

Г.Ю. Косовский, доктор биологических наук, профессор РАН, SPIN-код: 3736-3480; AuthorID: 353097;
 ORCID: 0000-0003-3808-3086
 Т.К. Карелина, кандидат сельскохозяйственных наук, SPIN-код: 2235-9300; AuthorID: 744900;
 ORCID: 0000-0001-8360-0877
 Е.А. Стрельцова, младший научный сотрудник, SPIN-код: 1091-6054; AuthorID: 1082765;
 ORCID: 0000-0002-8007-7010
 Т.В. Прохоренко, младший научный сотрудник, SPIN-код: 5422-2250; AuthorID: 994997;
 ORCID: 0000-0002-4996-6549

Научно-исследовательский институт пушиного звероводства и кролиководства имени В.А. Афанасьева
 РФ, 140143, Московская обл., Раменский р-н, пос. Родники, ул. Трудовая, 6
 E-mail: niipzk@mail.ru

УДК 636.92.082.2

DOI: 10.30850/vrsn/2021/4/73-76

ИЗУЧЕНИЕ СТАБИЛЬНОСТИ ГЕНОМА САМЦОВ КРОЛИКОВ ПОРОДЫ БЕЛЫЙ ВЕЛИКАН В СЕЛЕКЦИОННОЙ РАБОТЕ

В статье представлен впервые используемый в селекционной работе с кроликами, метод оценки стабильности генома самцов на основе микроядерного теста, позволяющий ускоренно создавать популяции кроликов породы белый великан с учетом их воспроизводительной способности и геномной стабильности. Микроядерный тест проводили микроскопическим анализом мазков крови (кровь: физраствор – 1:1 соответственно). Перед окраской мазки крови фиксировали в метилом спирте. Краситель – готовый раствор Романовского-Гимзе. Препараты исследовали по частоте встречаемости эритроцитов с микроядрами (ЭМЯ) под микроскопом Micros Austria pD 2385 (увеличение 1000 раз). Подсчитывали микроядра в 3000 эритроцитах и выражали в промилле (‰). Данные цитогенетического теста крови самцов сопоставляли с их воспроизводительными качествами, оцененными по показателям (гол.): случено крольчих; пропустовало самок, оплодотворено самок, плодовитость, выращено крольчат к отсадке. Анализ цитогенетической характеристики самцов показал, что частота встречаемости эритроцитов с микроядрами колебалась в пределах 0,2...1,8 ‰ (в среднем $0,88 \pm 0,09$ ‰). Данные показатели находились в пределах нормы для использования самцов в воспроизводстве (не более 2 ‰ для сельскохозяйственных животных).

Ключевые слова: кролик, селекция, белый великан, самцы, стабильность генома, микроядерный тест, воспроизводительная способность, оплодотворяемость крольчих, плодовитость, выращено крольчат к отсадке.

G.Yu. Kosovskiy, *Grand PhD in Biological sciences, Professor of the RAS*

T.K. Karelina, *PhD in Agricultural sciences*

E.A. Streltsova, *junior researcher*

T.V. Prokhorenko, *junior researcher*

Scientific Research Institute of Fur – Bearing Animal Breeding and Rabbit Breeding named after V.A. Afanas'ev
 RF, 140143, Moskovskaya obl., Ramenskij r-n, pos. Rodniki, ul. Trudovaya, 6
 E-mail: niipzk@mail.ru

STUDYING OF THE STABILITY GENOME OF THE WHITE GIANT BREED OF A BUCK RABBITS IN BREEDING WORK

This article presents the method of buck genome stability evaluation based on micronucleus assay. This method was used in rabbits breeding for the first time. It allows to find opportunities for accelerated creation of White Giant rabbits population according to their reproductive ability and genomic stability. The micronucleus test was performed by microscopic examination of blood films (blood: normal saline – 1:1, respectively). Before staining blood films were fixed in methyl alcohol. The dye is a ready-made solution of Romanovsky-Giemsa. The preparations were examined according to the frequency of erythrocytes occurrence with microkernel (EMN) under a Micros Austria pD 2385 microscope (magnification 1000 times). Microkernel were counted in 3000 erythrocytes and expressed in ppm (‰). Analysis of the White Giant bucks' cytogenetic characteristics showed that the frequency of red blood cells with micronuclei occurrence ranged from 0.2-1.8 ‰, with an average of 0.88 ± 0.09 ‰. These indicators fell within the normal range for the bucks used in reproduction (not exceeding 2 ‰ for farm animals).

