific Centre of Agro-BioTechnologies, (35, Nauchniy Gorodok, Barnaul, Altai Krai, 656910, Russian Federation; phone: (3852) 50–13–40; E-mail: otdel\_wniipo@mail.ru)

УДК: 619:612.1:636.39

DOI: 10.26897/0021-342X-2023-3-148-157

# ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ИНТЕГРАЛЬНЫХ ЛЕЙКОЦИТАРНЫХ ИНДЕКСОВ В ОЦЕНКЕ ВЛИЯНИЯ СТРЕССИРУЮЩИХ ФАКТОРОВ НА ГОМЕОСТАЗ КОЗ

#### И.Ф. КАЛИМУЛЛИН, Е.Б. ШАРАФУТДИНОВА, А.П. ЖУКОВ

(Оренбургский государственный аграрный университет)

Принцип количественно-качественного подхода, который отражает деятельность организма при выделении его специфических и неспецифических приспособительных реакций, включает в себя требование количественной оценки специфических изменений в организме. Для выполнения поставленной цели исследований использованы ресурсы интегральных лейкоцитарных индексов (ИЛИ) в оценке гомеостаза козлят при кастрации, отъеме от матерей и переводе с пастбищного содержания на стойловое. После проведения перкутанной кастрации данные индексов существенно разнятся через сутки, а в последующий месяц после операции они медленно возвращаются до уровня первоначальных значений. Операция по обеспложиванию козликов кровавым способом выступает в роли необычного экстремального раздражителя, так как его повреждающее влияние на организм оказывается в течение более длительного времени. Изменения в крови козлят после отьема от матерей характеризовались увеличением лейкоцитов на 36,84±2,71%, изменением статуса нейтрофилов – их стало больше на 6,85±0,39%. Увеличилось число палочкоядерных и юных нейтрофилов, но уменьшилось в  $1.75\pm0.19$  раза представительство эозинофилов, что является одним из показателей наличия стрессирующего фактора средней силы. Перевод коз на стойловое содержание приводит к резкому уменьшению импульсации со стороны скелетной мускулатуры, что ослабляет активирующее воздействие ретикулярной формации мозга на кору больших полушарий. Организм коз испытывает действие экстремальных раздражителей, которые по степени своего воздействия превышают пределы повседневных влияний, реагирует специфически в соответствии с природой действующего агента. Наиболее выражена реакция на открытую кровавую кастрацию, менее – на перкутанную, и далее по убывающей: отъем козлят от матерей и перевод с пастбищного содержания.

**Ключевые слова:**. Интегральные лейкоцитарные индексы, козлята, гомеостаз, стресс-фактор, лимфоциты, эозинофилы, нейтрофилы.

#### Введение

В промышленном козоводстве стрессирующими факторами становятся гиподинамия, корма и кормление, микроклимат в помещениях, транспортировка животных, роды, отъем молодняка от матерей, кастрация, вакцинация, лактация и выческа пуха [8]. Тезис о необходимости именно искусственного выделения отдельных важных моментов в жизни организма был выдвинут с целью прежде всего получения возможности изучения его изолированных реакций на некоторые изменения среды [1].

Принцип количественно-качественного подхода, отражающего приспособительную деятельность организма при выделении его специфических и неспецифических приспособительных реакций, привносит требование количественной оценки специфических изменений в организме [3, 14].

**Цель исследований:** использование ресурса интегральных лейкоцитарных индексов (ИЛИ) в оценке гомеостаза козлят при отъеме от матерей, кастрации и переводе с пастбищного содержания на стойловое.

#### Материал и методы исследований

Базой для проведения исследований послужил СПК колхоз «Донской» Беляевского района, в условиях которого были проведены наблюдения за состоянием 12 козликов месячного возраста, которые по принципу аналогов подразделены на 2 группы: представители первой из них кастрированы перкутанно; представители второй — открытым кровавым способом. Подопытные животные исследованы перед операцией, а затем через первые, 14-е и 3-е сутки. Влияние отъема козлят от матерей изучено на 6 козочках в возрасте 3,5 мес. по аналогичной схеме при кастрации. Влияние перевода животных с пастбищного содержания на стойловое изучено на 6 козочках 7-месячного возраста по схеме: до перевода; через первые, 7-е и 14-е сут. Кровь у животных забирали в утренние часы до кормления в вакуумные пробирки. В крови определяли СОЭ по Панченкову, лейкограмму и концентрацию лейкоцитов на гематологическом анализаторе Smart V5 Vet. По лейкограмме, полученным значениям СОЭ и наличию лейкоцитов рассчитывали по традиционным методикам ИЛИ, характеризующие неспецифическую реактивность организма (НРО), уровень интоксикации и индексы активности воспаления [5, 13].

#### Результаты и их обсуждение

При ведении козоводства по традиционной технологии одно из первых стрессорных воздействий животные испытывают в месячном возрасте, когда кастрируют козликов. Начиная с 70-х гг. прошлого столетия перкутанная кастрация козликов применялась в ряде козоводческих хозяйствах области с хорошим экономическим эффектом [15].

Установлено, что после проведенной перкутанной кастрации у козликов отмечалось угнетение, они отказывались от корма, преследовали матерей, жалобно блеяли. Показатели температуры тела, пульса и дыхательных движений не выходили за пределы физиологической нормы. На 2-е сут. мошонка у них умеренно увеличивалась в объеме по причине нарастания признаков асептического воспаления. На 7-е сут. отечность, болезненность и местная температура исчезали, по истечении 2 недель морфологические показатели крови были на уровне значений интактных животных.

Индексы НРО козлят сразу после кастрации изменялись исходя из трансформации лейкоформулы, которая сопровождалась двукратным уменьшением эозинофилов, увеличением нейтрофильных гетерофилов (НГ) на  $10,03\pm0,68\%$ , уменьшением на  $9,11\pm0,41\%$  лимфоцитов. Через 2 нед. составляющие лейкоформулы были близкими к значениям до операции. Так, через 1 мес. сумма НГ в крови козлят соотносятся как  $40,76\pm2,12$  и  $40,24\pm2,19\%$ , поэтому данные индексов существенно разнятся через сутки, а в последующий месяц после операции они медленно нивелируются до уровня первоначальных значений (табл. 1).

Индексы интоксикации отреагировали на изменения в крови после перкутанной кастрации однонаправленно, так как знаменатель при расчете индексов имеет ощутимое преимущество по величине по причине высоких значений НГ, исходя из чего и бонитет индексов будет высоким. Через 2 нед. после кастрации индексы интоксикации имели тенденцию уменьшения рейтинга, а через 1 мес. все 6 индексов были близкими к уровню первоначальных значений (табл. 2).

Таблица 1 Динамика индексов неспецифической реактивности козлят на фоне стрессирующих факторов

				Кастр	ация				Отъем козлят							
Индексы	перкутанная кровавая							ЛЬЕМ	козля	ı	Перевод с пастбища					
Zнд		через сутки										через	сутки			
	до	1	14	30	до	1	14	30	до	1	14	30	до	1	7	14
иГ	1,78	1,43	2,15	1,71	1,84	0,59	3,27	1,72	1,88	1,44	2,03	2,18	1,78	0,74	2,15	1,81
ИС	0,55	0,69	0,46	0,58	0,54	1,74	0,31	0,59	0,53	0,69	0,49	0,52	0,56	1,37	0,46	0,53
иБ	5,93	2,79	3,88	5,74	5,88	2,37	3,71	5,79	5,33	2,94	4,02	5,32	5,41	2,65	5,28	5,31
иК	0,77	1,18	0,82	0,82	0,81	3,63	0,67	0,91	0,77	1,13	0,82	0,78	0,81	1,91	0,77	0,79
ЛИ	1,29	0,84	1,22	1,22	1,27	0,27	1,49	1,21	1,29	0,87	1,21	1,31	1,24	0,52	1,31	1,29
ИСНМ	2,28	1,81	1,28	2,22	2,16	5,23	1,27	2,11	2,01	3,09	1,06	1,16	1,76	2,91	1,41	1,83
ислм	2,96	1,51	1,56	1,12	2,61	1,41	1,89	2,61	2,59	3,01	1,27	1,53	2,68	1,52	1,95	2,56
ИАЛ	1,32	0,85	1,22	1,08	1,28	0,27	0,88	1,26	1,38	0,93	1,24	1,39	1,26	0,54	1,38	1,28
ияс	0,38	0,69	0,77	0,38	0,38	0,58	0,67	0,33	0,41	0,64	0,68	0,55	0,58	0,32	0,58	0,57

Таблица 2 Динамика индексов интоксикации у козлят при различных технологических процессах

