

ЗООТЕХНИЯ

УДК 636.4.082.4

doi: 10.30766/2072-9081.2018.65.4.98-102

Полиморфизм SNP rs80867243, rs81379421 и rs81236069 у свиней материнских пород*

Л.В. Гетманцева¹, М.А. Колосова², С.Ю. Бакоев¹, М.С. Форнара¹,
Н.В. Бардуков¹, Т.В. Карпушкина¹

¹ФГБНУ ФНЦ Всероссийский институт животноводства им. Л.К. Эрнста,
пос. Дубровицы, Московская область, Российской Федерации,

²ФГБОУ ВО «Донской государственный аграрный университет», пос. Персиановский,
Ростовская область, Южный федеральный округ, Российской Федерации

*Полигеномные ассоциативные исследования (GWAS) находят все большее применение при изучении генетической архитектуры репродуктивных признаков свиней. По результатам этих исследований установлено 47 SNPs, связанных с многоплодием свиноматок европейских пород (крупная белая, йоркишир, ландрас), которые представлены в базе данных PigQTLdb. Цель данной работы – разработать методику тестирования SNPs rs80867243 (SSC5), rs81379421 (SSC3), rs81236069 (SSC10) методом ПЦР-ПДРФ и оценить их полиморфизм у свиней материнских пород, разводимых в условиях племенных хозяйств РФ. Исследования проводили на свиньях породы крупная белая ($n = 60$ гол.) и ландрас ($n = 63$ гол.). Позиции SNP определяли по последней сборке генома свиней (*Sus scrofa* 11.1) в базе данных Ensembl. Олигонуклеотидные праймеры и эндонуклеазы рестрикции для идентификации SNP методом ПЦР-ПДРФ подбирали с помощью программ Primer-BLAST и NEBCutter V2.0 соответственно. По результатам молекулярно-генетических исследований установлено, что свиньи породы ландрас полиморфны по всем исследуемым SNPs. Частоты аллелей A и G по SNPs rs80867243, rs81379421 и rs81236069 составили 0,81 и 0,19; 0,43 и 0,57; 0,21 и 0,79 соответственно. У свиней крупной белой породы установлено наличие полиморфизма по SNPs rs81379421 и rs81236069, частоты аллелей A и G составили 0,07 и 0,93; 0,30 и 0,70 соответственно. В работе представлены методики тестирования SNPs rs80867243, rs81379421 и rs81236069, которые могут быть использованы в дальнейших исследованиях на поголовье свиней, разводимых в племенных хозяйствах РФ, а также при изучении ассоциативных связей SNPs с воспроизводительными качествами.*

Ключевые слова: крупная белая порода свиней, ландрас, SNP, ПЦР-ПДРФ, частота аллелей, частота генотипов

Новый этап исследований молекулярно-генетических основ количественных признаков связан с появлением метода GWAS (Genome-Wide Association Studies, полигеномные ассоциативные исследования) и развитием технологии NGS (Next-generation sequencing, секвенирование нового поколения). Высокая плотность SNP-маркеров на чипе, используемом в GWAS, позволяет точно идентифицировать связь между локусами, ограниченными SNP-маркерами и признаками, учитывая неравновесие по сцеплению, локализовать целевые гены [1, 2]. За последние годы GWAS успешно применяют в изучении домашних животных, в том числе крупного рогатого скота, свиней, лошадей, собак, овец и кур [3, 4, 5, 6, 7, 8].

Репродуктивные признаки являются одними из ключевых показателей рентабельности отрасли животноводства [9]. В свиноводстве одним из основных признаков воспроизводительной продуктивности является много-

плодие (количество живых поросят при рождении). Согласно данным базы PigQTLdb (Pig Quantitative Trait Locus Database), на сегодняшний день определено свыше 100 QTL-локусов, связанных с количеством живых поросят при рождении, из них 47 SNPs идентифицированы по результатам GWAS. Однако проведенные исследования показали, что различия генетической архитектуры, детерминированные породными особенностями свиней, влияют на характер связей локусов с признаками продуктивности [10, 11, 12, 13, 14].

В работе Bergfelder-Drüing et al. [15] была установлена генетическая дифференциация между свиньями крупной белой породы и ландрас. Предварительные расчеты на основе графиков многомерного масштабирования (MDS) индивидуальной матрицы (IBS) показали наличие генетической дистанции между породами. Для проведения анализа поголовье свиней было распределено на две группы с учетом породы, а также на внутрипородные

*Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ 18-016-00050-а.