Key words: rabbit, breeding, White Giant, bucks, genome stability, micronucleus assay, reproductive ability, fertilization, fertility, kits reared for separating.

Для поддержания и улучшения желательных признаков породы необходимо постоянно вести работу по ее совершенствованию, разрабатывая новые методы оценки самцов по продуктивным качествам. [6]

В связи с широким использованием в селекционных работах и воспроизводстве высокопродуктивных особей и генетического материала, полученного от них, особенно важно контролировать стабильность генетического аппарата животных, нарушение ко-

торой может иметь как генетическую, так и паратипическую обусловленность. [2, 7] Повышенный уровень частоты встречаемости клеток с цитогенетическими аномалиями в периферической крови статистически достоверно коррелирует с репродуктивными нарушениями. [1] Показатель такой нестабильности – частота встречаемости эритроцитов с микроядрами. [3, 5]

Микроядра – патологическая структура, их образование связано с хромосомной нестабильностью,

представляют собой фрагменты ядра в эукариотических клетках, которые не содержат полного генома, необходимого для ее выживания. [5] Подсчет клеток с микроядрами – обобщенный показатель разных компонентов мутационных спектров как геномных мутаций (изменение числа хромосом, не связанных с повреждением ДНК молекул), так и других типов, в основе которых – двухцепочечные разрывы ДНК. [4] Поэтому в целях контроля стабильности генетического аппарата у разных видов животных микроядерный тест должен широко распространяться.

В кролиководстве недостаточно литературных источников по использованию микроядерного теста для цитогенетической характеристики и ее связи с воспроизводством самок и самцов.

Цель работы – изучение стабильности генома самцов кроликов породы *белый великан* и сопоставление полученных данных с их воспроизводительными качествами.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Исследования проводили в ФГБНУ НИИПЗК на поголовье кроликов породы *белый великан* в условиях шедовой системы. Кормление, содержание и ветеринарное обеспечение соответствовало общепринятым в отделе экспериментального кролиководства.

Для цитогенетической характеристики ежегодно в течение двух лет исследовали мазки периферической крови микроядерным тестом 14 самцов.

Микроядерный тест проводили микроскопическим анализом мазков крови (кровь: физраствор – 1:1 соответственно). Перед окраской мазки крови фиксировали в метиловом спирте. Краситель – готовый раствор Романовского-Гимзе. Препараты исследовали по частоте встречаемости эритроцитов с микроядрами (ЭМЯ) под микроскопом Micros Austria рD 2385 (увеличение 1000 раз). Подсчитывали микроядра в 3000 эритроцитах и выражали в промилле (‰).

Данные цитогенетического теста крови самцов сопоставляли с их воспроизводительными качествами, оцененными по показателям (гол.): случено крольчих; пропустовало самок, оплодотворено самок, плодовитость, выращено крольчат к отсадке.

Статистическую обработку результатов выполняли на компьютерной программе Microsoft Excel и с помощью критерия Стьюдента. [8]

РЕЗУЛЬТАТЫ

Анализ цитогенетической характеристики самцов кроликов породы *белый великан* и их воспроизводительных качеств представлен в таблице 1.