				Кастр	оация				OTI ON KOORGE				Пополод о постбина			
ЭКСЫ		перкутанная кровавая							- Отъем козлят				Перевод с пастбища			
Индексы		через сутки						через сутки								
	до	до 1 14 30 до 1 14 30 до						до	1	14	30	до	1	7	14	
ЛИИр	0,97	1,68	0,63	0,97	0,93	2,09	0,56	0,98	0,96	1,28	0,67	0,95	0,99	1,05	0,71	0,99
ЛИИк-к	0,24	0,58	0,22	0,29	0,28	2,83	0,16	0,31	0,25	2,37	0,15	0,23	0,29	1,13	0,25	0,28
POH	2,72	19,38	5,86	2,72	3,02	25,92	3,04	2,98	2,73	9,53	2,86	2,69	3,23	22,22	3,62	3,19
ЯИИ	1,61	2,06	3,63	1,71	1,63	0,67	3,32	1,78	1,53	0,95	2,53	1,57	1,64	1,84	1,48	1,68
ИСЛК	0,83	1,18	0,87	0,87	0,87 0,85 2,19 0,81 0,93 0,88 1,12 0,94 0,84 0,						0,91	1,46	0,92	0,91		
УИ	0,89	1,27	1,56	0,93	0,95	1,89	1,62	0,98	0,87	0,98	1,38	1,02	0,92	1,48	0,92	0,89

Лейкоцитарный индекс воспаления (ЛИВ) увеличился через сутки с  $1.85\pm0.31$  до  $5.55\pm0.59$  усл. ед., что связано с повышающимся рейтингом лейкоцитов и юных форм НГ и ослаблением позиции лимфоцитов. Сумма нейтрофилов, умноженная на СОЭ (ИВНСОЭ) и деленная на коэффициент, через сутки показывает двукратное увеличение индекса, который не стабилизируется даже через месяц по причине высоких значений СОЭ (табл. 3). Через сутки величина СОЭ была максимальной, достигая  $1.33\pm0.11$  мм/ч, поэтому индексы в этот период будут иметь максимальные показатели при взаимодействии с палочкоядерными НГ (ИВНпСОЭ) и с лейкоцитами (ИВЛСОЭ).

Спустя месяц после кастрации в лейкоформуле заметно окрепла позиция моноцитов, эозинофилов и лимфоцитов, что, очевидно, связано с неудаленной тканью семенника, которая продолжает продуцировать андрогены, и они выступают в роли синергистов глюкокортикоидов, усиливающих иммуногенез и оказывающих стимулирующее действие на рост и развитие кастрата [7].

Операция по обеспложиванию козликов кровавым способом выступает в роли необычного экстремального раздражителя, так как его повреждающее влияние на организм оказывается в течение более длительного времени. В таких случаях процессы адаптации и компенсации становятся недостаточно действенными. Более того, возникшие при этом сдвиги параметров гомеостаза выступают в роли мощных стимулов стресса, то есть патогенетическим фактором. При этом в стадии тревоги в пуле лейкоцитов происходят преобразования, направленные на увеличение лейкоцитов до  $13,38\pm0,43$  Г/л, при фоновом значении  $-9,11\pm0,33$  Г/л; двукратно прогрессирует СОЭ, прирастает пул НГ до  $68,37\pm2,83\%$ , при значениях до операции  $-40,47\pm0,93\%$ ; эозинофилов меньше стало в  $3,24\pm0,22$ , а лимфоцитов — в  $1,75\pm0,43$  раза. Через 2 нед. в лейкоформуле прежние позиции до операционного процесса обрели базофилы, эозинофилы, лимфоциты и моноциты, стало меньше НГ в  $1,93\pm0,24$  раза. Столь выраженная экспрессия НГ связана с их исключительной ролью в поддержании гомеостаза организма.

В настоящее время убедительно доказано, что НГ является зеркалом гомеостаза. В борьбе с патогенами НГ не только проявляют внутриклеточную активность, но и уничтожают их при помощи формирования нейтрофильных экстрацеллюлярных сетей, выброса экстрацеллюлярных везикул. Установлена способность НГ возвращаться в кровоток после выхода во внесосудистое пространство. Нейтрофильные гранулоциты способны к синтезу белков de novo, то есть обладают белок-синтетической функцией, секретируют большое количество гранулярных ферментных и неферментных белков, обладающих антибактериальными и регуляторными свойствами, цитокинов, хемокинов, регуляторных молекул, ростовых факторов и др. На поверхностной мембране НГ экспрессированы сотни различных молекул-рецепторов, обеспечивающих их связь с микроокружением и другими клетками иммунной системы [12].

В первые сутки после кастрации, на фоне динамичных изменений в лейкограмме, модифицировались индексы HPO, особенно те из них, где использовались нейтрофилы, эозинофилы и лимфоциты. Так, индекс Гаркави (иГ) уменьшился в  $3,15\pm0,28$  раза по причине падения рейтинга лимфоцитов, индекс стресса (ИС) редуцирован в  $3,12\pm0,19$  раза ввиду высокого бонитета сегментоядерных нейтрофилов, индекс Бредекка (иБ) убывает в  $2,55\pm0,17$  раза, при этом индекс Кребса (иК) возрастает в  $4,56\pm0,51$  раза. При соотношении лимфоцитов и суммы НГ значения лимфоцитарного индекса (ЛИ) уменьшились в  $5,61\pm0,58$  раза, а индекс аллергизации (ИАЛ) стал меньше в  $4,84\pm039$  раза. Через 2 нед. после операции индексы НРО имели тенденцию нормализации их бонитета с тенденцией возврата к первоначальным показателям (табл. 1).

Все индексы интоксикации представлены таким образом, что в знаменателе они представлены комбинациями нейтрофилов, поэтому через сутки они откликнулись на изменения в лейкоформуле высоким рейтингом. Самые высокие показатели отмечены у лейкоцитарного индекса интоксикации Кальф-Калифа (ЛИИ к-к) — 10-кратное увеличение, величина индекса реактивного ответа нейтрофилов (РОН) стала большей в 9 раз, все остальные индексы удвоились (табл. 2).

Лейкоцитарный индекс воспаления (ЛИВ) в первые сутки после операции увеличился с  $1,84\pm0,23$  до  $2,55\pm0,31$  усл. ед., через 2 нед. он убывает до  $2,19\pm0,28$ , а через месяц его величина уже является близкой к изначальной. Лимфоцитарно-гранулоцитарный индекс (ЛГИ) показывает ранговое отношение лимфоцитов к сумме всех гранулоцитов, преимущество которых является более чем двукратным. Взаимоотношение СОЭ и форменных элементов лейкоформулы однонаправленно увеличивается в первые сутки почти в 2 раза, через 2 нед. они усиливают свои позиции, и к месячному возрасту их формат близок к результатам, полученным до операции (табл. 3).

В пуховом козоводстве неотъемлемой частью производственной технологии является отъем козлят от матерей. В первые 2 дня отнятые от матерей козлята отличались от тех, которые находились с матерями. Это отличие заключалось в том, что первые из них беспорядочно двигались, жалобно кричали, у некоторых из них отмечали афонию, они плохо паслись и не поедали предложенные концентраты. Животные часто принимали позу для мочеиспускания и дефекации. Многие из козлят часто пили воду. К концу третьих суток описанные явления несколько стихали, а в поведении животных появлялись признаки восстановления условно-рефлекторной деятельности — адекватная реакция на пищевые и иные раздражители.

Таблица 3 Динамика индексов активности воспалениия у козлят на фоне различных технологических процессов

				Кастр	рация				Отгом козпат			Перевод с пастбища				
Милокоги	перкутанная					кров	авая				евод с	д с пастоища				
Индексы		через сутки										через	сутки			
	до	1	14	30	до	1	14	30	до	1	14	30	до	1	7	14
ЛИВ	1,85	5,55	3,79	1,91	1,84	2,55	2,19	1,89	1,91	4,77	3,78	1,99	1,89	3,63	2,39	1,82
ЛГИ	1,15	0,79	1,07	1,07	1,11	0,43	1,18	0,93	1,08	0,86	0,98	1,11	1,09	0,49	1,22	1,14
ИСАСОЭ	7,78	4,12	4,37	6,93	7,92	2,35	4,71	7,55	7,86	4,64	4,64	7,96	8,01	3,75	6,55	8,21
ИВНСОЭ	2,48	5,66	5,02	3,09	2,71	5,06	3,01	2,99	2,62	4,35	4,35	2,65	2,59	5,81	3,38	2,52
ИВНпСОЭ	0,64	1,71	1,06	0,65	0,71	1,64	1,68	0,75	0,62	1,48	1,31	0,72	0,68	1,14	0,87	0,62
ивлсоэ	0,65	2,14	1,91	0,93	0,63	1,65	0,93	0,61	0,66	1,76	1,87	0,69	0,72	1,39	1,19	0,79
ОИАВ	3,95	9,51	8,94	4,67	4,01	8,35	5,62	3,62	3,75	7,54	6,54	3,98	3,93	8,34	5,44	3,89

Изменения в крови козлят после отъема от матерей характеризовались увеличением лейкоцитов на  $36,84\pm2,71\%$ , изменением статуса нейтрофилов – их стало больше на  $6,85\pm0,39\%$ . Увеличилось число палочкоядерных и юных нейтрофилов, но уменьшилось в  $1,75\pm0,19$  раза представительство эозинофилов, что является одним из показателей наличия стрессирующего фактора средней силы. Биологический смысл реакций активации заключается в адекватном повышении активности защитных систем в ответ на раздражитель средней силы, что соответствует оптимальному уровню защитного ответа организма. При спокойной активации происходит самая быстрая и адекватная перестройка защитных сил в ответ на повреждающее воздействие [9].

