

Анализ уровня экспрессии генов *BMPR1B* и *SPP1* у кур

О. С. Романенкова, О. В. Алейникова, О. В. Костюнина✉

Федеральный исследовательский центр животноводства – ВИЖ им. Л. К. Эрнста,
п. Дубровицы, Московская область, Россия

✉E-mail: kostolan@yandex.ru

Аннотация. Экономическая эффективность птицеводства во многом зависит от качества яичной скорлупы. Потери, вызванные ее повреждениями при транспортировке и хранении, обуславливают важность исследований генетических факторов, влияющих на этот признак. Ген *BMPR1B* (рецептор костного морфогенетического белка типа 1B), кодирующий серин/треониновую киназу, принадлежащую к суперсемейству TGF-β, представляет собой один из многофункциональных факторов роста, который экспрессируется в остеобластах и хондроцитах. Ген остеопонтина *SPP1* кодирует белок, участвующий в прикреплении остеокластов к минерализованному костному матриксу. Транскриптомные исследования показали, что *BMPR1B* и *SPP1* входят в число генов, участвующих в процессах минерализации яичной скорлупы. **Целью** работы было исследование экспрессии данных генов в тканях матки и перешейка кур с различными фенотипами для оценки его пригодности в качестве потенциального гена-кандидата для показателя качества скорлупы.

Научная новизна работы заключается в том, что впервые был осуществлен поиск ДНК-маркеров, ассоциированных с признаком прочности скорлупы кур с использованием анализа экспрессии генов, участвующих в образовании скорлупы яйца. **Методы.** Исследование проведено на курах породы белый хайсекс ($n = 48$). Методом кПЦР в реальном времени (qPCR) проанализирована экспрессия генов *BMPR1B* и *SPP1* в тканях матки и перешейка. Использованы референсные гены *GAPDH* и *ACTB*. Статистическая обработка данных выполнена в RStudio с применением U-критерия Манна – Уитни. **Результаты.** Анализ результатов исследований в аспекте фенотипов «плохая скорлупа» – «хорошая скорлупа» показал статистически незначимые более высокие значения экспрессии гена *BMPR1B* в группе кур с фенотипом «хорошая скорлупа». При анализе экспрессии гена *SPP1* в тканях матки и перешейка кур контрольной группы и кур с фенотипом «тонкая скорлупа» показал более низкий уровень экспрессии в образцах матки в группе кур с тонкой скорлупой. Фактор возраста не оказывал влияния на уровень относительной экспрессии обоих генов. При этом была выявлена зависимость уровней экспрессии обоих исследуемых генов (*BMPR1B* и *SPP1*) в тканях матки от стадии овуляторного цикла.

Ключевые слова: куры, яйцо, скорлупа, качество, тест-система, экспрессия

Благодарности. Работа выполнена при финансовой поддержке Минобрнауки России, тема FGGN-2024-0015, № 124020200114-7.

Для цитирования: Романенкова О. С., Алейникова О. В., Костюнина О. В. Анализ уровня экспрессии генов *BMPR1B* и *SPP1* у кур // Аграрный вестник Урала. 2025. Т. 25, № 09. С. 1406–1419. <https://doi.org/10.32417/1997-4868-2025-25-09-1406-1419>.

Дата поступления статьи: 02.06.2025, **дата рецензирования:** 18.06.2025, **дата принятия:** 02.07.2025.

Analysis of the expression level of *BMPR1B* and *SPP1* genes in chickens

O. S. Romanenkova, O. V. Aleynikova, O. V. Kostyunina✉

L. K. Ernst Federal Research Center for Animal Husbandry, Dubrovitsy, Moscow region, Russia

✉E-mail: kostolan@yandex.ru

Abstract. The economic efficiency of poultry farming largely depends on the quality of the eggshell. Losses caused by damage during transportation and storage determine the importance of studying the genetic factors affecting this trait. The *BMPR1B* gene (bone morphogenetic protein receptor type 1B), encoding a serine/threonine kinase belonging to the TGF- β superfamily, is one of the multifunctional growth factors expressed in osteoblasts and chondrocytes. The osteopontin gene *SPP1* encodes a protein involved in the attachment of osteoclasts to the mineralized bone matrix. Transcriptomic studies have shown that *BMPR1B* and *SPP1* are among the genes involved in eggshell mineralization processes. **The purpose** of the work was to study the expression of these genes in the tissues of the uterus and isthmus of hens with different phenotypes to assess its suitability as a potential candidate gene for the shell quality indicator. **The scientific novelty** of the study is that for the first time a search was carried out for DNA markers associated with the trait of eggshell strength in chickens using an analysis of the expression of genes involved in the formation of the eggshell. **Methods.** The study was conducted on White Highsex hens ($n = 48$). The expression of the *BMPR1B* and *SPP1* genes in the tissues of the uterus and isthmus was analyzed using real-time qPCR (qPCR). The reference genes *GAPDH* and *ACTB* were used. Statistical data processing was performed in RStudio using the Mann – Whitney U-test. **Results.** Analysis of the research results in terms of the “bad shell” – “good shell” phenotypes showed statistically insignificant higher values of *BMPR1B* gene expression in the group of hens with the “good shell” phenotype. When analyzing the expression of the *SPP1* gene in the tissues of the uterus and isthmus of the control group of chickens and chickens with the “thin shell” phenotype, a lower expression level was shown in the uterus samples in the group of chickens with a thin shell. The age factor did not affect the level of relative expression of both genes. At the same time, a dependence of the expression levels of both studied genes (*BMPR1B* and *SPP1*) in the uterine tissues on the stage of the ovulatory cycle was revealed.

Keywords: hens, egg, shell, quality, test system, expression

Acknowledgments. The study was carried out with the financial support of the Ministry of Education and Science of the Russian Federation, topic FGGN-2024-0015, No. 124020200114-7.

For citation: Romanenkova O. S., Aleynikova O. V., Kostyunina O. V. Analysis of the expression level of *BMPR1B* and *SPP1* genes in chickens. *Agrarian Bulletin of the Urals*. 2025; 25(09): 1406–1419. <https://doi.org/10.32417/1997-4868-2025-25-09-1406-1419>. (In Russ.)

Date of paper submission: 02.06.2025, **date of review:** 18.06.2025, **date of acceptance:** 02.07.2025.

Постановка проблемы (Introduction)

Исследование детерминант, определяющих прочность и целостность яичной скорлупы, представляет собой направление первостепенной важности для современной яичной индустрии, стремящейся к производству неизменно высококачественной продукции, отвечающей запросам потребителей и требованиям безопасности. Нарушения в формировании скорлупы могут приводить к существенным экономическим потерям в яичной индустрии [1]. Эти потери могут возникать на различных этапах – от сбора яиц и их транспортировки до инкубации, где дефектная скорлупа значительно снижает выводимость цыплят, нанося ущерб воспроизводству поголовья. Яичная скорлупа – это уникальный биокерамический материал, выполняющий множество критически важных функций,

обеспечивая сохранность и полноценность яйца. Прежде всего она служит надежным физическим барьером, эффективно защищающим нежное содержимое яйца – желток и белок – от проникновения широкого спектра патогенных микроорганизмов, таких как бактерии (например, *Salmonella* spp.) и грибы, способных вызвать порчу продукта и представлять опасность для здоровья потребителя. Кроме того, скорлупа защищает от механических повреждений, неизбежных при автоматизированном сборе, сортировке, упаковке и транспортировке яиц [2]. Наряду с этой пассивной защитной ролью скорлупа активно участвует в метаболических процессах, являясь основным и легкодоступным источником кальция для формирования и минерализации скелета развивающегося эмбриона птицы в процессе инкубации. Ее пористая структура, включа-

юющая тысячи микроскопических пор, обеспечивает необходимый газообмен (поступление кислорода и удаление углекислого газа), что критически важно для дыхания и нормального развития зародыша. Таким образом, качество яичной скорлупы напрямую влияет не только на товарный вид, пищевую безопасность и сохранность яйца как продукта питания, но и на репродуктивный потенциал птицы, определяя успешность инкубации и жизнеспособность потомства.