Частота встречаемости эритроцитов с микроядрами оказалась характеристикой оцениваемых самцов кроликов породы *белый великан* (0,2...1,8 ‰). По результатам цитогенетических данных по годам достоверных различий не обнаружено, но во второй год эксперимента у самцов уменьшается частота встречаемости эритроцитов с микроядрами (1,01±0,1...0,75±0,1 ‰). Средняя величина этого показателя за два года – 0,88 ± 0,09 ‰, что в пределах нормы (не более 2 ‰) у сельскохозяйственных животных для использования самцов в воспроизводстве (рис. 1-3, 3-я стр. обл.).

Оплодотворяющей способностью (100 %) характеризовались самцы: 2047/1553/271, 1819/2968, 2147/1189/10402, 609/381/2246, 618/1254/6221, 32/169/2590, 272/1705/96, 1319/2362.

Средние продуктивные показатели самок (гол.): плодовитость – 10,0 ± 0,5; 9,6 ± 0,6; 9,8 ± 1,0; 9,0 ± 1,0; 9,0 ± 0,96; 7,6 ± 0,80; 7,2 ± 0,9; 7,0 ± 0,74; выращено крольчат к отсадке – 7,3 ± 0,6; 7,7 ± 0,5; 6,7 ± 0,8; 6,4 ± 0,8; 5,5 ± 0,7; 5,8 ± 0,7; 5,8 ± 0,5; 5,8 ± 0,5 соответственно.

У самцов 610/220/6221 и 594/943/2362 продуктивность самок: плодовитость – 9,1 ± 1,15; 8,9 ± 0,59; выращено крольчат к отсадке – 6,5 ± 1,0; 6,4 ± 0,8 соответственно; оплодотворяющая способность крольчих одинаковая – 90,9 %.

Таблица 1.

Воспроизводительная способность самцов основного стада

№ самца	Случено крольчих	Пропустовало	Оплодотворяемость, %	Плодовитость, гол.	Выращено крольчат к отсадке, гол.	Количество эритроцитов с микроядрами по годам, ‰	
	гол.	гол.				первый год	второй год
2047/1553	10	–	100,0	10,0±0,5	7,3±0,6	1,09	0,9
1819/2968	10	–	100,0	9,6±0,6	7,7±0,5	1,8	
2147/1189	10	–	100,0	9,8±1,0	6,7±0,8	0,66	1,0
609/381	8	–	100,0	9,0±1,00	6,4±0,8	0,2	1,1
32/169	11	–	100,0	9,0±1,0	5,5±0,7	0,47	0,7
618/1254	10	–	100,0	7,6±0,8	5,8±0,7	0,60	0,5
1319/10	11	–	100,0	7,2±0,9	5,8±0,5	0,53	0,8
272/1705	10	–	100,0	7,0±0,7	5,8±0,5	0,56	0,8
610/220	11	1	90,9	9,1±1,1	6,5±1,0	0,26	0,6
594/943	11	1	90,9	8,9±0,6	6,4±0,8	0,6	1,0
847/169	8	1	87,5	7,6±1,2	3,7±0,8	0,78	1,2
427/359	11	2	81,8	9,6±0,7	5,5±0,6	0,4	1,0
1184/125	12	3	75,0	7,9±1,1	4,7±0,6	1,8	
14/609	12	7	41,7	7,4±1,7	5,0±1,2	0,72	1,0

Самцы 427/359/271 и 847/169/2590 обладают более низкой оплодотворяющей способностью крольчих – 81,8, 87,5 %; плодовитостью – 9,6 ± 0,67; 7,6 ± 1,21; 7,9 ± 1,15; выращено крольчат к отсадке – 5,5 ± 0,6; 3,7 ± 0,8; 4,7 ± 0,6 соответственно.

Самые низкие показатели воспроизводительной способности у самцов: 1184/125/2968 – 75,0 %, 7,9 ± 1,15, 4,7 ± 0,6; и 14/609/2246 – 41,7 %; 7,4 ± 1,72; 5,0 ± 1,2 соответственно.