клUSTERы с учетом племенного хозяйства. В результате были установлены 17 SNPs, связанных с многоплодием свиноматок, из них 13 SNPs установлено у свиней крупной белой и 4 SNPs – породы ландрас. У свиней крупной белой породы SNPs были определены на хромосомах SSC3 (rs81379421), SSC5 (rs80867243, rs81383147, rs81279319), SSC9 (rs81417393), SSC10 (rs80978601, rs81421148, rs81255997, rs81302230, rs81236069), SSC11 (rs81242222, rs81430147) и SS18 (rs81469701) [15].

Цель исследований – разработать методику тестирования SNP rs80867243 (SSC5), rs81379421 (SSC3), rs81236069 (SSC10) методом ПЦР-ПДРФ и оценить их полиморфизм у свиней материнских пород, разводимых в условиях племенных хозяйств РФ.

Материал и методы. Исследования проводили на свиньях породы крупная белая (КБ) ($n = 60$ гол.) и ландрас (Л) ($n = 63$ гол.). Для проведения молекулярно-генетических исследований у свиней были взяты образцы ткани (вышибы). Геномную ДНК выделяли с использованием набора реагентов DIAAtom

TMDNA Prep (IsoGene Lab., Москва) согласно прописи, предоставленной изготовителем.

Позиции SNP определяли по последней сборке генома свиньи (*Sus scrofa* 11.1) в базе данных Ensembl. Специфические олигонуклеотидные праймеры и эндонуклеазы рестрикции для идентификации SNP методом ПЦР-ПДРФ подбирали с помощью программ Primer-BLAST и NEBcutter V2.0 соответственно. По результатам молекулярно-генетических исследований рассчитывали частоту аллелей и генотипов.

Результаты и их обсуждение. Согласно базе данных, изучаемый SNP rs80867243 расположен на хромосоме SSC5 в позиции 87337099 и характеризуется нуклеотидной заменой A/G. Для проведения ПЦР были подобраны праймеры №1, представленные в таблице 1. Длина амплифицированного фрагмента составила 622 п.н. Полиморфный нуклеотид определяли с использованием эндонуклеазы рестрикции *Tru9I*, которая при наличии нуклеотида G расщепляет амплифицированный участок на два фрагмента длиной 422- и 180 п.н., а в присутствии нуклеотида A на фрагменты длиной 216-, 206- и 180 п.н.

Таблица 1

Олигонуклеотидные праймеры

SNP	Праймеры	t отжига	ПЦР фрагмент, п.н.
rs80867243	5'- TTCCTTGAAACCGATGGGGG -3' 3'- AACGTCTGCTGTGTTAGGGC -5'	60	622
rs81379421	5'- TTCCGTTCACGTGCGAGTT -3' 3'- GTGTGATAAGGGCCTCAGAC -5'	58	408
rs81236069	5'- TCTGTGTCCTTACACGGGGT -3' 3'- TCCCAATGCCAACCTTATCC -5'	60	457

Методом ПЦР-ПДРФ определяли полиморфизм SNP rs80867243, обусловленный тремя генотипами AA (фрагменты 216-, 206- и 180 п.н.), GG (фрагменты 422- и 180 п.н.) и AG (фрагменты 422-, 216-, 206- и 180 п.н.).

Изучаемый SNP rs81379421 расположен на хромосоме SSC3 в позиции 27307613, полиморфизм которого обусловлен нуклеотидной заменой A/G. Для постановки ПЦР были подобраны праймеры №2 (табл. 1). Длина амплифицированного фрагмента составила 408 п.н. Для определения полиморфного нуклеотида была выбрана эндонуклеаза рестрикции *BstHII*, которая при наличии нуклеотида A не расщепляет амплифицированный участок, а в присутствии нуклеотида G образует два фрагмента длиной 240- и 168 п.н. Соответственно

методом ПЦР-ПДРФ был определен полиморфизм SNP rs80867243, обусловленный тремя генотипами AA (фрагмент 408 п.н.), GG (фрагменты 240- и 168 п.н.) и AG (фрагменты 408- 240- и 168 п.н.).