Из всех индексов НРО наиболее выраженно отреагировали иБ, уменьшившись почти в 2 раза в силу увеличения числа палочкоядерных нейтрофилов и уменьшения процента лимфоцитов. Увеличились рейтинги иК, индекса соотношения нейтрофилов и моноцитов (ИСНМ), индекса соотношения лимфоцитов и моноцитов (ИСЛМ), индекса стресса (ИС) ввиду перераспределения двух наиболее представительных пулов – лимфоцитов и нейтрофилов. По той же причине уменьшились уровни иГ, иК, ЛИ, ИАЛ и индекса ядерного сдвига (ИЯС).

Из 6 индексов интоксикации через сутки 5 индексов отреагировали увеличением, так как все значения знаменателя представлены нейтрофильными гетерофилами. Так, показатель ЛИИ к-к увеличился в 10 раз, показатель РОН — в 3 раза. Другие показатели увеличивались незначительно и уже через 2 нед. были близкими к первоначальным показателям, а через месяц все индексы имели изначальный бонитет (табл. 2).

Индексы активности воспаления также активно отреагировали на изменения в лейкограмме при отъеме козлят. Так, ЛИВ, ИВНпСОЭ и общий индекс активности воспаления (ОИАВ) увеличились более чем в 2 раза, а через 2 нед. после отъема уровни индексов нивелируются, но с учетом возраста животных, так как онтогенез белой крови является наиболее динамичным в первые месяцы жизни (табл. 3).

Формирование животного (козы) как вида происходило по пути высокой двигательной активности. Вполне естественно, что эта потребность к движению закрепилась генетически, и когда ограничивают в движении, особенно в переходный период от пастбищного содержания к стойловому, возрастает заболеваемость животных. В первые сутки после перевода животных на территорию фермы в дневное время они много двигались вдоль забора выгульного двора, жалобно блеяли. После раздачи сена они с жадностью набрасывались на него, забирались в кормушки и вскоре отходили от них, продолжали блеять, часто пили воду. На вторые сутки при нахождении животных на выгульном дворе количество бесцельно двигающихся особей сократилось, но кормление происходило с теми же издержками, что и в первые сутки. Начиная с третьих суток этологические реакции козочек стали входить в прежнее русло, а это означало, что перевод животных с пастбищного содержания на стойловое выступил в роли стресс-фактора [6, 11, 16].

Существенные изменения отмечены в лейкоцитарном пуле крови. Так, суточное содержание козочек в условиях фермы ознаменовалось увеличением числа лейкоцитов в  $1,46\pm0,17$  раза, в 2 раза — эозинофилов, на  $14,13\pm0,39\%$  стало больше нейтрофилов, но меньше в крови обнаружено моноцитов и базофилов.

Существует ряд последовательно возникающих неспецифических адаптационных реакций организма, сопровождающихся, в том числе, определенными взаимоотношениями лимфоцитов и сегментоядерных нейтрофилов, для оценки качества которых был предложен индекс Гаркави, или индекс адаптации. Взаимоотношение двух наиболее представительных пулов лейкоцитов, отличающихся стабильностью

показателей, отражает взаимосвязь гуморального и клеточного звеньев иммунитета, оценку стрессового состояния и адаптационных реакций [3, 12].

До периода перевода на стойловое содержание в крови козочек выявили  $4,66\pm0,39$  Г/л лимфоцитов и  $2,45\pm0,22$  Г/л сегментоядерных нейтрофилов, что соответствует референсным значениям, установленным В.М. Мешковым и др., 2008 [10]. При этом соотношении иГ был равным  $1,78\pm0,21$  усл. ед., а после ограничения в движении на следующие сутки в крови козочек выявили всего  $29,24\pm0,38\%$  лимфоцитов и  $67,38\pm0,72\%$  всех НГ, и бонитет индекса опустился до  $0,74\pm0,09$  усл. ед., то есть стал меньшим в 2,5 раза.

Следует признать, что НГ – весьма лабильная клеточная популяция, оснащенная богатым репертуаром рецепторов, которые позволяют дифференцированно реагировать на меньшие изменения гомеостаза организма и функционируют как биологические сенсоры, опосредуя взаимосвязь НГ с экстрацеллюлярным окружением [4]. С нормализацией этологических показателей у козочек спустя 1 нед. после перевода их на стойловое содержание изменяется соотношение между лимфоцитами и НГ, так как наступает гегемония лимфоцитов. При этом индекс увеличивается до 2,15±0,19 улс. ед., но через 14 сут. наступает гармония в лейкограмме, которая принимает привычную форму, и на этом фоне индекс был близким к первоначальным значениям (табл. 1).

Индекс стресса (ИС) отражает взаимоотношение клеточного и гуморального звеньев иммунной системы. В силу этого его уровень через сутки увеличивается до  $1,37\pm0,15$  усл. ед., то есть почти в 2,5 раза по причине выраженной нейтрофилии, а через 2 нед. его показатели были на уровне первоначальных значений. Все последующие индексы: Бредекка, Кребса, ЛИ и ИСНМ – демонстрировали взаимоотношение отдельных представителей НГ и лимфоцитов. Суммы НГ к лимфоцитам и моноцитам имели однотипный характер, то есть в зависимости от положения лимфоцитов и нейтрофилов в формулах их экспонент резко изменялся через сутки после начала стойлового периода и нивелировался к 2 нед.

Индекс ядерного сдвига (ИЯС) служит достоверной информацией о состоянии миелопоэза — в частности, нейтропоэза. Установлено, что показатель индекса через сутки уменьшился в 1,85±0,11 раза. Это свидетельствует о нейтрофилии со сдвигом ядра вправо, в последующие сутки уровень индекса принимает первоначальные значения (табл. 1).

Следует признать, что перевод животных на стойловое содержание — это ограничение его активного образа жизни, что приводит к резкому уменьшению импульсации со стороны скелетной мускулатуры, а что ослабляет активирующее воздействие ретикулярной формации мозга на кору больших полушарий. Следствием этого становится изменение функции гипоталамо-гипофизарной системы, отчего уменьшается синтез жизненно важных гормонов и ухудшается адаптация [13].

ЛИИ к-к через сутки после перевода животных на ферму увеличился с  $0.29\pm0.03$  до  $1.13\pm0.09$  усл. ед., а РОН превосходил исходные данные в 6.5 раза, что объясняется высокими значениями знаменателей в формулах ввиду стимулирования и так высоких значений НГ коэффициентами расчетной формулы Кальф-Калифа. Через 1 нед. индексы умеренно уменьшались, а к 2 нед. после перевода приблизились к первоначальным показателям. Другие индексы изменялись в первые сутки незначительно и к 2 нед. имели рейтинг, равный изначальным показателям (табл. 2).

Индексы активности воспаления в большинстве случаев активно отреагировали через сутки на изменение условий содержания козочек прежде всего увеличением их бонитета более чем в 2 раза: индексы взаимоотношения СОЭ и лейкоцитов (ИВЛ-СОЭ), палочкоядерных нейтрофилов (ИВНпСОЭ), нейтрофилов (ИВНСОЭ). Лимфоцитарно-гранулоцитарный (ЛГИ) и лейкоцитарный индекс воспаления (ЛИВ)

из-за нейтрофилии и сдвига ядра вправо и двукратному уменьшению по причине лимфоцитопении и эозинопении. Через 7 и 14 сут. рейтинг индексов нивелировался ввиду стабилизации показателей лейкоформулы (табл. 3).

#### Выводы

Таким образом, организм коз испытывает действие экстремальных раздражителей, то есть таких, которые по степени своего воздействия превышают пределы повседневных влияний, и он реагирует специфически в соответствии с природой действующего агента. Наиболее выражена реакция на открытую кровавую кастрацию, менее — на перкутанную, и далее по убывающей: отъем козлят от матерей и перевод с пастбищного содержания. ИЛИ с разной степенью активности реагируют на изменение гомеостаза животных. Наиболее выражена реакция тех индексов, для расчета которых используются нейтрофильные гетерофилы. Из 22 индексов самую высокую чувствительность проявил лейкоцитарный индекс интоксикации по Я.Я. Кальф-Калифу. Он является первым индексом в гематологии, отражающим количественный рост нейтрофилов по отношению к другим клеткам лейкоцитарной формулы.