Чтобы оценить возможное влияние генетической компоненты на изменчивость результатов микроядерного теста в эритроцитах, мы сравнили частоту встречаемости эритроцитов с микроядрами и показатели воспроизводительной способности. Для этого полученные данные распределили по группам: высокая, средняя, низкая (оплодотворяемость, количество выращенных крольчат к отсадке, частота встречаемости эритроцитов с микроядрами); высокая, средняя (плодовитость).

Таблица 2.

Оценка показателей воспроизводительной способности и частоты встречаемости эритроцитов с микроядрами самцов

Группа	Оплодотворяемость, %	Плодовитость, гол.	Выращено крольчат к отсадке, гол.	Количество эритроцитов с микроядрами, %о	
				M±m	
Оплодотворяемость					
Высокая	100,0	8,6±0,4	6,4±0,3	0,74±0,17	
Средняя	87,8	8,8±0,4	5,5±0,6	0,51±0,11	
Низкая	58,3	7,6±0,2	4,8±0,1	1,26±0,5	
Плодовитость					
Высокая	95,4	9,4±0,1	6,5±0,3	0,60±0,12	
Средняя	84,0	7,4±0,1	5,1±0,3	0,83±0,2	
Выращено крольчат к отсадке					
Высокая	97,0	9,4±0,2	6,8±0,2	0,77±0,24	
Средняя	100,0	7,7±0,4	5,7±0,1	0,54±0,03	
Низкая	71,5	8,1±0,5	4,7±0,4	0,92±0,3	
Частота встречаемости микроядер					
Низкая	98,5	8,3±0,5	6,1±0,3	0,72±0,06	
Средняя	83,6	8,7±0,4	5,6±0,5	1,05±0,03**	
Высокая	87,5	8,7±0,8	6,2±1,5	1,8±0,0***	

Примечание. ** – p<0,01; *** – p<0,001.

Таблица 3.

Отбор самцов по воспроизводительной способности и частоте встречаемости эритроцитов с микроядрами

Количество самцов, гол.	Оплодотворяемость, %	Плодовитость, гол.	Выращено крольчат к отсадке, гол.	Количество эритроцитов с микроядрами, %о	
				первый год	второй год
M±m					
Селекционная группа					
5	100	9,5±0,2	6,7±0,4	0,84±0,28	1,1±0,19
Пользовательное стадо					
7	93,0	8,1±0,4	5,6±0,3	0,53±0,06	0,84±0,09
Выбраковка					
2	58,3	7,6±0,2	4,8±0,1	1,26±0,5	1,4±0,4

Результаты микроядерного теста по всем показателям продуктивности в пределах нормы (не более 2 %о), что характеризует стабильность хромосомного аппарата животных, но существуют внутригрупповые отличия между средними значениями.

Так, в группе с низкой оплодотворяемостью прослеживается тенденция повышенной частоты встречаемости эритроцитов с микроядрами – 1,26 ± 0,5 в сравнении с высокой (0,74 ± 0,17) и средней (0,51 ± 0,11), но достоверных отличий нет (табл. 2).

В группах наблюдается достоверная разница характеристик частоты встречаемости эритроцитов с микроядрами высокой со средней и низкой (p < 0,001), а также средней с низкой (p < 0,01). Показатели продуктивности в этих группах соответствуют заданным параметрам селекционной работы с кроликами породы *белый великан*: средняя плодовитость – не менее 8,0; выход крольчат к отсадке – не менее 6,0 гол.

В селекционную группу отобраны пять высокопродуктивных самцов со 100,0 % оплодотворяющей способностью крольчих, высокой плодовитостью (9,5 ± 0,2) и количеством выращенных крольчат к отсадке (6,7 ± 0,4), частота встречаемости эритроцитов с микроядрами – 1,1 ± 0,19 %о (табл. 3). В группу основного стада отнесли семь самцов со средними продуктивными показателями: 93,00 %, 8,1 ± 0,4, 5,6 ± 0,3, 0,84 ± 0,09 %о соответственно. Выбраковали двух низкопродуктивных самцов с оплодотворяющей способностью крольчих – 58,3 %, плодовитостью – 7,6 ± 0,2, количеством выращенных крольчат к отсадке – 4,8 ± 0,1. При этом у низкопродуктивных самцов была повышенная частота встречаемости эритроцитов с микроядрами (1,4 ± 0,4 %о) при средней величине 0,75 ± 0,1 %о (0,2...1,8 %о) за 2020 год (второй год эксперимента).