В результате исследований установлен SNP rs81236069, который расположен на хромосоме SSC10 в позиции 58288430, характеризующийся нуклеотидной заменой A/G. Для проведения ПЦР были подобраны праймеры №3. Длина амплифицированного фрагмента составила 457 п.н. Для определения полиморфного нуклеотида была выбрана эндонуклеаза рестрикции *HinfI*, которая при наличии нуклеотида A расщепляет амплифицированный участок на два фрагмента длиной 261- и 196 п.н. а в присутствии нуклеотида G не рас-

щепляет. Таким образом, методом ПЦР-ПДРФ был определен полиморфизм SNP rs81236069, обусловленный тремя генотипами AA (фрагменты 261- и 196 п.н.), GG (фрагмент 457 п.н.) и AG (фрагменты 457-, 261- и 196 п.н.).

По результатам молекулярно-генетического анализа свиньи крупной белой породы

по SNP rs80867243 были не полиморфны (табл. 2). У всех исследуемых свиней крупной белой породы определен генотип AA. У свиней породы ландрас определена также высокая частота аллеля A, но при этом присутствовали все три генотипа AA, AG и GG.

Таблица 2

Частота аллелей и генотипов SNPs у свиней пород ландрас и крупная белая

SNP	Частота аллелей		Частота генотипов, %		
	A	G	AA	AG	GG
Ландрас					
rs80867243	0,81	0,19	68,25	25,40	6,35
rs81379421	0,43	0,57	20,63	44,44	34,92
rs81236069	0,21	0,79	0,00	41,27	58,73
Крупная белая					
rs80867243	1,00	0,00	100,00	0,00	0,00
rs81379421	0,07	0,93	0,00	13,33	86,67
rs81236069	0,30	0,70	3,33	53,33	43,34

В результате изучения SNP rs81379421 установлено, что во всех исследуемых группах присутствовали два аллельных варианта (A и G). У свиней породы ландрас частоты аллелей A и G были практически равны, а частоты генотипов AA, AG и GG составили 20,63; 44,44 и 34,92% соответственно. У свиней крупной белой породы частота аллеля G составила 0,93, и встречались только два генотипа AG и GG с частотами 13,33 и 86,67% соответственно.

Исследования полиморфизма SNP rs81236069 показали высокую частоту аллеля G у свиней крупной белой и ландрас. У свиней породы ландрас установлены два генотипа AG и GG с частотами 41,3 и 58,7% соответственно, у крупной белой породы определены три генотипа AA, AG и GG с частотами 3,33; 53,33 и 43,34% соответственно.

Заключение. Таким образом, проведенные исследования показали, что свиньи породы ландрас полиморфны по всем исследуемым SNPs. Относительно свиней крупной белой породы следует отметить отсутствие полиморфизма по SNP rs80867243. Разработанные методики тестирования полиморфизма SNPs позволяют провести дальнейшие исследования на большем поголовье свиней, разводимых в племенных хозяйствах РФ, и оценить ассоциативные связи SNP rs80867243 (SSC5), rs81379421 (SSC3), rs81236069 (SSC10) с воспроизводительными качествами.

Список литературы

- Stranger B., Stahl E., Raj T. Progress and Promise of Genome-Wide Association Studies for Human Complex Trait Genetics. *Genetics*. 2011. 187(2): 367-383.
- Jiang Z., Wang H., Michal J.J., Zhou X., Liu B., Woods L.C.S., Fuchs R.A. Genome Wide Sampling Sequencing for SNP Genotyping: Methods, Challenges and Future Development. *Int J Biol Sci.* 2016. 12(1):100-108. DOI:10.7150/ijbs.13498.
- Aliloo H., Pryce J. E., González-Recio O., Cocks B. G., Hayes B. J. Accounting for dominance to improve genomic evaluations of dairy cows for fertility and milk production traits. *Genet. Sel. Evol.* 2016. 48:186. DOI: 10.1186/s12711-016-0186-0.
- Guo Y., Huang Y., Hou L., Ma J., Chen C., Ai H., Huang L., Ren J. Genome-wide detection of genetic markers associated with growth and fatness in four pig populations using four approaches. *Genetics, Selection, Evolution : GSE.* 2017. 49:21. DOI: 10.1186/s12711-017-0295-4.
- Sell-Kubiak E., Duijvesteijn N., Lopes M.S., Janss L.G., Knol E.F., Bijmaand P., Mulder H.A. Genome-wide association study reveals novel loci for litter size and its variability in a Large White pig population. *BMC Genomics.* 2015. 16:1049. DOI: 10.1186/s12864-015-2273-y.
- Wu P., Yang Q., Wang K., Zhou J., Ma J., Tang Q., Jin L., Xiao W., Jiang A., Jiang Y., Zhu L., Li X., Tang G. Single step genome-wide association studies based on genotyping by sequence data reveals novel loci for the litter traits of domestic pigs. *Genomics.* 2018. 110(3): 171-179. DOI: 10.1016/j.ygeno.2017.09.009.
- Haggman J., Uimari P. Novel harmful recessive haplotypes for reproductive traits in pigs. *J Anim Breed Genet.* 2017. 134(2):129-135. DOI: 10.1111/jbg.12240.