Процесс формирования качественных характеристик скорлупы у несушек является сложным и многогранным и находится под влиянием целого комплекса тесно взаимосвязанных эндогенных и экзогенных факторов. Ключевые детерминанты включают особенности рациона питания, такие как сбалансированность по макро- и микронутриентам. Особое значение имеют адекватное поступление и соотношение кальция и фосфора, доступность витамина D3, необходимого для абсорбции кальция в кишечнике и его мобилизации из костной ткани, а также наличие таких микроэлементов, как марганец, цинк и медь, участвующих в ферментативных процессах, связанных с формированием органического матрикса скорлупы. Не менее важна генетическая предрасположенность конкретного кросса или породы птицы, определяющая ее врожденный потенциал к формированию прочной и однородной скорлупы. Это подтверждается наблюдаемыми различиями в качестве скорлупы между разными линиями кур, а также оценками наследуемости таких признаков, как толщина, прочность на разлом и упругая деформация скорлупы [3; 4]. Существенное влияние на процессы кальцификации оказывают параметры окружающей среды, включая температурный режим (тепловой стресс является одним из наиболее значимых негативных факторов, приводящих к снижению потребления корма, нарушению кислотно-щелочного баланса и, как следствие, к истончению скорлупы), относительная влажность воздуха, его чистота (концентрация аммиака и углекислого газа) и уровень освещенности в птичнике, а также световой режим. Технологии содержания птицы, такие как тип используемой системы (клеточная, напольная, вольерная), плотность посадки птицы, которая может влиять на уровень стресса и доступ к корму, и общий уровень зоогигиенического менеджмента, также вносят свой существенный вклад. Среди первостепенных причин, приводящих к появлению разнообразных дефектов яичной скорлупы, – от общего истончения и повышенной хрупкости до появления специфических дефектов, таких как трещины (продольные, поперечные, звездчатые), мраморность, шероховатость, известковые наросты и деформация формы яйца, – выделяют как генетические особенности самой птицы, кодирующие эффективность усвоения и транс-

порта ионов кальция, синтез и секрецию белков органического матрикса скорлупы, а также общее функционирование репродуктивной системы [5], так и разнообразные внешние стрессовые факторы окружающей среды [6]. Эти внешние воздействия, будь то резкие перепады температуры, нарушения светового режима, высокий уровень шума, социальный стресс в группе или неадекватные условия содержания, способны оказывать прямое негативное влияние на физиологическое состояние птицы, нарушая ее гормональный баланс (например, повышая уровень кортикостерона) и ключевые метаболические процессы. В частности, они негативно воздействуют на функционирование матки (скорлуповой железы) – специализированного отдела яйцевода, ответственного за секрецию компонентов скорлупы (органического матрикса и ионов кальция) и ее последующую минерализацию в течение нескольких часов. Нарушения в этом тонко настроенном и энергозатратном процессе приводят к сбоям в отложении карбоната кальция в форме кальцита, формированию аномальной кристаллической структуры, изменению соотношения органической и неорганической фаз и, как следствие, к появлению видимых внешних и скрытых структурных дефектов конечного продукта, снижающих его потребительскую ценность и технологические свойства.

В свете многофакторной природы качества яичной скорлупы современные исследования активно направлены на идентификацию молекулярно-генетических маркеров, ассоциированных с этим важным хозяйственно полезным признаком. Поиск различий между транскриптомными профилями экспрессии тканей репродуктивного тракта, в частности матки, у кур с различным качеством скорлупы выявил ряд дифференциально экспрессирующихся генов, среди которых можно отметить гены *BMPRI* и *SPP1* [7–9]. Продукты их экспрессии вовлечены в фундаментальные биологические процессы, потенциально связанные с морфогенезом тканей и биоминерализацией, что является отправной точкой для более глубокого изучения их роли в контексте формирования яичной скорлупы. Показано, что мутация g668.A > T (№ U01844, NCBI) гена *SPP1* была ассоциирована с качеством скорлупы [10], что указывает на функциональную значимость данного полиморфизма или тесно сцепленных с ним участков генома. Для понимания потенциальной роли гена *BMPRI* в контексте формирования яичной скорлупы необходимо рассмотреть более широкую группу белков, к которой он принадлежит. Костные морфогенетические белки (BMP) представляют собой обширную группу факторов роста и дифференцировки, принадлежащих к суперсемейству трансформирующих факторов роста- β [11]. Изначально эти белки были открыты и охарактеризованы благодаря их уникальной способности индуцировать

эктопическое формирование костной и хрящевой ткани при имплантации в мышечную ткань. Однако последующие многочисленные исследования показали, что BMPs являются многофункциональными регуляторами широкого спектра клеточных процессов, включая пролиферацию, дифференцировку, адгезию, миграцию, апоптоз и морфогенез различных тканей и органов на всех этапах онтогенеза – от раннего эмбрионального развития до взрослого состояния. Суперсемейство TGF- β , к которому относятся BMPs, является одной из наиболее крупных и эволюционно консервативных групп сигнальных молекул у многоклеточных организмов, играющей фундаментальную роль не только в эмбриональном развитии и органогенезе, но и в поддержании тканевого гомеостаза, репаративных процессах при повреждении тканей, а также в регуляции иммунного ответа. Ген *BMPRI1B* (Bone Morphogenetic Protein Receptor Type 1B) – это ген, кодирующий трансмембранный рецептор серин/треониновую киназу, принадлежащую к суперсемейству рецепторов TGF- β . Рецепторы этого типа подразделяются на рецепторы типа I и типа II. *BMPRI1B* относится к рецепторам типа I и играет ключевую роль в передаче сигнала от лигандов BMP внутрь клетки. Этот процесс обычно включает формирование гетеромерного комплекса с рецептором типа II, последующее фосфорилирование рецептора типа I рецептором типа II, что активирует киназный домен рецептора типа I. Активированный *BMPRI1B*, в свою очередь, фосфорилирует внутриклеточные эффекторные белки семейства SMAD (в частности, R-SMADs: SMAD1, SMAD5, SMAD8), которые затем образуют комплекс с ко-SMAD (SMAD4) и транслицируются в ядро, где регулируют экспрессию генов-мишеней. У кур этот ген играет важную роль в нескольких биологических процессах. Во-первых, это регуляция яйценоскости, в частности, процесс фолликулогенеза и созревания ооцитов [12]. Во-вторых, это адаптация к стрессовым факторам окружающей среды, таким как гипоксия, что может быть критично для поддержания продуктивности в неоптимальных условиях [13]. В-третьих, это потенциальное прямое или опосредованное влияние на качество яичной скорлупы [14], вероятно, через модуляцию клеточной активности и дифференцировки клеток в скорлуповой железе. В-четвертых, это регуляция экспрессии других генов, вовлеченных в процессы биоминерализации, или влияние на транспорт ионов и синтез компонентов органического матрикса. А также участие общей репродуктивной физиологии кур [15], включая развитие и функционирование репродуктивных органов и регуляцию гормонального статуса.