Отбор самцов с контролем по микроядерному тесту относительной стабильности генома в комплексе с оценкой воспроизводительных качеств будет способствовать успешной селекции при создании популяции кроликов породы *белый великан*.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Глазко, Т.Т. Частоты встречаемости цитогенетических аномалий в клетках крови крупного рогатого скота / Т.Т. Глазко, С.Е. Дубицкий, Г.Ю. Косовский // Сельскохозяйственная биология. – 2007. – № 6. – С. 58–63.
2. Глазко, Т.Т. Генотипические и паратипические факторы, влияющие на результаты микроядерного теста / Т.Т. Глазко, Ю.А. Столповский, В.И. Глазко // Сельскохозяйственная биология. – 2010. – № 6. – С. 30–34.
3. Зыбайлов, Б.Л. Геномная нестабильность и неканонические структуры ДНК / Б.Л. Зыбайлов, В.И. Глазко // Известия ТСХА. – 2012. – Вып. 5. – С. 108–122.
4. Ильин, Д.А. Аспекты формирования микроядер в лимфоцитах / Д.А. Ильин // Естествознание и гуманизм: сб. науч. работ. – Томск. – 2008. – № 4. – Т. 3. – С. 20–22.
5. Ильинских, Н.Н. Микроядерный анализ и цитогенетическая нестабильность / Н.Н. Ильинских, И.Н. Ильинских, В.В. Новицкий, Н.Н. Ванчугова // Томск: Изд-во Томского университета, 1992. – С. 272.
6. Карелина, Т.К. Оценка самцов создаваемого внутрипородного типа кроликов породы *белый вели-*

- кан / Т.К. Карелина, Д.В. Попов, Е.А. Стрельцова, Т.В. Прохоренко // Кролиководство и звероводство. – 2020. – № 6. – С. 30–38.
7. Косовский, Г.Ю. Клеточные и геномные технологии в повышении эффективности животноводства / Г.Ю. Косовский // Автореф. дис. ... докт. биол. наук. – Щелково, 2014. – С. 52.
 8. Соболев, А.Д. Основы вариационной статистики / А.Д. Соболев // Учебное пособие. – М.: ФГОУ ВПО МГПВМиБ, 2006. – С. 110.
 3. Zybajlov, B.L. Genomnaya nestabil'nost' i nekanonicheskie struktury DNK / B.L. Zybajlov, V.I. Glazko // Izvestiya TSKHA. – 2012. – Вып. 5. – С. 108–122.
 4. Il'in, D.A. Aspekty formirovaniya mikroyader v limfocitah / D.A. Il'in // Estestvoznaniye i gumanizm: sb. nauch. rabot. – Tomsk. – 2008. – № 4. – Т. 3. – С. 20–22.
 5. Il'inskih, N.N. Mikroyadernyy analiz i citogeneticheskaya nestabil'nost' / N.N. Il'inskih, I.N. Il'inskih, V.V. Novickij, N.N. Vanchugova // Tomsk: Izd-vo Tomskogo universiteta, 1992. – С. 272.
 6. Karelina, T.K. Ocenka samcov sozdavaemogo vnutripodnogo tipa krolikov porodny belyj velikan / T.K. Karelina, D.V. Popov, E.A. Strel'cova, T.V. Prohorenko // Krolikovodstvo i zverovodstvo. – 2020. – № 6. – С. 30–38.
 7. Kosovskij, G.Yu. Kletochnye i genomnye tekhnologii v povyshenii effektivnosti zhivotnovodstva / G.Yu. Kosovskij // Avtoref. dis. ... dokt. biol. nauk. – Shchelkovo, 2014. – С. 52.
 8. Sobolev, A.D. Osnovy variacionnoy statistiki / A.D. Sobolev // Uchebnoye posobie. – М.: FGOU VPO MGPVМиБ, 2006. – С. 110.