8. Garrick D.J. The role of genomics in pig improvement. *Animal Production Science*, 2017. 57: 2360-2365. DOI: 10.1071/AN17277.
9. Клименко А.И., Колосов А.Ю., Леонова М.А., Гетманцева Л.В., Бакоев С.Ю., Радюк А.В., Романец Е.А. Породная дифференциация желательных генотипов гена PRLR у свиней // Сибирский вестник сельскохозяйственной науки. 2017. Т. 47. № 4 (257). С. 32-37.
10. Knol E.F., Nielsen B., Knap P.W. Genomic selection in commercial pig breeding. *Animal Frontiers*. 2016. 6(1): 15-22. DOI: 10.2527/af.2016-0003.
11. He L.C., Li P.H., Ma X., Sui S.P., Gao S., Kim S.W., Gu Y.Q., Huang Y., Ding N.S., Huang R.H. Identification of new single nucleotide polymorphisms affecting total number born and candidate genes related to ovulation rate in Chinese Erhualian pigs. *Animal Genetics*. 2016. 48: 48-54. DOI: 10.1111/age.12492.
12. Ma X., Li P.H., Zhu M. X., He L.C., Sui S.P., Gao S., Su G.S., Ding N.S., Huang Y., Lu Z.Q., Huang X.G., Huang R.H. Genome-wide association analysis reveals genomic regions on Chromosome 13 affecting litter size and candidate genes for uterine horn length in Erhualian pigs. *Animal*. 2018. 14: 1-9.
13. Samorè A.B., Fontanesi L. Genomic selection in pigs: state of the art and perspectives. *Italian Journal of Animal Science*. 2016. 15(2): 211-232. DOI: 10.1080/1828051X.2016.1172034.
14. Zhang T., Wang L-G., Shi H-B., Yan H., Zhang L-C., Liu X., Pu L., Liang J., Zhang Y-B., Zhao K-B. Heritabilities and genetic and phenotypic correlations of litter uniformity and litter size in Large White sows. *J. Integr. Agric.* 15. 2016. 848-854. DOI: 10.1016/S2095-3119(15)61155-8.
15. Bergfelder-Drüing S., Grosse-Brinkhaus C., Lind B., Erbe M., Schellander K., Simianer H., Tholen E. A Genome-Wide Association Study in Large White and Landrace Pig Populations for Number Piglets Born Alive. *PLoS ONE*. 2015. 10(3). e0117468. DOI: 10.1371/journal.pone.0117468.

Сведения об авторах:

Гетманцева Любовь Владимировна¹, кандидат с.-х. наук, ведущий научный сотрудник, e-mail: ilonaluba@mail.ru, ORCID ID <https://orcid.org/0000-0003-1868-3148>,
 Колосова Мария Анатольевна², кандидат с.-х. наук, старший научный сотрудник, e-mail: m.leonovaa@mail.ru, ORCID ID 0000-0003-2979-7108,
 Бакоев Сирождин Юсуфович¹, кандидат биол. наук, ведущий научный сотрудник, e-mail: siroj1@yandex.ru, ORCID ID 0000-0002-0324-3580,
 Форнара Маргарет Сережевна¹, кандидат биол. наук, старший научный сотрудник, e-mail: margaretfornara@gmail.com, ORCID ID 0000-0002-8844-177X,
 Бардуков Николай Владимирович¹, младший научный сотрудник, e-mail: bardukv-nikolajj@mail.ru, ORCID ID 0000-0002-5497-2409,
 Карпушкина Татьяна Вячеславовна¹, научный сотрудник, e-mail:tati.kriz@gmail.com, ORCID ID 0000-0002-4498-6241