Другим ключевым геном-кандидатом, выявленным в контексте формирования яичной скорлупы, является *SPPI* (Secreted Phosphoprotein 1), также

известный как остеоопонтин (OPN). Это высококонсервативный, кислый, секретируемый гликопротеин, относящийся к семейству SIBLING (Small Integrin-Binding Ligand, N-linked Glycoprotein). Он характеризуется значительной степенью посттрансляционных модификаций, включая обширное фосфорилирование и гликозилирование, что обуславливает его многофункциональность и способность взаимодействовать с различными молекулярными партнерами. Наличие в его первичной структуре RGD-последовательности (аргинин-глицин-аспартат) обеспечивает его взаимодействие с различными интегриновыми рецепторами на поверхности клеток, а высокое содержание кислых аминокислотных остатков (аспарагиновой и глутаминовой кислот), а также фосфатных групп способствует эффективному связыванию ионов кальция и взаимодействию с гидроксиапатитом. *SPPI*/остеоопонтин играет важную и часто плеiotропную роль в различных физиологических и патологических процессах у различных видов животных, включая человека. Он вовлечен в процессы биоминерализации костной ткани и зубов (где он может как способствовать минерализации, так и ингибировать ее в зависимости от контекста), иммунный ответ (хемотаксис, активация макрофагов и Т-клеток), клеточную адгезию, миграцию, выживание клеток и ремоделирование тканей при заживлении ран и воспалениях. У кур (*Gallus Gallus*) современные транскриптомные и геномные подходы всесторонне раскрывают ключевую роль этого гена в специфических аспектах их биологии, особенно в контексте функционирования репродуктивной системы и формирования яйца. Особое значение для настоящего исследования имеет тот факт, что ген *SPPI* демонстрирует исключительно высокий уровень экспрессии в железистой части яйцевода (матке) кур-несушек – ткани, критически важной для кальцификации и формирования скорлупы яиц. Этот отдел репродуктивного тракта является местом, где происходят интенсивная кальцификация и окончательное формирование всех слоев яичной скорлупы – процесс, требующий точной пространственно-временной координации секреции сложного органического матрикса и массивного отложения минеральных компонентов, преимущественно карбоната кальция. Согласно транскриптомным исследованиям, *SPPI* входит в число генов, экспрессия которых значительно обогащена в матке кур во время формирования скорлупы, и он идентифицирован как ключевой компонент метаболических путей, связанных с метаболизмом фосфатсодержащих соединений, транспортом неорганических анионов (включая карбонатные и фосфатные ионы, необходимые для минерализации) и в целом с процессами минерализации яичной скорлупы [14]. Эти данные убедительно указывают на его активное участие в

регуляции поставки и доступности минеральных предшественников, а также в модуляции процессов кристаллизации. Сравнительные исследования транскриптомных профилей и протеомного состава матки между породами или линиями кур с различным качеством яичной скорлупы последовательно подчеркивают участие *SPPI* в определении толщины скорлупы, плотности и морфологии мамиллярного слоя, а также эффективной толщины, организации и ориентации кристаллов в последующих слоях скорлупы, включая основной, палисадный слой [16]. Совокупность этих результатов убедительно свидетельствует о том, что *SPPI* вносит значительный и многогранный вклад в структурную целостность и качество яичной скорлупы, вероятно, через свою роль в связывании ионов кальция. Он выступает в качестве одного из основных белков органического матрикса и модулирует процессы нуклеации кристаллов карбоната кальция, а также влияет на последующий рост, размер, форму и кристаллографическую ориентацию этих кристаллов. Таким образом, *SPPI* определяет микроструктуру, пористость и в конечном счете механические свойства скорлупы.

Учитывая вышеизложенные данные о многогранной роли *BMPR1B* в репродуктивной физиологии и его потенциальном влиянии на формирование скорлупы, а также убедительные доказательства активной вовлеченности *SPPI* в процессы биоминерализации и формирования уникальной структуры яичной скорлупы, основной целью настоящей научной работы являлось проведение анализа экспрессии генов *BMPR1B* и *SPPI* в тканях репродуктивного тракта (матке и перешейке) у групп кур с контрастными фенотипами. Ключевая задача – определение того, могут ли эти гены рассматриваться как перспективные гены-кандидаты для селекционных программ, нацеленных на генетическое улучшение параметров прочности и целостности скорлупы у сельскохозяйственной птицы, что имеет большое практическое значение для повышения эффективности и рентабельности яичного птицеводства.

Методология и методы исследования (Methods)

Исследование проводили на курах яичного кросса белый хайсекс ($n = 48$), являющегося одним из распространенных промышленных кроссов, характеризующимся высокой яичной продуктивностью, что делает его релевантным объектом для изучения факторов качества скорлупы. Птица содержалась в условиях физиологического двора ФГБНУ ФИЦ ВИЖ им. Л. К. Эрнста, обеспечивающих стандартизированные условия кормления и содержания, минимизирующие влияние неконтролируемых внешних факторов. После убоя птицы проводили вскрытие с последующим отбором образцов матки (яйцевода) и перешейка. Данные отделы репродуктивного тракта были выбраны целенаправленно,

так как матка является местом активного синтеза белков органического матрикса и интенсивной минерализации скорлупы, а перешеек также участвует в этих процессах. Ткани незамедлительно помещали на долгосрочное хранение в ультранизкотемпературный морозильник при $-86\text{ }^{\circ}\text{C}$ (Snijders Tilburg B. V., Нидерланды), что обеспечивает сохранность и предотвращает деградацию РНК.

Экстракцию тотальной РНК проводили с использованием набора «РНК-Экстран» (ООО «Синтол», Россия) в соответствии с протоколом производителя. Синтез кДНК первой цепи выполняли с использованием набора ОТ-М-MuLV-RN (ООО «Биолабмикс», Россия) в соответствии с рекомендациями производителя. В качестве матрицы использовали стандартизированное количество (2 мкг) тотальной РНК, гексамерные случайные праймеры для обеспечения обратной транскрипции всех типов РНК, присутствующих в образце, и М-MuLV-ревертазу, обладающую высокой процессивностью и термостабильностью. Реакцию проводили в термоциклере T100 (Bio-Rad, США) в общем объеме 20 мкл. После инкубации при $42\text{ }^{\circ}\text{C}$ в течение 60 минут и инактивации фермента при $70\text{ }^{\circ}\text{C}$ в течение 10 минут полученные кДНК хранили при $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ до момента использования в ПЦР.

Дизайн праймеров для генов *BMPR1B*, *SPPI*, *GAPDH* и *ACTB* производили в программе Primer3web v. 3.0 [17] с учетом следующих критических параметров для количественной ПЦР: оптимальная длина ампликона (80–150 п. н.) для эффективной амплификации в реальном времени, температура отжига ($60 \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$) для обеспечения специфичности связывания, отсутствие потенциальных димеров и вторичных структур, которые могли бы интерферировать с реакцией. В качестве референсных генов применяли *GAPDH* (глицеральдегид-3-фосфатдегидрогеназа) и *ACTB* (β -актин), часто используемые в исследованиях экспрессии генов у птиц благодаря их относительно стабильной экспрессии в различных тканях и условиях. Стабильность их экспрессии в данном конкретном эксперименте (между группами и тканями) дополнительно подтверждалась анализом сырых *Ct*-значений.