#### Библиографический список

- $1. \, A$ нохин П.К. Философские аспекты теории функциональной системы: Избранные труды. М.: Наука, 1978. 399 с.
- 2. *Баймишев Х.Б., Шевченко Б.П., Сеитов М.С.* Возрастная биология козы: Монография. Самара: РИЦ СГСХА, 2008. 246 с.
- 3. *Гаркави Л.Х.* Активационная терапия: Монография. Ростов-на-Дону: Издательство Ростовского университета, 2006. 256 с.
- 4. Долгушин И.И., Андреева Ю.С., Савочкина А.Ю. Нейтрофильные внеклеточные ловушки и методы оценки функционального статуса нейтрофилов: М. М.: Издательство РАМН, 2009. 208 с.
- 5. Жуков А.П., Шарафутдинова Е.Б., Датский А.П. Информативность лейкоцитарных индексов в лабораторном скрининге легочной патологии у телят // Известия ОГАУ. -2016. -№ 3 (59). С. 101-104.
  - 6. *Исламов Ф.А.*, *Исламова С.Г.* Содержание коз: М. Уфа: Гилем, 2007. 184 с.
  - 7. *Кашин А.С.* Кастрация животных // Ветеринария. -2000. № 5. C. 44-45.
- $8.\,Memков\,B.M.$  Неспецифические механизмы защиты организма коз оренбургской пуховой породы в обычных и экстремальных условиях: Автореф. дис. ... д-ра ветеринар. наук. Ленинград, 1990.-37 с.
- 9. Мешков В.М., Самотаев А.А., Бикчентаев Э.М. Рекомендации по оптимизации профилактической, лечебной и диагностической работы в козоводстве. Оренбург, 1990.-39 с.
- 10. *Мешков В.М., Сычева М.В.* Сезонные изменения гуморальных и клеточных факторов неспецифической защиты организма коз // Известия ОГАУ. -2008. № 4. C. 109–111.
- 11. Новопашина С.И., Санников М.Ю. Выращивание молодняка коз в условиях промышленной технологии // Овцы, козы, шерстяное дело. -2010. -№ 4. C. 54–58.
- 12. Нестерова И.В., Колесникова Н.В., Чудилова Г.А., Ломтатидзе Л.В., Ковалева С.В., Евгелевский А.А., Нгуен Т.З.Л. Новый взгляд на нейтрофильные гранулоциты: переосмысление старых догм. Ч. 1 // Инфекция и иммунитет. 2017. Т. 7. С. 219–230.
- 13. *Шарафутдинова Е.Б., Сорокин Н.В., Жуков А.П., Клёсова-Засорина А.О.* Оценка уровней реактивности, интоксикации и активности воспаления у собак

при бронхопневмонии с использованием лейкоцитарных индексов // Известия ОГАУ. —  $2022. - N_{\odot} 6$  (98). — С. 204—212.

- 14. *Павлов С.Е.* Адаптация: М. М.: «Паруса», 2000. 282 с.
- 15. Пушкарев Н.Н., Абузярова А.Г. Мясная продуктивность молодняка коз оренбургской породы в зависимости от возраста кастрации // Вестник мясного скотоводства. -2017. -№ 1 (97). C. 62–67.
- 16. Ревякин Е.А., Мехрадзе Л.Т., Новопашина С.И. Рекомендации по развитию козоводства. М.:  $\Phi$ ГНУ «Росинформагротех», 2010. 120 с.

### USE OF INTEGRAL LEUKOCYTE INDICES IN ASSESSING THE EFFECT OF STRESS FACTORS ON GOAT HOMEOSTASIS

#### I.F. KALIMULLIN, E.B. SHARAFUTDINOVA, A.P. ZHUKOV

(Orenburg State Agrarian University)

The principle of a quantitative-qualitative approach, which reflects the activity of the organism while distinguishing its specific and non-specific adaptive responses, includes the requirement for quantitative assessment of specific changes in the body. To achieve the research objective, the resources of integral leukocyte indices (ILI) were used to assess the homeostasis of goats during castration, weaning from dams and transfer from pasture to stabling. After percutaneous castration, the index data vary significantly in a day, and in the month following the operation they slowly return to the level of the initial values. The surgical method of castration of goats acts as an unusual extreme stimulus, as it has a damaging effect on the body for a longer period of time. Changes in the blood of kids after weaning from dams were characterised by an increase in leukocytes by 36.84±2.71%, a change in the status of neutrophils, as they increased by 6.85±0.39%. The number of band immature neutrophils increased, but the presence of eosinophils decreased by 1.75±0.19 times, which is one of the indicators of the presence of a moderate stress factor. The transfer of goats to stabling leads to a sharp decrease in impulses from the skeletal muscles, which weakens the activating effect of the reticular formation of the brain on the cerebral cortex. The goat's body is exposed to extreme stimuli, beyond the limits of everyday influences, and reacts specifically according to the nature of the activeagent. The most pronounced reaction is to open surgical castration, less so to percutaneous castration and then, in descending order: weaning of goats from dams and transfer from pasturing.

**Key words:** integral leukocyte indices, goats, homeostasis, stress factor, lymphocytes, eosinophils, neutrophils.

#### References

- 1. *Anokhin P.K.* Philosophical Aspects of the Theory of Functional System: Selected Works. M.: Nauka, 1978: 399. (In Rus.)
- 2. Baymishev Kh.B., Shevchenko B.P., Seitov M.S. Age Biology of the Goat: Monograph. Samara: RITs SGSKhA, 2008: 246. (In Rus.)
- 3. *Garkavi L.Kh.* Activation Therapy: Monograph. Rostov na Donu: Izdatel'stvo Rostovskogo universiteta, 2006: 256. (In Rus.)
- 4. *Dolgushin I.I., Andreeva Yu.S., Savochkina A.Yu.* Neutrophil Extracellular Traps and Methods for Assessing the Functional Status of Neutrophils. M.: Izdatel'stvo RAMN, 2009: 208. (In Rus.)
- 5. Zhukov A.P., Sharafutdinova E.B., Datskiy A.P. Informativity of Leucocytic Indices in Laboratory Screening of Pulmonary Pathology in Calves. Izvestiya OGAU. 2016; 3 (59): 101–104. (In Rus.)

- 6. Islamov F.A., Islamova S.G. Goat Keeping. Ufa: Gilem, 2007: 184. (In Rus.)
- 7. Kashin A.S. Castration of Animals. Veterinariya. 2000; 5: 44–45. (In Rus.)
- 8. Meshkov V.M. Nonspecific Mechanisms of Defence of the Organism of Goats of the Orenburg Down Breed under Ordinary and Extreme Conditions. DSc (Vet) thesis. Leningrad, 1990: 37. (In Rus.)
- 9. Meshkov V.M., Samotaev A.A., Bikchentaev E.M. Recommendations on Optimisation of Preventive, Therapeutic and Diagnostic Work in Goat Farming. Orenburg, 1990: 39. (In Rus.)
- 10. Meshkov V.M., Sycheva M.V. Seasonal Changes in Humoral and Cellular Factors of Non-Specific Defence of Goat Organism. Izvestiya OGAU. 2008; 4: S. 109–111. (In Rus.)
- 11. Novopashina S.I., Sannikov M.Yu. Raising Young Goats under Conditions of Industrial Technology. Ovtsy, kozy, sherstyanoe delo. 2010; 4: 54–58. (In Rus.)
- 12. Nesterova I.V., Kolesnikova N.V., Chudilova G.A., Lomtatidze L.V., Kovaleva S.V., Evgelevskiy A.A., Nguen T.Z.L. New Look at Neutrophil Granulocytes: Rethinking Old Dogmas. Part 1. Infektsiya i immunitet. 2017; 7: 219–230. (In Rus.)
- 13. Sharafutdinova E.B., Sorokin N.V., Zhukov A.P., Klesova-Zasorina A.O. Assessment of Levels of Reactivity, Intoxication and Inflammatory Activity in Dogs with Bronchopneumonia Using Leucocyte Indices. Izvestiya OGAU. 2022; 6 (98): 204–212. (In Rus.)
  - 14. Pavlov S.E. Adaptations. M.: "Parusa", 2000: 282. (In Rus.)
- 15. Pushkarev N.N., Abuzyarova A.G. Meat Productivity of Young Goats of the Orenburg Breed Depending on the Age of Castration. Vestnik myasnogo skotovodstva. 2017; 1 (97): 62–67. (In Rus.)
- 16. Revyakin E.A., Mekhradze L.T. Novopashina, S.I. Recommendations on Goat Breeding Development. M.: FGNU "Rosinformagrotekh", 2010: 120. (In Rus.)

**Калимуллин Ильдар Флюрович,** канд. ветеринар. наук, доцент кафедры незаразных болезней животных ФГБОУ ВО Оренбургский ГАУ; 460014, Российская Федерация, г. Оренбург, ул. Челюскинцев, 18; тел.: (3532) 68–97–08; e-mail: kalimullin.84@mail.ru

**Шарафутдинова Евгения Борисовна,** канд. биол. наук, доцент кафедры незаразных болезней животных ФГБОУ ВО Оренбургский ГАУ; 460014, Российская Федерация, г. Оренбург, ул. Челюскинцев, 18; тел.: (3532) 68–97–08; e-mail: evgesha-xp@mail.ru

Жуков Алексей Петрович, д-р ветеринар. наук, профессор кафедры незаразных болезней животных ФГБОУ ВО Оренбургский ГАУ; 460014, Российская Федерация, г. Оренбург, ул. Челюскинцев, 18; тел.: (3532) 68–97–08; e-mail: vet fac@mail.ru

**Il'dar F. Kalimullin,** CSc (Vet), Assosiate Professor of the Department of Noncommunicable Animal Diseases, Orenburg State Agrarian University (18, Chelyuskintsev Str., Orenburg, 460014, Russian Federation; phone: (3532) 68–97–08; E-mail: kalimullin.84@mail.ru)

**Evgenia B. Sharafutdinova,** DSc (Bio), Assosiate Professor of the Department of Noncommunicable Animal Diseases, Orenburg State Agrarian University (18, Chelyuskintsev Str., Orenburg, 460014, Russian Federation; phone: (3532) 68–97–08; E-mail: evgesha-xp@mail.ru)

Aleksey P. Zhukov, Dsc (Vet), Professor of the Department of Noncommunicable Animal Diseases, Orenburg State Agrarian University (18, Chelyuskintsev Str., Orenburg, 460014, Russian Federation; phone: (3532) 68–97–08; E-mail: vet\_fac@mail.ru)