LIST OF SOURCES

1. Glazko, T.T. Chastoty vstrechaemosti citogeneticheskikh anomalij v kletkah krovi krupnogo rogatogo skota / T.T. Glazko, S.E. Dubickij, G.Yu. Kosovskij // Sel'skohozyajstvennaya biologiya. – 2007. – № 6. – С. 58–63.
2. Glazko, T.T. Genotipicheskie i paratipicheskie faktory, vliyayushchie na rezul'taty mikroyadernogo testa / T.T. Glazko, Yu.A. Stolpovskij, V.I. Glazko // Sel'skohozyajstvennaya biologiya. – 2010. – № 6. – С. 30–34.

ПРОЦЕССЫ И МАШИНЫ АГРОИНЖЕНЕРНЫХ СИСТЕМ

П.И. Гриднев, доктор технических наук

Т.Т. Гриднева, кандидат технических наук

ИМЖ – филиал Федерального агроинженерного центра ВИМ

РФ, 108823, г. Москва, поселение Рязановское, пос. Знамя Октября, 31

E-mail: opkb00@mail.ru

УДК 631.86

DOI: 10.30850/vrsn/2021/4/76-80

ИНТЕНСИФИКАЦИЯ ПРОЦЕССА БИОТЕРМИЧЕСКОЙ СТАБИЛИЗАЦИИ НАВОЗА

Увеличение поголовья свиней и изменение их системы содержания привели к росту количества жидкого навоза как в России, так и во всем мире. Наибольшие сложности возникают при утилизации навоза влажностью 92–97 %. Все известные технологии подготовки к использованию жидкого навоза имеют низкие технико-экономические показатели из-за высоких затрат на строительство сооружений, приобретение и эксплуатацию оборудования, низкое качество получаемых органических удобрений. Повысить эффективность утилизации такого навоза возможно, совершенствуя технологию биотермической стабилизации, основанную на регулируемом насыщении его кислородом воздуха. Результаты предварительных испытаний показали, что интенсивность процесса, в значительной мере, определяется гранулометрическим составом исходного материала. Математическая модель процесса биотермической стабилизации навоза представлена в виде системы дифференциальных уравнений и описывает изменение во времени четырех основных параметров (температура обрабатываемого навоза, концентрация субстрата, термофильные микроорганизмы и кислород в обработанном навозе). Установлено, что с увеличением влажности исходного навоза от 90 до 96 % интенсивность распада беззольного вещества уменьшается, максимальная температура снижается с 70 до 51 °С, время экспозиции увеличивается от 8 до 14 дн. Наиболее стабильно процесс распада беззольного вещества протекает при влажности исходного навоза 92 %, максимальная температура в навозе, обработанном на механическом измельчителе и аппарате вихревого слоя, превышает 70 °С и достигается на третьи сутки. Применение для предварительной обработки навоза только механического измельчителя нецелесообразно ввиду незначительного влияния на интенсивность процесса биотермической стабилизации.

Ключевые слова: аппарат вихревого слоя, механическое измельчение, температура и влажность навоза.

P.I. Gridnev, Grand PhD in Engineering sciences

T.T. Gridneva, PhD in Engineering sciences

IMJ-filial of the Federal Agroengineering Center VIM

RF, 108823, g. Moskva, poselenie Ryazanovskoe, pos. Znamya Oktyabrya, 31

E-mail: opkb00@mail.ru

INTENSIFICATION OF BIOMETRIC MANURE STABILIZATION PROCESS

An increase in pig livestock and their housing system's changing led to the liquid manure amount increasing, both in Russia and around the world. The greatest difficulties arise at disposal manure with moisture content of 92–97 %. All of well-known technologies of liquid