Количественную ПЦР в реальном времени (qPCR) проводили на амплификаторе QuantStudio 5 (Thermo Fisher Scientific, США), используя оптические планшеты и пленку, совместимые с прибором. Протокол амплификации включал первоначальную денатурацию при $95\text{ }^{\circ}\text{C}$ в течение 5 минут для полной денатурации кДНК и активации полимеразы, затем 40 циклов амплификации ($95\text{ }^{\circ}\text{C} - 15\text{ с}$ для денатурации, $60\text{ }^{\circ}\text{C} - 30\text{ с}$ для отжига праймеров, $72\text{ }^{\circ}\text{C} - 30\text{ с}$ для элонгации). Детекция флуоресценции проводилась на этапе элонгации. Для расчета относительной экспрессии использовали метод $2^{-\Delta\Delta Ct}$ [18], который позволяет сравнить уровень

экспрессии целевого гена в опытной группе относительно контрольной группы после нормализации по экспрессии референсных генов. Нормализацию проводили по геометрическому среднему уровню экспрессии двух референсных генов (*GAPDH*, *ACTB*) для повышения надежности. Статистическую обработку данных выполняли в среде RStudio (v. 4.2.1) с использованием пакетов tidyverse (v. 2.0.0) для манипуляции, обработки и визуализации данных, ggpubr (v. 0.6.0) для построения графиков (в частности, боксплотов) и rstatix (v. 0.7.2) для проведения непараметрической статистики. Проверку нормальности распределения данных относительно экспрессии в каждой группе осуществляли с помощью теста Шапиро – Уилка. Поскольку для некоторых групп распределение отличалось от нормального ($p < 0,05$), для сравнения независимых групп применяли *U*-критерий Манна – Уитни, являющийся непараметрическим аналогом *t*-критерия Стьюдента. Уровень значимости для всех тестов устанавливали на уровне $p < 0,05$.

Результаты (Results)

Исследуемая выборка включала три экспериментальные группы кур: молодых (27–28 недель, что соответствует началу – середине продуктивного

периода, $n = 8$), птиц с диагностированным нарушением формирования скорлупы (истончение и повышенная хрупкость, определяемые визуально и/или инструментально, $n = 15$), а также возрастных несушек (старше пика продуктивности: например, 60–70 недель) без явных патологий скорлупы ($n = 25$), которые служили одной из контрольных групп. Определение уровней экспрессии генов *BMPIB* и *SPP1* в тканях матки и перешейка кур осуществляли в мультиплексных реакциях, реализованных в формате TaqMan. Использование технологии TaqMan с флуоресцентно мечеными зондами позволяет проводить высокоспецифичное мультиплексное детектирование нескольких генов (целевых и референсных) в одной реакционной пробирке, что повышает точность и экономит реактивы. На рис. 1 показаны профили амплификации (кривые накопления флуоресцентного сигнала в зависимости от цикла ПЦР) в образцах матки и перешейка гена *BMPIB*.

Кривые имеют характерную S-образную форму, свидетельствующую об успешной амплификации всех трех генов в мультиплексном режиме.

На рис. 2 представлены кривые амплификации в образцах матки и перешейка гена *SPP1*.

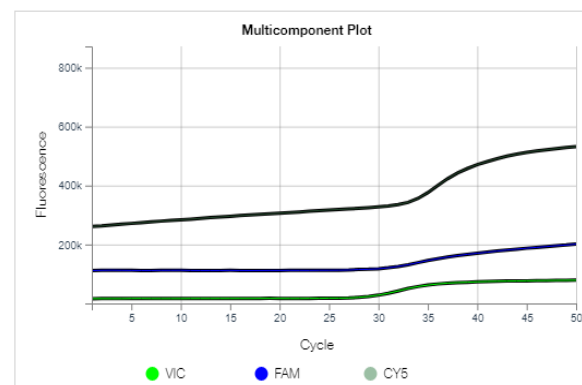
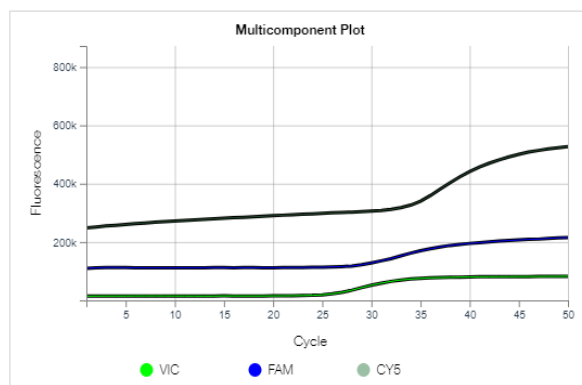


Рис. 1. Кривые амплификации кДНК тканей матки (слева) и перешейка (справа) целевого гена *BMPIB*. FAM – *ACTB*, R6G (в канале VIC) – *GAPDH*, TAMRA – *BMPIB*

Fig. 1. Amplification curves of uterine (left) and isthmus (right) tissue cDNA of the target gene *BMPIB*. FAM – *ACTB*, R6G (in the VIC channel) – *GAPDH*, TAMRA – *BMPIB*

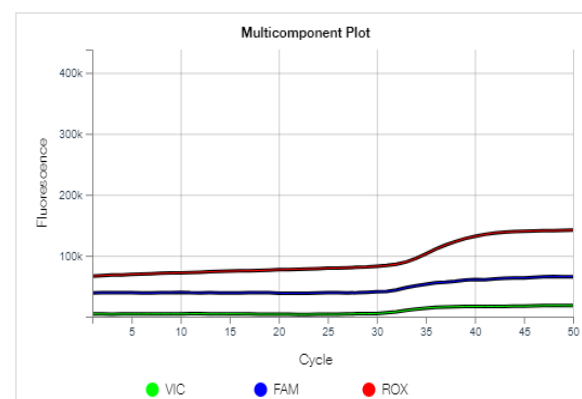
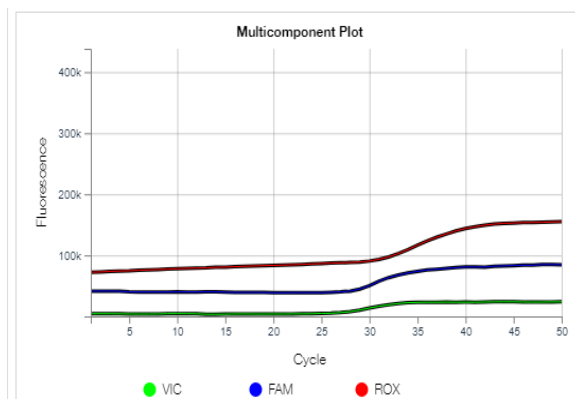


Рис. 2. Кривые амплификации кДНК тканей матки (слева) и перешейка (справа) целевого гена *SPP1*. FAM – *ACTB*, R6G (в канале VIC) – *GAPDH*, ROX – *SPP1*

Fig. 2. Amplification curves of uterine (left) and isthmus (right) tissue cDNA of the target gene *SPP1*. FAM – *ACTB*, R6G (in the VIC channel) – *GAPDH*, ROX – *SPP1*