УДК 636.5.082.474 DOI: 10.26897/0021-342X-2023-3-158-166

## СОМАТОМЕТРИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ ЭМБРИОНОВ И НЕОНАТАЛЬНЫХ ЦЫПЛЯТ, ОТВЕДЕННЫХ ОТ МЯСО-ЯИЧНЫХ КУР

#### Е.Э. ЕПИМАХОВА, К.В. ЧЕРВЯКОВА

(Ставропольский государственный аграрный университет)

В исследованиях были использованы инкубационные яйца 39-недельных мясо-яичных кур аутосексных кроссов «Доминант ЦЗ» от родительского стада, содержащегося в ООО «Агрокормсервис плюс» (г. Пятигорск) в 3-ярусных клеточных батареях: «Sussex D-104» («Д-104») —  $\beta$  и  $\varphi$  Суссекс; «Blue D-107» («Д-107») —  $\beta$  Андалузская голубая;  $\varphi$  Плимутрок черно-полосатый (ПП) и  $\varphi$ Род-айланд. Срок хранения яиц до инкубации составил 3 дня. Все яйца перед инкубацией были промаркированы порядковым номером и массой. Инкубация яиц от 144 до 150 шт. в группе осуществлена в научно-учебном виварии ФГБОУ ВО «Ставропольский государственный аграрный университет» (СтГАУ) в фермерски совмещенных модернизированных инкубаторах «Стимул-1000» — 6 инкубационных лотков и 3 выводных лотка. Поворот яиц в контрольных и опытных группах до наклева эмбрионами скорлупы осуществлялся через 45 мин.

В период проклева, вылупления и просиживания 3 выводные лотка в опытных группах были поставлены друг над другом с зазором (30% площади). Верхний лоток накрывали
стандартной сетчатой крышкой, а средний и нижний — специально изготовленными сетчатыми крышками, чтобы предотвратить выпадение цыплят. В опытных группах было
смоделировано на 8-е сут. отключение электроэнергии на 6 ч, и соответственно по причине отключения вентилятора — сначала повышение, а затем понижение температуры на поверхности яиц. Кратковременное нарушение температурного режима инкубации яиц мясояичных кур «Доминант ЦЗ» снижает вывод цыплят и индекс тела эмбрионов перед наклевом скорлупы, а у суточных цыплят увеличивает массу остаточного желтка с желточным
мешком и отношение массы тела к длине кишечника.

**Ключевые слова:** кроссы кур, режим инкубации, инкубация яиц, развитие эмбрионов, соматометрические показатели эмбрионов, вывод цыплят, суточный молодняк.

#### Введение

Несмотря на изученность эмбрионального и раннего постэмбрионального развития продуктивных птиц разных пород и кроссов, на основе достижений племенной работы, эмбриологии, изменений в технологии содержания и кормления родительского стада кур постоянно вносятся коррективы режимы инкубации яиц и престартового выращивания цыплят [5, 18].

Во время инкубации яиц о нормальном развитии эмбрионов кур объективно судят по их росту и происходящим изменениям массы тела, внутренних органов, краниально-каудальной или общей длины тела — соматометрические (морфометрические) показатели, и по индексам, которые устанавливаются при вскрытии эмбрионов [1, 6, 15, 17]. Этот же метод приемлем для оценки цыплят суточных (неонатальных) и до момента рассасывания остаточного (внутриутробного) желтка, когда они частично сохраняют признаки эмбрионов. Кроме того, в первые сутки от выведения молодняк имеет особенности экстерьера: относительно большая голова и длинные ноги, короткая шея и крылья, вытянутая форма туловища, крупные глаза [2, 3, 8, 11, 19].

Интерес представляет то, что у суточных цыплят-бройлеров на 1 см прямой длины тела – длины туловища (это расстояние между последним шейным позвонком и концом копчика в суточном возрасте у птицы) – приходится 10 см всего пищеварительного тракта, далее – 12–15 см [7, 16]. При этом в научной, нормативной и справочной литературе в сравнительном аспекте содержится недостаточно актуальных данных о динамике соматометрических показателей и индексов эмбрионов и цыплят разных популяций, пород, кроссов и возрастов [9, 10, 12].

А.А. Горбачева изучала морфологические показатели развития куриных эмбрионов и установила, что эмбрионы 32-недельных кур кроссов «Д-104», «Д-107», «Д-109» на пике яйцекладки различаются по большинству показателей роста и развития [4].

Больший индекс остаточного желтка (масса остаточного желтка с желточным мешком от живой массы суточного молодняка) отмечают у молодняка, выведенного из крупных яиц, от отцовской родительской формы и у птицы после линьки. Меньший индекс остаточного желтка имеют самки по сравнению с самцами [11, 17].

**Цель исследований:** сравнение соматометрических показателей эмбрионов и неонатальных цыплят, отведенных от кур кроссов «Доминант ЦЗ».

#### Материал и методы исследований

Объектом исследований были инкубационные яйца 39-недельных мясо-яичных кур аутосексных кроссов «Доминант ЦЗ», полученные в родительском стаде, которое содержали в 3-ярусных клеточных батареях: «Sussex D-104» («Д-104») − ♂ и ♀ Суссекс, «Вlue D-107» («Д-107») − ♂ Андалузская голубая и ♀ Плимутрок чёрно-полосатый (ПП), «Вlack D-849» («Д-849») − ♂ Плимутрок черно-полосатый (ПП) и ♀ Род-айланд. Срок хранения яиц до закладки на инкубацию составил 3 сут. Все яйца перед инкубацией были промаркированы порядковым номером и массой. Инкубационные яйца отобраны в условиях ООО «Агрокормсервис плюс», г. Пятигорск.

Инкубация яиц от 144 до 150 шт. в группе осуществлена в научно-учебном виварии ФГБОУ ВО «Ставропольский государственный аграрный университет» (СтГАУ) в фермерских совмещенных модернизированных инкубаторах «Стимул-1000» — 6 инкубационных лотков и 3 выводных лотка, по температурно-влажностному режиму, приведенному в таблице 1.

Таблица 1 Режим инкубации яиц кур «Доминант ЦЗ»

Сутки	Температу	ра воздуха, °С	Относительная	Открытие	
инкубации	сухой термометр	увлажненный термометр	влажность воздуха, %	заслонок, мм	
0–3	37,8	30,0	58–60	закрыты	
4–10	37,7	29,0	52–54	15–20	
11–14	37,6	29,0	46–48	25	
15–18	37,5	28,5	44–46	35	
19	37,1–36,8	28,0	46–48	40	
20–21	36,8	31–33	72–78	40	

Поворот яиц в контрольных и опытных группах до наклева эмбрионами скорлупы осуществлялся через 45 мин.

В опытных группах было смоделировано на 8-е сут. отключение электроэнергии на 6 ч, и соответственно по причине отключения вентилятора — сначала повышение, а затем понижение температуры на поверхности яиц.

В период проклева, выведения и ожидания цыплят 3 выводных лотка в опытных группах были поставлены друг над другом с зазором (30% площади). Верхний лоток накрывали стандартной сетчатой крышкой, а средний и нижний – специально изготовленными сетчатыми крышками, чтобы предотвратить выпадение цыплят.

Суточных гибридных цыплят подразделяли по полу: в «Д-104» – методом федерсексинга (размер маховых перьев I порядка на дистальном участке крыла больше кроющих перьев); в «Д-107» и «Д-849» – методом колорсексинга по цвету оперения (петушки имеют белое пятно на голове, у несушки темная голова без крапчатости) [14].

В 11,5 и 18,5 сут. инкубации путем овоскопирования живых эмбрионов по 40 гол. от группы подразделяли на категории I, II, III с учетом положения и размера эмбриона, развития кровеносных сосудов, размеров аллантоиса, использования белка по методике ВНИТИП [1].

Вскрытие эмбрионов I категории по 5 гол. от группы, суточных курочек по 10 гол. от группы проводили в лаборатории кафедры частной зоотехнии, селекции и разведения животных СтГАУ. Определяли среднюю категорию развития эмбрионов по взвешенной средней арифметической [13], массу яиц в возрасте вскрытия эмбрионов с точностью  $\pm 0,01$  г, массу эмбрионов и общую длину их тела с точностью  $\pm 0,01$  г и  $\pm 0,01$  см; у суточных — массу живую, массу остаточного желтка с желточным мешком, тела без остаточного желтка, печени с желчным пузырем, сердца, мускульного желудка точностью  $\pm 0,01$  г, общую длину тела и кишечника с точностью  $\pm 0,01$  см.

#### Результаты и их обсуждение

При овоскопировании яиц взвешенная средняя категория развития эмбрионов в зародышевый период на 11,5 сут. как в контроле, так и в опыте, была лучшей в «Д-104», а позже, в предплодный период на 18,5 сут., – в «Д-107»:

		Контроль			Опыт	
	«Д-104»	«Д-107»	«Д-849»	«Д-104»	«Д-107»	«Д-849»
11,5 сут.	1,1	1,3	1,1	1,1	1,2	1,2
18,5 сут.	1,4	1,3	1,4	1,4	1,3	1,5

При вскрытии яиц на 11,5 сут., через 3 сут. после смоделированной аварийной ситуации, установлено, что масса эмбрионов (основной соматометрический показатель) находилась в пределах от 4,9 до 6,1 г (lim. 1,2 г) и в среднем составила по контрольным группам 6,0 г, по опытным - 5,3 г, или меньше на 0,7 г (табл. 2).