¹ФГБНУ ФНЦ Всероссийский институт животноводства им. Л.К. Эрнста, д. 60, пос. Дубровицы, Городской округ Подольск, Московская область, Российская Федерация, 142132, e-mail: priemnaya-vij@mail.ru,

²ФГБОУ ВО "Донской государственный аграрный университет", ул. Кривошлыкова, д. 24, пос. Персиановский, Октябрьский (c) район, Ростовская область, Южный федеральный округ, Российская Федерация, 346493, e-mail: dongau@mail.ru

Agrarnaya nauka Evro-Severo-Vostoka, 2018. Vol. 65, no. 4, pp. 98-102.

doi: 10.30766/2072-9081.2018.65.4.98-102

SNP polymorphism rs80867243, rs81379421 and rs81236069 in pigs of maternal breeds

**L.V. Getmantseva¹, M.A. Kolosova², S.Yu. Bakoev¹, M.S. Fornara¹,
 N.V. Bardukov¹, T.B. Karpushkina¹**

¹Federal Science Center for Animal Husbandry named after Academy Member L.K. Ernst, Dubrovitsy settlement, Moscow region, Russian Federation,

²Federal State Budgetary Educational Institution of Higher Education DON STATE AGRARIAN UNIVERSITY, Persianovsky settlement, Rostov region, Southern Federal District, Russian Federation

Genome-Wide Association Studies (GWAS) are increasingly used in the investigation of the genetic architecture of the reproductive traits of pigs. Based on the results of these studies, 47 SNPs associated with the Total number born alive (NBA) of European breeds (Large White, Yorkshire, Landrace) were identified, which are presented in the PigQTLdb. The aim of this work is to develop a procedure for testing SNPs rs80867243 (SSC5), rs81379421 (SSC3), rs81236069 (SSC10) by PCR-RFLP and to evaluate their polymorphism in maternal pigs bred in the conditions of the Russian breeding industry. The research was carried out in pigs of Large White breed (n = 60) and Landrace (n = 63). SNP positions were determined from the last assembly of the pig genome (*Sus scrofa* 11.1) in the Ensembl database. The primers and restriction endonucleases for identification of SNP by PCR-RFLP were selected using Primer-BLAST and NEBcutter V2.0 programs, respectively. According to the results of

molecular genetic studies, Landrace pigs are polymorphic in all investigated SNPs. The allele frequencies A and G for SNPs rs80867243, rs81379421 and rs81236069 were 0.81 and 0.19; 0.43 and 0.57; 0.21 and 0.79, respectively. In Large White pigs polymorphism was established for SNPs rs81379421 and rs81236069, the frequencies of alleles A and G were 0.07 and 0.93; 0.30 and 0.70, respectively. The methods of testing SNPs rs80867243, rs81379421 and rs81236069, which can be used in further studies on the pigs bred in breeding farms of the Russian Federation as well as in the study of associative connections of SNPs with reproductive traits are presented in the article.

Key words: *Large White pig breed, Landrace, SNP, PCR-RFLP, allele frequency, genotype frequency*