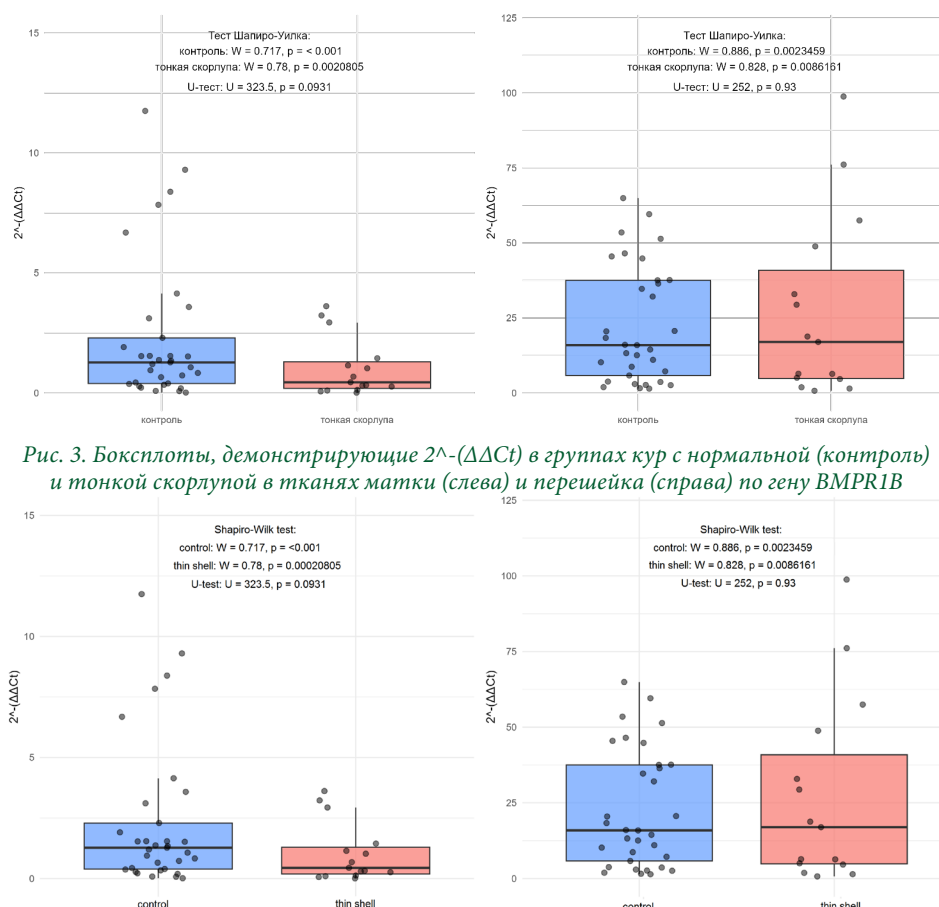


Рис. 3. Боксплоты, демонстрирующие $2^{-(\Delta\Delta Ct)}$ в группах кур с нормальной (контроль) и тонкой скорлупой в тканях матки (слева) и перешейка (справа) по гену *BMPR1B*

Fig. 3. Boxplots showing $2^{-(\Delta\Delta Ct)}$ in normal (control) and thin-shelled chicken groups in uterine (left) and isthmus (right) tissues for the *BMPR1B* gene

Аналогично рис. 1 наблюдаются типичные кривые амплификации для целевого гена *SPPI* и референсных генов.

Выполняли анализ уровней относительной экспрессии (рассчитанных по методу $2^{-(\Delta\Delta Ct)}$) в группах кур с тонкой скорлупой против всех остальных (объединенная контрольная группа, включающая молодых и возрастных кур с нормальной скорлупой). На рис. 3 продемонстрированы боксплоты значений $2^{-(\Delta\Delta Ct)}$ в сравниваемых группах по гену *BMPR1B*.

Анализ результатов исследований в аспекте фенотипов «плохая скорлупа» – «хорошая скорлупа» демонстрирует некоторое численное превосходство медианных значений экспрессии гена *BMPR1B* в группе кур с фенотипом «хорошая скорлупа», но различия статистически не значимы. Наблюдается тенденция к более низкому уровню экспрессии гена в матке кур с тонкой скорлупой ($p = 0,0931$). В целом медианный уровень экспрессии данного гена в тканях матки был ниже, чем в тканях перешейка во всех исследуемых группах.

На рис. 4 представлены результаты анализа экспрессии гена *SPPI* в тканях матки и перешейка кур контрольной группы и кур с фенотипом «тонкая скорлупа».

Относительный уровень экспрессии гена *SPPI* в тканях матки был заметно выше, чем в тканях перешейка (рис. 4). В аспекте качества скорлупы можно отметить, что в группе кур с тонкой скорлупой уровень экспрессии в образцах матки был статистически значимо ниже ($p = 0,0265$), чем в группе кур с нормальной скорлупой. В образцах перешейка, напротив, медианная экспрессия была несколько выше в образцах кур с тонкой скорлупой, однако различия недостоверны ($p > 0,05$). Мы оценили влияние фактора возраста на уровень экспрессии генов *BMPR1B* и *SPPI* в группах кур с «хорошей скорлупой» (сравнивая молодых и возрастных несушек с нормальной скорлупой).

Мы оценили влияние фактора возраста на уровень экспрессии генов *BMPR1B* и *SPPI* в группах кур с «хорошей скорлупой». На рис. 5 и 6 показаны графики с результатами анализа экспрессии в этих группах.

Как показано на рис. 5, фактор возраста не оказывал статистически значимого влияния на уровень относительной экспрессии гена *BMPR1B* как в образцах матки ($p > 0,05$), так и в образцах перешейка ($p > 0,05$). По результатам анализа уровня экспрессии гена *SPPI* также статистически значимых различий между молодыми и возрастными курами с хорошей скорлупой не обнаружено (рис. 6) ($p > 0,05$ для обеих тканей).

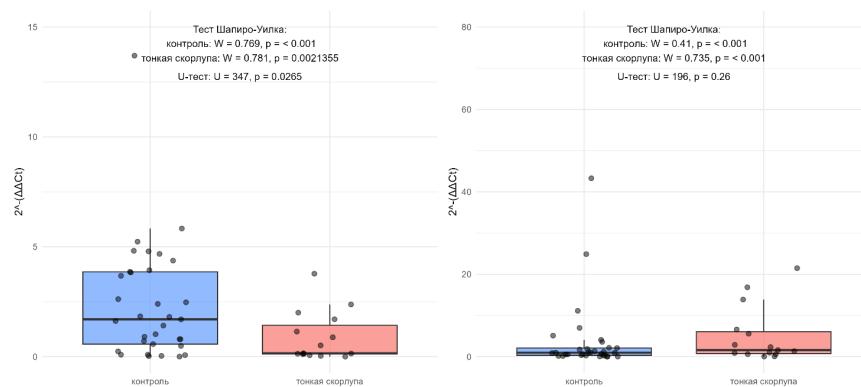


Рис. 4. Боксплоты, демонстрирующие $2^{-(\Delta\Delta C_t)}$ в группах кур с нормальной (контроль) и тонкой скорлупой в тканях матки (слева) и перешейка (справа) по гену SSP1

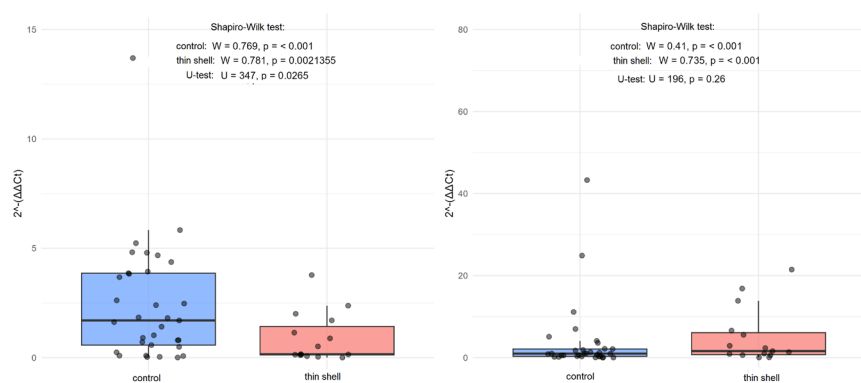


Fig. 4. Boxplots showing $2^{-(\Delta\Delta C_t)}$ in normal (control) and thin-shelled chicken groups in uterine (left) and isthmus (right) tissues for the SSP1 gene