В опытной группе «Д-104» по сравнению с контрольной группой эмбрионы меньше по массе на 1,2 г ( $P \le 0,05$ ), в «Д-107» и «Д-849» — на 0,6 и 0,4 г соответственно.

Через 7 сут., на 18,5 сут., масса эмбрионов варьировала от 30,0 до 32,6 г (lim. 2,6 г) и в среднем составила по контрольным группам 32,5 г, по опытным − 31,2 г, или меньше на 1,3 г. При этом масса эмбрионов в среднем в контроле увеличилась в 5,4 раза, в опыте − несколько больше (в 5,9 раза). В опытной группе «Д-104» по сравнению с контрольной группой эмбрионы меньше на 2,5 г (P≤0,05), в «Д-107» и «Д-849» − на 0,5 и 0,8 г соответственно. Следовательно, достоверная разность как на 11,5, так и на 18,5 сут. в кроссе «Д-104» указывает на то, что кратковременное нарушение температурного режима в большей степени негативно сказалось именно на этом кроссе.

 $\label{eq:2.2} \ensuremath{\text{\textbf{Таблица 2}}}$  Показатели роста эмбрионов кур «Доминант ЦЗ», по суткам инкубации

Показатель			Контроль		Опыт			
		«Д-104»	«Д-107»	«Д-849»	«Д-104»	«Д-107»	«Д-849»	
Macca	11,5	6,1± 0,14	5,9± 0,25	6,0± 0,26	4,9± 0,20*	5,3± 0,13	5,6± 0,23	
эмбриона, г	18,5	32,5± 0,75	32,3± 0,28	32,6± 0,68	30,0± 0,61*	31,8± 1,12	31,8± 0,76	
Масса эмбриона	11,5	9,9	9,6	9,9	7,7	8,5	9,4	
к массе яиц, %	18,5	49,8	51,0	50,8	48,7	49,4	49,9	
Общая длина	11,5	8,7± 0,15	8,6± 0,08	8,5± 0,02	8,1± 0,10*	7,9± 0,04*	8,0± 0,11*	
тела, см	18,5	16,6± 0,11	16,6± 0,13	16,2± 0,14	15,6± 0,21*	16,2± 0,15	16,0± 0,21	
Масса эмбриона	11,5	0,70	0,69	0,71	0,60	0,67	0,70	
к общей длине тела, г/см	18,5	1,96	1,94	2,02	1,92	1,96	2,00	

<sup>\*</sup>Разность достоверна с контролем при Р≤0,05.

С познавательной точки зрения интересно, что в среднем на 11,5 сут. масса эмбрионов мясо-яичных кур использованных кроссов «Доминант ЦЗ» от массы яиц до инкубации в контрольных группах была на уровне 9,8% (lim. 0,3%), а в опытных группах — на уровне 0,5% (lim. 0,3%), или на 0,3% меньше. В среднем на 0,3% масса эмбрионов «Доминант ЦЗ» от массы яиц до инкубации в контрольных группах составляла 0,5% (lim. 0,3%), а в опытных группах — 0,3% (lim. 0,3%), или на 0,3%0 массы яиц до инкубации в контрольных группах составляла 0,5%0 (lim. 0,3%0, а в опытных группах — 0,3%0 (lim. 0,3%0, или на 0,3%0, или на 0,3%1, а наименьшее — в «Д-0,3%10, Различие на 0,3%1, а наименьшее — снова в «Д-0,3%10, 0,3%1.

На 11,5 сут. общая длина тела эмбрионов кур, измеряемая от кончика клюва до кончика третьего пальца ноги (второй по значимости соматометрический показатель), была в диапазоне 7,9–8,7 см (lim. 0,8 см) и в среднем составила по контрольным группам 8,6 см, по опытным группам — 8,0 см, или меньше на 0,6 см. Эта разность достоверна для всех кроссов при  $P \le 0,05$ . При следующем измерении на 18,5 сут. общая длина тела эмбрионов кур была в диапазоне 15,6–16,6 см (lim. 1,0 см) и в среднем составила по контрольным группам 16,5 см, по опытным группам — 15,9 см, или меньше на 0,6 см. В опытной группе «Д-104» длина тела эмбрионов по сравнению с контрольной группой меньше на 1,0 см ( $P \le 0,05$ ), в «Д-107» и «Д-849» — на 0,4 и 0,6 см соответственно.

За 7 сут. инкубации общая длина тела эмбрионов в контрольных группах увеличилась в 1,9 раза, а в опытных группах — в 2,0 раза, и это в меньшей степени по сравнению с их массой (в 5,4 и 5,9 раза).

Отношение массы эмбрионов к их общей длине тела (индекс тела) на 11,5 сут. было в интервале 0,60–0,71 г/см и в среднем по контрольным группам составило 0,70 г/см, по опытным – несколько меньше (0,66 г/см, или на 0,04 г/см), причем в кроссе «Д-104» эта разница наибольшая (0,10%), а в кроссе «Д-849» — наименьшая (0,01%). Индекс тела эмбрионов на 18,5 сут. увеличивается в сравнении

с 11,5 сут. по контрольным группам на 2,26 г/см, или в 4,2 раза, а по опытным группам — на 2,30 г/см, или в 4,5 раза. В обоих случаях выделяются эмбрионы кросса «Д-849». Следовательно, в показателях роста эмбрионов по суткам инкубации имеются различия между кроссами мясо-яичных кур «Доминант ЦЗ».

Что касается вывода кондиционных цыплят, то при одном и том же режиме инкубации со смоделированной аварийной ситуацией в опытных группах в отличие от контрольных он был в среднем ниже на 4,5%, в том числе в «Д-104» — на 4,0%, в «Д-107» и «Д-849» — на 6,4 и 3,3%:

		Контроль		Опыт			
	«Д-104»	«Д-107»	«Д-849»	«Д-104»	«Д-107»	«Д-849»	
Заложено яиц, шт.	150	151	148	150	148	144	
Вывод цыплят, %	83,3	84,1	81,1	79,3	77,7	77,8	

Объективная оценка морфометрических показателей суточных (неонатальных) гибридных курочек «Доминант-ЦЗ» показала, что их живая масса, включающая в себя массу тела и остаточного желтка, варьировала от 37,8 до 41,6 г (lim. 3,8 г) и в среднем составила по контрольным группам 39,2 г, по опытным группам — 40,4 г, или больше на 1,2 г (табл. 3).

Таблица 3 Морфологические показатели суточных курочек «Доминант ЦЗ»

Показатель		Контроль			Опыт	
Показатель	«Д-104»	«Д-107»	«Д-849»	«Д-104»	«Д-107»	«Д-849»
Живая масса, г	39,7±0,96	37,8±0,72	40,0±0,66	40,1±0,95	41,6±0,69*	39,4±0,72
Масса остаточного желтка, г	4,8±0,30	3,5±0,24	3,9±0,42	5,6±0,52	5,6±0,35*	4,1±0,35
Масса тела без остаточного желтка, г	34,9±0,84	34,3±0,65	36,1±0,48	34,5±0,78	36,0±0,55	35,3±0,63
Масса печени, г	0,9±0,03	1,0±0,05	1,2±0,05	0,9±0,04	1,0±0,04	1,1±0,03
Масса сердца, г	0,3±0,01	0,3±0,01	0,3±0,02	0,3±0,01	0,3±0,01	0,3±0,02
Масса мускульного желудка, г	2,2±0,08	2,4±0,11	2,6±0,04	2,2±0,14	2,3±0,10	2,6±0,12
Общая длина тела, см	17,8±0,15	17,6±0,10	17,8±0,11	17,3±0,08*	17,4±0,14	17,7±0,11
Живая масса к общей длине тела, г/см	2,26	2,26	2,31	2,34	2,40	2,36
Длина кишечника, см	35,3±1,02	34,9±1,09	34,6±0,88	32,9±0,67	34,5±0,70	31,9±0,99
Масса тела к длине кишечника, г/см	0,99	0,98	1,04	1,05	1,04	1,11

<sup>\*</sup>Разность достоверна с контролем при Р≤0,05.

Интерес представляет то, что живая масса цыплят за последние 3 сут. инкубации (плодный период эмбриогенеза) в среднем возросла в контрольных и опытных группах на 6,7 г (20,6%) и 9,2 г (29,5%). Другими словами, скорость прироста живой массы неонатальных цыплят со смоделированной аварийной ситуацией в опытных группах в отличие от контрольных была больше -3,1 и 2,2 г в сутки.

Живая масса курочек в опытной группе «Д-107» превышала контрольную группу на 3,8 г ( $P \le 0.05$ ), или на 10,0%, а в «Д-104» и «Д-849» — всего на 0,4 и 0,6 г, или на 1,0 и 1,5% соответственно.

По нашим данным, выявленные различия в живой массе цыплят напрямую обусловлены большей массой остаточного желтка, в том числе в «Д-104» на 0,8 г, или на 16,7%, в «Д-107» — на 2,1 г, или на 60,0% ( $P \le 0,05$ ), в «Д-849» — в самой меньшей степени (на 0,2 г, или 5,1%), что свидетельствует о генетических особенностях кроссов по реакции на разные режимы инкубации.