Reference

1. Stranger B., Stahl E., Raj T. Progress and Promise of Genome-Wide Association Studies for Human Complex Trait Genetics. *Genetics*. 2011. 187(2): 367-383.
2. Jiang Z., Wang H., Michal J.J., Zhou X., Liu B., Woods L.C.S., Fuchs R.A. Genome Wide Sampling Sequencing for SNP Genotyping: Methods, Challenges and Future Development. *Int J Biol Sci*. 2016. 12(1):100-108. DOI: 10.7150/ijbs.13498.
3. Aliloo H., Pryce J. E., González-Recio O., Cocks B. G., Hayes B. J. Accounting for dominance to improve genomic evaluations of dairy cows for fertility and milk production traits. *Genet. Sel. Evol.* 2016. 48:186. DOI: 10.1186/s12711-016-0186-0.
4. Guo Y., Huang Y., Hou L., Ma J., Chen C., Ai H., Huang L., Ren J. Genome-wide detection of genetic markers associated with growth and fatness in four pig populations using four approaches. *Genetics, Selection, Evolution: GSE*. 2017. 49:21. DOI: 10.1186/s12711-017-0295-4.
5. Sell-Kubiak E., Duijvesteijn N., Lopes M.S., Janss L.L.G., Knol E.F., Bijmaand P., Mulder H.A. Genome-wide association study reveals novel loci for litter size and its variability in a Large White pig population. *BMC Genomics*. 2015. 16:1049. DOI: 10.1186/s12864-015-2273-y.
6. Wu P., Yang Q., Wang K., Zhou J., Ma J., Tang Q., Jin L., Xiao W., Jiang A., Jiang Y., Zhu L., Li X., Tang G. Single step genome-wide association studies based on genotyping by sequence data reveals novel loci for the litter traits of domestic pigs. *Genomics*. 2018. 110(3): 171-179. DOI: 10.1016/j.ygeno.2017.09.009.
7. Haggman J., Uimari P. Novel harmful recessive haplotypes for reproductive traits in pigs. *J Anim Breed Genet*. 2017. 134(2):129-135. DOI: 10.1111/jbg.12240.
8. Garrick D.J. The role of genomics in pig improvement. *Animal Production Science*, 2017. 57: 2360 – 2365. DOI: 10.1071/AN17277.
9. Klimenko A.I., Kolosov A.Yu., Leonova M.A., Getmantseva L.V., Bakoev S.Yu., Radyuk A.V., Romanets E.A. *Porodnaya differentsiatsiya zhelat'nykh genotipov gena PRLR u sviney*. [Differences in desired genotypes of the PRLR gene in pigs of different breeds]. *Sibirskiy vestnik sel'skokhozyaystvennoy nauki*. 2017. Vol. 47, no. 4 (257). pp. 32-37.
10. Knol E.F., Nielsen B., Knap P.W. Genomic selection in commercial pig breeding. *Animal Frontiers*. 2016. 6(1): 15-22. DOI: 10.2527/af.2016-0003.
11. He L.C., Li P.H., Ma X., Sui S.P., Gao S., Kim S.W., Gu Y.Q., Huang Y., Ding N.S., Huang R.H. Identification of new single nucleotide polymorphisms affecting total number born and candidate genes related to ovulation rate in Chinese Erhualian pigs. *Animal Genetics*. 2016. 48: 48–54. DOI: 10.1111/age.12492.
12. Ma X., Li P.H., Zhu M. X., He L.C., Sui S.P., Gao S., Su G.S., Ding N.S., Huang Y., Lu Z.Q., Huang X.G., Huang R.H. Genome-wide association analysis reveals genomic regions on Chromosome 13 affecting litter size and candidate genes for uterine horn length in Erhualian pigs. *Animal*. 2018. 14: 1- 9.
13. Samorè A.B., Fontanesi L. Genomic selection in pigs: state of the art and perspectives. *Italian Journal of Animal Science*. 2016. 15(2): 211-232. DOI: 10.1080/1828051X.2016.1172034.
14. Zhang T., Wang L-G., Shi H-B., Yan H., Zhang L-C., Liu X., Pu L., Liang J., Zhang Y-B., Zhao K-B. Heritabilities and genetic and phenotypic correlations of litter uniformity and litter size in Large White sows. *J. Integr. Agric.* 15. 2016. 848-854. DOI: 10.1016/S2095-3119(15)61155-8.
15. Bergfelder-Drüing S., Grosse-Brinkhaus C., Lind B., Erbe M., Schellander K., Simianer H., Tholen E. A Genome-Wide Association Study in Large White and Landrace Pig Populations for Number Piglets Born Alive. *PLoS ONE*. 2015. 10(3). e0117468. DOI: 10.1371/journal.pone.0117468.

Information about the authors:

L.V. Getmantseva¹, PhD in Agriculture, Leading Researcher,
M.A. Kolosova², PhD in Agriculture, Senior Researcher,
S.Yu. Bakoev¹, PhD in Biology, Leading Researcher,
M.S. Fornara¹, PhD in Biology, Senior Researcher,
N.V. Bardukov¹, junior researcher, T.B. Karpushkina¹, researcher

¹Federal Science Center for Animal Husbandry named after Academy Member L.K. Ernst, 60, Dubrovitsy settlement, Podolsk City district, Moscow region, Russian Federation, 142132, e-mail: priemnaya-vij@mail.ru,

²Federal State Budgetary Educational Institution of Higher Education DON STATE AGRARIAN UNIVERSITY, Krivoshlykova street, 24, Persianovsky settlement, Oktyabrsky (C) district, Rostov region, Southern Federal District, Russian Federation, 346493, e-mail: dongau@mail.ru