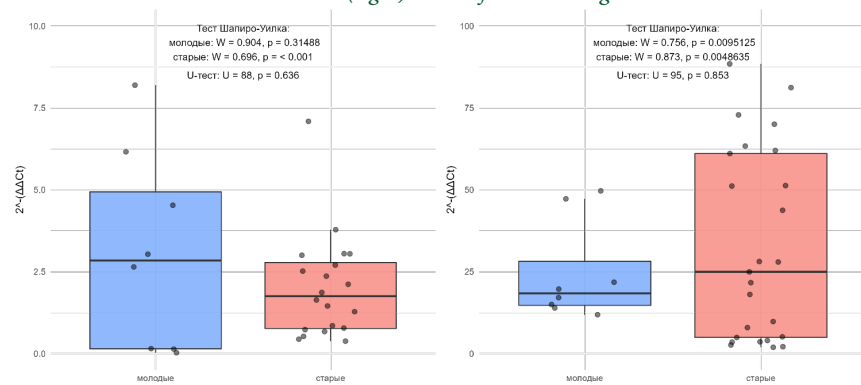


Рис. 5. Боксплоты, демонстрирующие $2^{-(\Delta\Delta C_t)}$ в группах молодых и старых кур с нормальной скорлупой в тканях матки (левый рисунок) и перешейка (правый рисунок) по гену BMPR1B

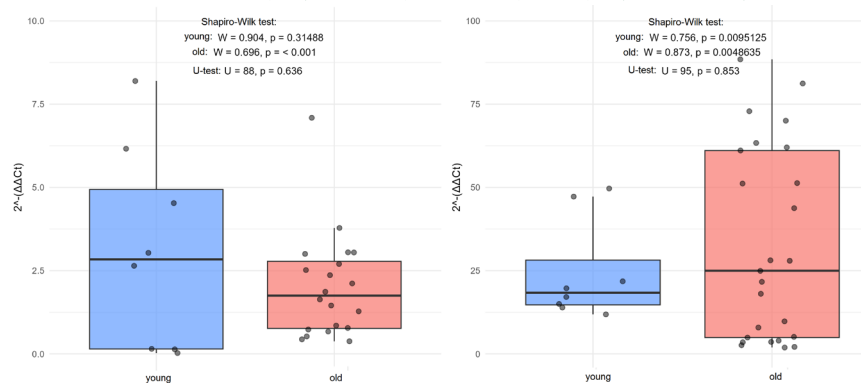


Fig 5. Boxplots showing $2^{-(\Delta\Delta C_t)}$ in groups of young and old normal-shell hens in uterine (left) and isthmus (right) tissues for the BMPR1B gene

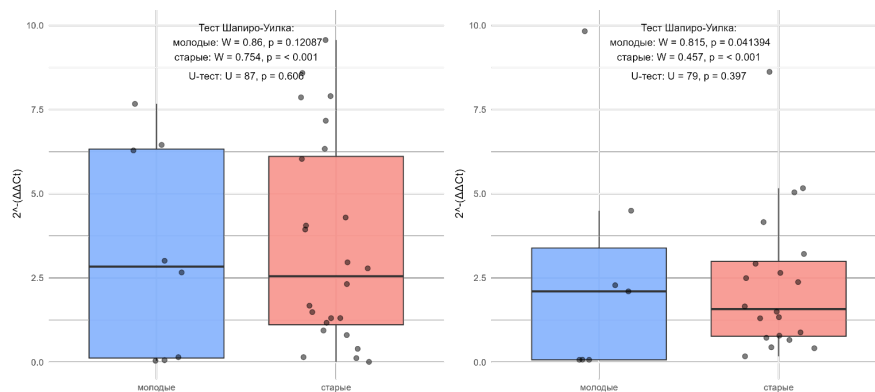


Рис. 6. Боксплоты, демонстрирующие $2^{-\Delta\Delta Ct}$ в группах молодых и старых кур с нормальной скорлупой в тканях матки (левый рисунок) и перешейка (правый рисунок) по гену SPP1

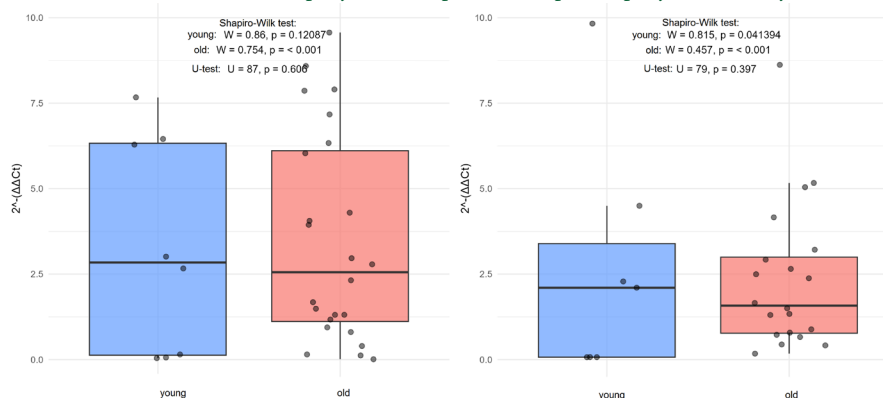


Fig. 6. Boxplots showing $2^{-\Delta\Delta Ct}$ in groups of young and old hens with normal shell in the tissues of the uterus (left) and isthmus (right) for the SPP1 gene

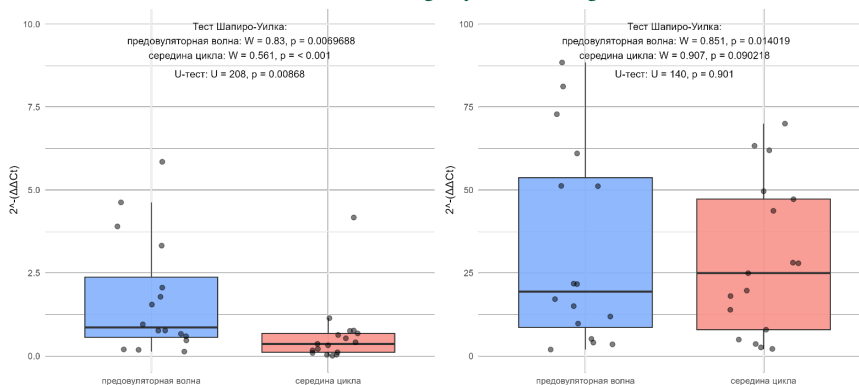


Рис. 7. Боксплоты, демонстрирующие $2^{-\Delta\Delta Ct}$ в группах «предовуляторная волна» и «середина цикла» в тканях матки (слева) и перешейка (справа) по гену BMPR1B

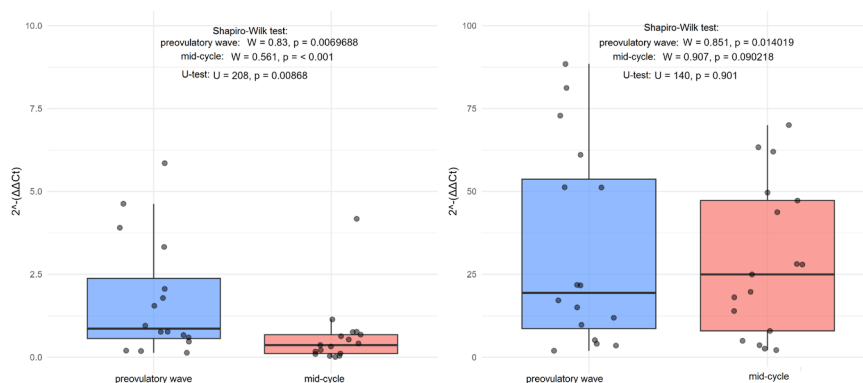


Fig. 7. Boxplots showing $2^{-\Delta\Delta Ct}$ in the preovulatory wave and mid-cycle groups in uterine (left) and putamen (right) tissues for the BMPR1B gene

Затем мы выполнили анализ экспрессии исследуемых генов в группах кур с учетом стадии овulatoryного цикла – «предовulatoryная волна» (период непосредственно перед овуляцией и началом формирования следующего яйца) и «середина цикла» (период между овуляциями, когда активное формирование яйца не происходит). На рис. 7 и 8 представлены результаты выполненного анализа.