Масса тела суточных курочек без остаточного желтка варьировала от 34,3 до 36,1 г (lim. 1,8 г) и в среднем составила по контрольным группам 35,1 г, по опытным группам - 35,3 г, или практически без существенных отличий. Преимущество опытной группы над контрольной группой в «Д-107» в 1,7 г, или на 5,0%, можно рассматривать как тенденцию.

По массе печени, сердца и мускульного желудка существенные различия в разрезе контрольных и опытных групп, а также кроссов не установлены.

От наклева до выборки общая длина тела цыплят в контрольных группах увеличилась на 1,2 см, или на 7,3%, а в опытных группах — в несколько меньшей степени (на 1,6 см, или на 10,1%).

Суммируя с предыдущими данными, можно констатировать, что увеличение живой массы неонатальных птенцов с остаточным желтком находится в приоритете над общей длиной тела.

Индекс тела суточных цыплят был в интервале 2,26-2,40 г/см и в среднем по контрольным группам — 2,28 г/см, по опытным — 2,37 г/см, или больше на 3,9%. Последнее связано в основном с большей живой массой. В «Д-107» по индексу тела превосходство опытной группы над контрольной было наибольшим — 0,14 г/см, или 6,2%, причем в кроссе «Д-104» эта разность наибольшая (0,10%), а в «Д-849» — наименьшая (0,01%). Индекс тела эмбрионов на 18,5 сут. увеличивается в сравнении с 11,5 сут. по контрольным группам на 2,26 г/см, или в 4,2 раза, а по опытным группам — на 2,30 г/см, или в 4,5 раза. В обоих случаях выделяются эмбрионы кросса «Д-849».

Длина кишечника суточных курочек варьировала от 31,9 до 35,3 см (lim. 3,4 см) и в среднем по контрольным группам была больше, чем по опытным, на 1,8 см, или на 5,4%.

Масса тела цыплят «Доминант ЦЗ» к длине их кишечника в опытных группах была больше в отличие от контрольных: в «Д-104» — на 0.06 г/см; в «Д-107» и «Д-849» — на 0.03 и 0.07 г/см соответственно.

#### Выводы

Кратковременное нарушение температурного режима инкубации яиц мясо-яичных кур «Доминант ЦЗ» со снижением на 2°С в течение 6 ч снижает вывод цыплят и индекс тела эмбрионов перед наклевом скорлупы, а у суточных цыплят увеличивает массу остаточного желтка с желточным мешком и отношение массы тела к длине кишечника.

#### Библиографический список

- 1. Биологический контроль при инкубации яиц сельскохозяйственной птицы: Методические наставления / Сост. Л.Ф. Дядичкина. Сергиев Посад: ВНИТИП, 2014. 184 с.
- 2. *Бурьян М.* Максимизация однородности и жизнеспособности цыплят // Птицеводство. -2005. -№ 6. C. 7-9.
- 3. *Горбачева А.А.* Динамика рассасывания остаточного желтка у цыплят кроссов «DOMINANT CZ» // Аграрная наука Северо-Кавказскому федеральному округу. Ставрополь, 2020. С. 22—25.
- 4. Горбачева А.А. Морфологические показатели развития куриных эмбрионов // Новости науки и АПК: Научно-практический журнал. Ставрополь, 2019. № 3 (12). С. 167—170.
- 5. Дядичкина Л., Цилинская Т. Качество мясных цыплят разного возраста после вылуплении // Птицеводство. -2011. № 11. С. 15—17.
- 6. *Егорова А.В., Ефимов Д.Н., Емануйлова Ж.В.* Способ отбора племенных петухов селекционного стада // Птицеводство. -2019. -№ 7. C. 8-12.
- 7. Елизаров Е.С., Шахнова Л.В., Манукян В.А. Рост органов и тканей у мясных кур: М. Сергиев Посад: РАСХН, МНТЦ «Племптица», ГУП ППЗ «Конкурсный», 2002.-36 с.
- 8. Фисинин В.И., Дядичкина Л.Ф., Голдин Ю.С. и др. Инкубация яиц сельско-хозяйственной птицы: Методические рекомендации; Под общ. ред. В.И. Фисинина / ВНИТИП. Сергиев Посад, 2008. 119 с.
- 9. Инкубаторий: Техническое пособие ROSS. Рассмотрение методики инкубации // Aviagen Limited (www.aviagen.com). 2009. 77 с. Октябрь.
- 10. ОСТ 10329—2003. Суточный молодняк кур. Технические условия / В.И. Фисинин, Л.Ф. Дядичкина, Н.С. Позднякова, Р.В. Данилов / ВНИТИП. МСХ России, 2003.-14 с.
- 11. *Отрыганьева А.* Суточный цыпленок: М. М.: Изд-во «Московский рабочий», 1969.-55 с.
- 12. *Позднякова Н*. Оценка качества суточных цыплят // Птицеводство. 2010. № 2. С. 24–25.
- 13. Плохинский Н.А. Руководство по биометрии для зоотехников. М.: Изд-во «Колос», 1969. 256 с.
- 14. Промышленное птицеводство: Монография / Под общ. ред. акад. РАН В.И. Фисинина. М.: ВНИТИП, 2016. 534 с.
- 15. Руководство по инкубации // Техвет, Chick Master. Chick Master Incubator Co. UK, 2005. 76 с.
- 16. Спиридонов А.П., Мальцев А.Б., Дымков А.Б. Селекция, генетика и воспроизводство сельскохозяйственной птицы от А до Я: Энциклопедический словарь-справочник. Т. II. Омск: Изд-во ИП Макшеевой Е.А., 2018. 584 с.
- 17. Фисинин В.И., Журавлев И.В., Айдинян Т.Г. Эмбриональное развитие птицы: М / Всесоюзная академия сельскохозяйственных наук им В.И. Ленина. М.: Изд-во «Агропромиздат», 1990. 240 с.
- 18.  $\Phi$ исинин В., Сурай П., Папазян Т. Предстартерное кормление цыплят: проблемы и решения // Птицеводство. 2010. № 3. С. 2–7.
- 19.  $\Phi$ исинин В., Сурай П. Раннее питание цыплят и развитие мышечной ткани // Птицеводство. 2012. № 3. С. 9–12.

## SOMATOMETRIC INDICATORS OF EMBRYOS AND NEONATAL CHICKS OF MEAT AND LAYING HENS

#### E.E. EPIMAKHOVA, K.V. CHERVYAKOVA

(Stavropol State Agrarian University)

In the studies, hatched eggs from 39-week-old meat and laying hens of the autosex cross "Dominant CZ" from the parental flock of LLC "Agrokormservis Plus" (Pyatigorsk) were used in three-tier cage batteries: "Sussex D-104" ("D-104") –  $\circlearrowleft$  and  $\circlearrowleft$  Sussex, "Blue D-107" ("D-107") –  $\circlearrowleft$  Andalusian Blue and  $\circlearrowleft$  Black-striped Plymouth Rock (PP), "Black D-849" ("D-849") –  $\circlearrowleft$  Black-striped Plymouth Rock (PP) and  $\backsim$  Rhode Island. The shelf life of the eggs before incubation is three days. All the eggs were marked with a serial number and weight prior to incubation. Incubation of eggs from 144 to 150 pcs. in the group was carried out in the scientific and educational vivarium of the Stavropol State Agrarian University (SSAU) in farm, combined, modernized incubators "Stimul-1000" – six incubation trays and three output trays. Eggs in the control and experimental groups were turned after 45 minutes until the embryos pecked the shell.

During the period of pipping, hatching and incubation, three hatchers in the experimental groups were placed one above the other with a gap (30% of the area). The top tray was covered with a standard mesh lid, while the middle and bottom trays were covered with specially made mesh lids to prevent chicks from falling out. In the experimental groups, on the 8th day, a power cut-off was simulated for six hours and, accordingly, the temperature on the surface of the eggs first increased and then decreased due to the fan being switched off. A short-term violation of the temperature regime for the incubation of eggs of meat and laying chicks "Dominant TsZ" reduces the hatching of chicks and the body index of embryos before pecking the shell, and in day-old chicks it increases the weight of the residual yolk with the yolk sac and the ratio of body weight to the length of the intestine.

**Key words:** crosses of chicks, incubation mode, egg incubation, development of embryos, somatometric indicators of embryos, incubation, day-old chicks.