Уровень экспрессии гена *BMPRII* в тканях матки в группе кур с фенотипом «предовulatoryная волна» (рис. 7) был заметно выше, чем у кур группы «середина цикла», различия статистически значимы при $p = 0,009$, что указывает на существенное влияние фактора стадии овulatoryного цикла на уровень экспрессии этого гена в тканях матки. В тканях перешейка значимых различий в экспрессии *BMPRII* в зависимости от стадии цикла не выявлено ($p > 0,05$).

По гену *SPP1* также обнаружена статистически значимая зависимость уровня экспрессии гена от стадии овulatoryного цикла в тканях матки (рис. 8), у кур из группы «предовulatoryная волна» уровень экспрессии был значительно выше, чем у кур группы «середина цикла» (при $p = 0,00369$). В перешейке, как и для *BMPRII*, значимых различий в экспрессии *SPP1* в зависимости от стадии цикла не наблюдалось ($p > 0,05$).

Затем мы выполнили анализ в группах «старые, середина цикла» и «тонкая скорлупа, середина цикла», чтобы максимально нивелировать возможное влияние факторов возраста и особенно стадии

овulatoryного цикла, сравнивая птиц, находящихся в одной и той же фазе репродуктивного цикла. Результаты представлены на рис. 9 и 10.

Как показано на рис. 9, различий в уровне экспрессии гена *BMPRII* между группами кур не наблюдалось ни по образцам матки ($p > 0,05$), ни по образцам перешейка ($p > 0,05$).

Уровень экспрессии гена *SPP1* в группах (рис. 10) также не различался статистически значимо в различных тканях при сравнении в одинаковую стадию овulatoryного цикла ($p > 0,05$ для обеих тканей).

Обсуждение и выводы (Discussion and Conclusion)

Исследование факторов, определяющих прочность яичной скорлупы, остается приоритетным направлением в птицеводстве, учитывая значительные экономические потери от ее дефектов и ключевую роль скорлупы в защите содержимого яйца и развитии эмбриона. Качество скорлупы является многофакторным признаком, зависящим от питания, генетики, условий содержания и физиологического состояния птицы. Предшествующие транскриптомные анализы тканей матки кур-несушек [7–9], а также генетико-ассоциативные исследования [10] указывали на потенциальную роль генов *BMPRII* и *SPP1* в формировании качественных характеристик скорлупы, что послужило основанием для их детального изучения в настоящей работе с целью оценки их экспрессионных профилей в зависимости от качества скорлупы, возраста и стадии овulatoryного цикла.

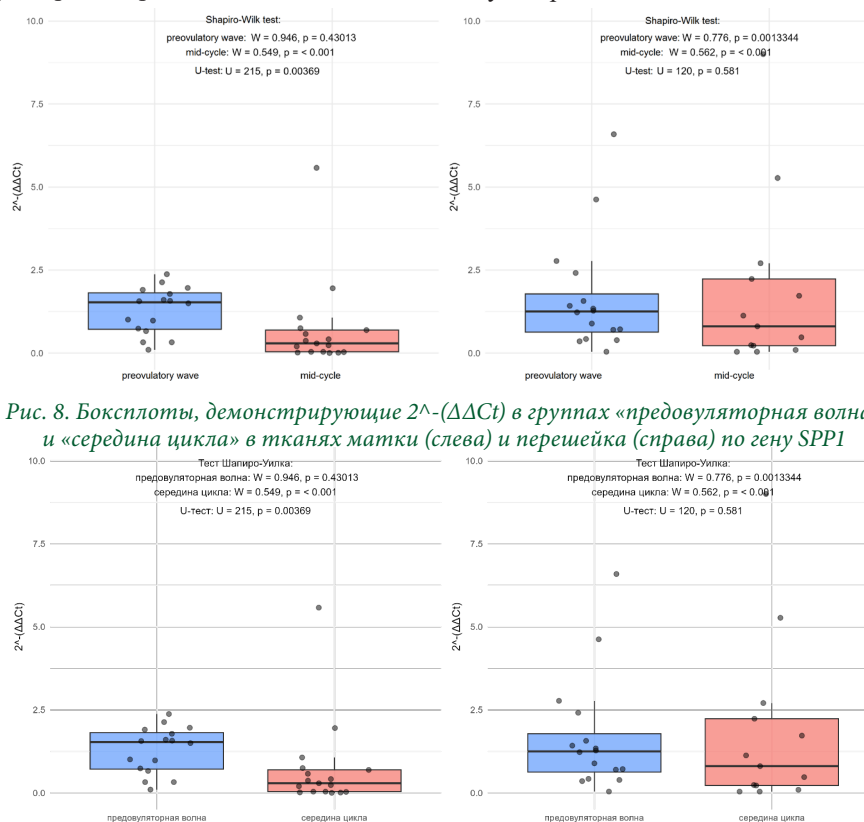


Fig. 8. Boxplots showing $2^{-\Delta\Delta C_t}$ in the preovulatory wave and mid-cycle groups in uterine (left) and isthmus (right) tissues for the *SPP1* gene

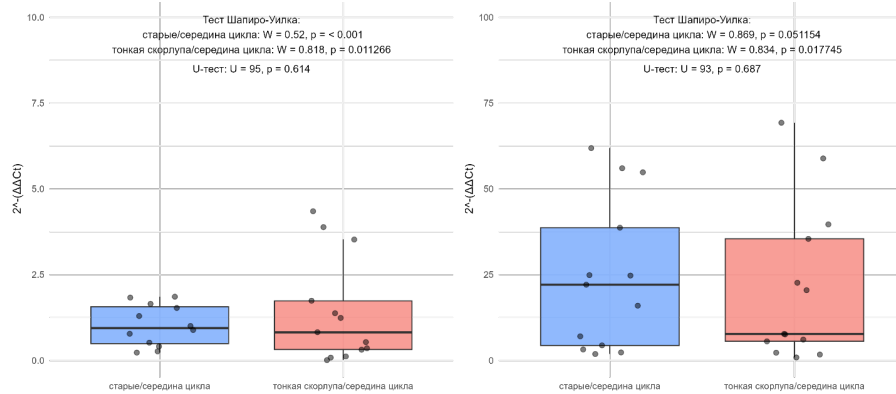


Рис. 9. Боксплоты, демонстрирующие $2^{-\Delta\Delta Ct}$ в группах «старые, середина цикла» и «плохая скорлупа, середина цикла» в тканях матки (слева) и перешейка (справа) по гену BMPR1B