#### References

- 1. *Dyadichkin L.F.* Biological Control During the Incubation of Poultry Eggs: Methodical Instructions. Sergiev Posad: VNITIP, 2014: 184. (In Rus.)
- 2. *Bur 'yan M*. Maximizing the Uniformity and Viability of Chickens. Ptitsevodstvo. 2005; 6: 7–9. (In Rus.)
- 3. *Gorbacheva A.A.* Dynamics of Resorption of Residual Yolk in Chickens of Crosses "DOMINANT CZ". Stavropol: Agrarnaya nauka Severo-Kavkazskomu federal'nomu okrugu. 2020: 22–25. (In Rus.)
- 4. Gorbacheva A.A. Morphological Indicators of the Development of Chicken Embryos. Stavropol: Novosti nauki i APK: nauchno-prakticheskiy zhurnal. 2019; 3 (12): 167–170. (In Rus.)
- 5. *Dyadichkina L., Tsilinskaya T.* Quality of Meat Chickens of Different Ages after Hatching. Ptitsevodstvo. 2011; 11: 15–17. (In Rus.)
- 6. *Egorova A.V., Efimov D.N., Emanuylova Zh.V.* The Method of Selection of Breeding Roosters of the Breeding Flock. Ptitsevodstvo. 2019; 7: 8–12. (In Rus.)
- 7. Elizarov E.S., Shakhnova L.V., Manukyan V.A. The Growth of Organs and Tissues in Meat Chickens. Sergiev Posad: RASKhN, MNTTs "Plemptitsa", GUP PPZ "Konkursniy", 2002: 36. (In Rus.)

- 8. Fisinin V.I., Dyadichkina L.F., Goldin Yu.S. et al. Incubation of Poultry Eggs: Guidelines. Sergiev Posad: VNITIP, 2008: 119. (In Rus.)
- 9. Hatchery. ROSS Technical Guide. Incubation Methodology Review. Aviagen Limited. www.aviagen.com. 2009, October: 77. (In Rus.)
- 10. Fisinin V.I., Dyadichkina L.F., Pozdnyakova N.S., Danilov R.V. Industry Standard 10329–2003 Day-Old Chicks. Specifications. VNITIP. MSKh Rossii, 2003: 14. (In Rus.)
- 11. Otrygan'eva A. Day-Old Chick. M.: Izd-vo "Moskovskiy rabochiy", 1969: 55. (In Rus.)
- 12. *Pozdnyakova N.* Assessment of the Quality of Day Old Chicks. Ptitsevodstvo. 2010; 2: 24–25. (In Rus.)
- 13. *Plokhinskiy N.A.* Guidelines for Biometrics for Livestock Specialists. Izd-vo "Kolos", 1969: 256. (In Rus.)
- 14. Industrial Poultry Farming: Monograph. Ed. by V.I. Fisinin, member of the Russian Academy of Sciences. M.: VNITIP, 2016: 534. (In Rus.)
- 15. Incubation Guide. Techvet, Chick Master. Chick Master Incubator Co. UK, 2005: 76. (In Rus.)
- 16. Spiridonov A.P., Mal'tsev A.B., Dymkov A.B. Breeding, Genetics and Reproduction of Poultry from A to Z. Volume II. Encyclopedic Dictionary-Reference Book. Omsk: Izd-vo IP Maksheevoy E.A., 2018: 584. (In Rus.)
- 17. Fisinin V.I., Zhuravlev I.V., Aydinyan T.G. Embryonic Development of Poultry, Vsesoyuz. akad. s.-kh. nauk im V.I. Lenina. M.: Izd-vo "Agropromizdat", 1990: 240. (In Rus.)
- 18. Fisinin V., Suray P., Papazyan T. Pre-Starter Feeding of Chickens: Problems and Solutions. Ptitsevodstvo. 2010; 3: 2–7. (In Rus.)
- 19. *Fisinin V., Suray P.* Early Nutrition of Chickens and Development of Muscle Tissue. Ptitsevodstvo. 2012; 3: 9–12. (In Rus.)

Епимахова Елена Эдугартовна, д-р с.-х. наук, профессор базовой кафедры частной зоотехнии, селекции и разведения животных, профессор, Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Ставропольский государственный аграрный университет»; 355035, Российская Федерация, г. Ставрополь, пер. Зоотехнический, 12; e-mail: epimahowa@yandex.ru; тел.: (905) 468–62–89

**Червякова Ксения Владимировна,** аспирант базовой кафедры частной зоотехнии, селекции и разведения животных, Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Ставропольский государственный аграрный университет»; 355035, Российская Федерация, г. Ставрополь, пер. Зоотехнический, 12; e-mail: k-erko12@mail.ru; тел.: (906) 476–10–73

Elena E. Epimakhova, DSc (Ag), Professor, Professor of the Basic Department of Private Animal Science, Selection and Breeding of Animals, Stavropol State Agrarian University (12, Zootekhnicheskiy Lane, Stavropol, 355035, Russian Federation; phone: (905) 468–62–89; E-mail: epimahowa@yandex.ru)

**Ksenia V. Chervyakova,** post-graduate student, Basic Department of Private Animal Science, Selection and Breeding of Animals, Stavropol State Agrarian University (12, Zootekhnicheskiy Lane, Stavropol, 355035, Russian Federation; phone: (906) 476–10–73; E-mail: k-erko12@mail.ru)

#### СОДЕРЖАНИЕ

#### АГРОХИМИЯ, ПОЧВОВЕДЕНИЕ, ЭКОЛОГИЯ

Пржевальский Н.М., Аникина Л.В., Глоба А.А., Токмаков Г.П., Лайпанов Р.К., Вершинкин Д.А. Цитотоксичность пиранопиридонов с триптаминовым фрагментом 5 Митрофанов С.В., Орлова Н.В., Богданчиков И.Ю., Чаплыгин М.Е., Шевчук А.А. Роль агрохимического обеспечения в переходе к модели устойчивого земледелия 25
БОТАНИКА, ПЛОДОВОДСТВО
Раджабов А.К., Ханифи С.         Изучение влияния способа защиты места окулировки на приживаемость и развитие привоя сладкого апельсина (Citrus sinensis L.) и лаймквата (Fortunella Japonica × Citrus Aurantiifolia)
Горбунов И.В., Коваленко А.Г. Доноры и источники филлоксероустойчивости технических сортов винограда Анапской ампелографической коллекции для селекционной работы
ГЕНЕТИКА, БИОТЕХНОЛОГИЯ, СЕЛЕКЦИЯ И СЕМЕНОВОДСТВО
Кибальник О.П. Влияние типа стерильной цитоплазмы на селекционно-ценные признаки гибридов F1 сорго в различных по влагообеспеченности условиях
Зайцева И.Ю., Щенникова И.Н. Генетические ресурсы для приоритетных направлений селекции ярового ячменя в Волго-Вятском регионе
сортообразцов подсолнечника по признаку «площадь корзинки» в условиях Нижнего Поволжья
ЗЕМЛЕДЕЛИЕ, РАСТЕНИЕВОДСТВО, ЗАЩИТА РАСТЕНИЙ
Бондаренко А.Н. Эффективность применения гербицидов при возделывании лука репчатого в условиях Северного Прикаспия
ЗООТЕХНИЯ, БИОЛОГИЯ И ВЕТЕРИНАРНАЯ МЕДИЦИНА
Селионова М.И., Айбазов АМ.М. К вопросу генетического улучшения плодовитости овец
Тарабукина Н.П., Маркова А.М., Неустроев М.П., Парникова С.И., Скрябина М.П. Изучение кишечного микробиома сибирской косули
Лубенникова М.В., Афанасьев В.А., Афанасьев К.А., Неприятель А.А. Генетическая оценка новоталицкой и шебалинской популяций маралов
Калимуллин И.Ф., Шарафутдинова Е.Б., Жуков А.П. Использование интегральных лейкоцитарных индексов в оценке влияния стрессирующих факторов на гомеостаз коз
Епимахова Е.Э., Червякова К.В. Соматометрические показатели эмбрионов
и неонатальных цыплят, отведенных от мясо-яичных кур

#### **CONTENTS**

#### AGROCHEMISTRY, SOIL SCIENCE AND ECOLOGY

Przheval'skiy N.M., Anikina L.V., Globa A.A., Tokmakov G.P., Laypanov R.K., Vershinkin D.A. Cytotoxicity of pyranopyridones with tryptamine fragment
BOTANY, POMICULTURE
Radzhabov A.K., Hanifi S. Studying the effect of the method of budding protection on the survival and development of scions of sweet orange (Citrus sinensis L.) and limequat (Fortunella Japonica × Citrus Aurantiifolia)
GENETICS, BIOTECHNOLOGY, SELECTION AND SEED BREEDING
Kibalnik O.P. Effect of sterile cytoplasm type on valuable breeding traits of F1 sorghum hybrids under different moisture conditions
AGRONOMY, CROP PRODUCTION, PLANT PROTECTION
Bondarenko A.N. Efficacy of herbicides in onion production under Northern Pre-Caspian conditions
LIVESTOCK BREEDING, BIOLOGY AND VETERINARY MEDICINE
Selionova M.I., Aybazov AM.M. To the issue of genetic improvement of prolificacy in sheep Tarabukina N.P., Markova A.M., Neustroev M.P., Parnikova S.I., Scryabina M.P. Studying the intestinal microbiome of siberian roe deer

Журнал «ИЗВЕСТИЯ ТИМИРЯЗЕВСКОЙ СЕЛЬСКОХОЗЯЙСТВЕННОЙ АКАДЕМИИ»
e-mail: izvtsha@rgau-msha.ru тел.: (499) 976–07–48
Подписано в печать 26.06.2023 г. Формат 70×100/16 Бумага офсетная Гарнитура шрифта «Times New Roman» Печать офсетная. 10,6 печ. л. Тираж 500 экз.
Отпечатано в ООО «ЭйПиСиПаблишинг» 127550, г. Москва, Дмитровское ш., д. 45, корп. 1, оф. 8 Тел.: (499) 976–51–84