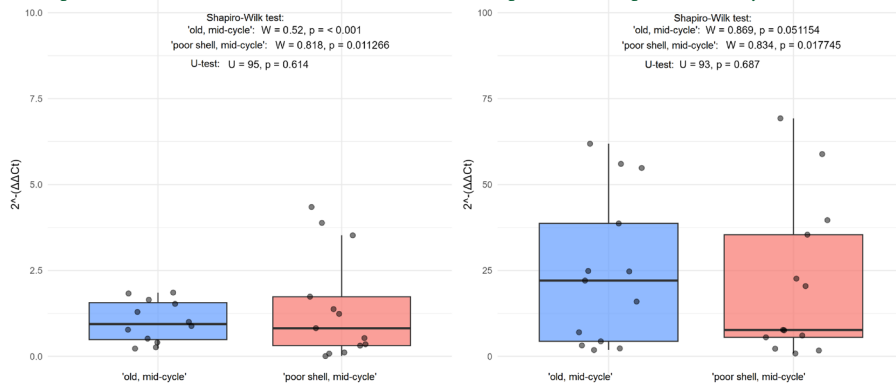


Fig. 9. Boxplots showing $2^{-\Delta\Delta Ct}$ in the 'old, mid-cycle' and 'poor shell, mid-cycle' groups in uterine (left) and isthmus (right) tissues for the BMPR1B gene

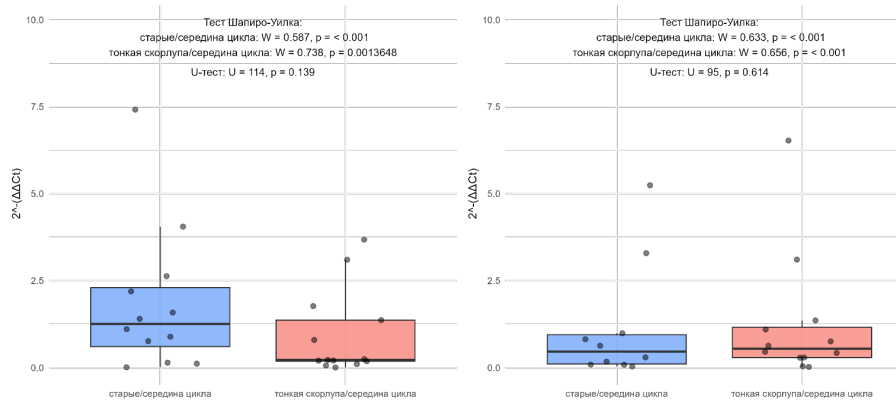


Рис. 10. Боксплоты, демонстрирующие $2^{-\Delta\Delta Ct}$ в группах «контроль, середина цикла» и «плохая скорлупа, середина цикла» в тканях матки (слева) и перешейка (справа) по гену SSP1

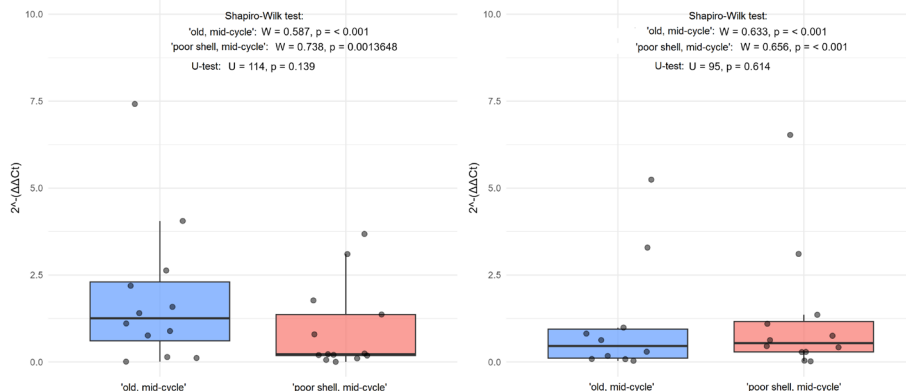


Fig. 10. Boxplots showing $2^{-\Delta\Delta Ct}$ in the "control, mid-cycle" and "poor shell, mid-cycle" groups in uterine (left) and isthmus (right) tissues for the SSP1 gene

BMPIB участвует в регуляции репродуктивных процессов. Он экспрессируется в яичниках и влияет на пролиферацию гранулезных клеток и продукцию прогестерона [11]. Есть данные о том, что *BMPIB* вовлечен в процессы половой дифференциации у эмбрионов кур [19]. Показано, что его экспрессия повышена у самцов в ходе развития, в отличие от некоторых других генов, связанных с полом, которые у самцов подавлены [15]. Это предполагает его участие в молекулярных путях, управляющих развитием половых признаков. В эксперименте Ма и сотрудников [20] *BMPIB* был подавлен во время дегенерации яйцевода и повышен во время восстановления, что позволяет предположить, что он может быть одним из генов, влияющих на развитие и регенерацию ткани яйцевода во время индуцированной линьки. Показано, что наблюдается достоверно отрицательная корреляция между экспрессией *BMPIB* и содержанием фосфолипидов в определенных тканях или условиях ($r = -0,74$, $p < 0,05$) [21], хотя точный механизм этой связи требует дальнейшего изучения. *BMPIB* экспрессируется в скорлуповой железе и может влиять на качество скорлупы [14]. Согласно нашим данным, его более высокий уровень экспрессии наблюдался в перешейке. Также этот ген участвует в адаптации к гипоксии у кур, что может косвенно влиять на их продуктивность [13] и, возможно, на процессы, требующие значительных энергетических затрат, таких как формирование скорлупы.

SPPI, известный как остеоопонтин, высоко экспрессируется в матке и обогащен в путях, связанных с транспортом ионов кальция [14], что напрямую указывает на его значимость для минерализации. Транскриптомные анализы мышечной ткани кур выявили *SPPI* как один из ключевых генов, связанных с развитием мышц и формированием вкусовых качеств мяса. Он участвует в путях, отвечающих за метаболизм жирных кислот. Предполагается, что *SPPI* регулирует отложение внутримышечного жира [22]. Показано, что *SPPI* обогащен в сигнальном пути толл-подобных рецепторов (TLR) в скорлуповой железе [14]. TLR играют критическую роль во врожденном иммунитете, и участие *SPPI* в этих путях предполагает его вклад в защитные механизмы репродуктивного тракта, особенно во время формирования яйца, защищая от потенциальных патогенов. *SPPI* экспрессируется в скорлуповой железе (матке) кур-несушек и вовлечен в процессы кальцификации и формирования кутикулы яичной скорлупы. Транскриптомные исследования показывают, что *SPPI* значительно обогащен в метаболических путях, связанных с метаболизмом фосфатсодержащих соединений и транспортом неорганических анионов, что критически важно для минерализации скорлупы [14]. Эти литературные данные хорошо коррелируют с нашими результа-

тами о более высокой экспрессии *SPPI* в матке по сравнению с перешейком и его связи с качеством скорлупы.

В ходе проведенных нами исследований было установлено, что относительный уровень экспрессии гена *SPPI* в тканях матки был статистически значимо ниже ($p = 0,0265$) у кур с тонкой скорлупой по сравнению с курами с нормальной скорлупой. Это важно, поскольку предполагает, что недостаточная экспрессия *SPPI*, ключевого белка органического матрикса и регулятора минерализации, может приводить к нарушениям в структуре и прочности скорлупы. Для гена *BMPIB* в матке наблюдалась тенденция к более низкому уровню экспрессии у кур с тонкой скорлупой ($p = 0,0931$), однако эти различия не достигли статистической значимости, возможно, из-за размера выборки или более сложного механизма его влияния. При этом общий уровень экспрессии *BMPIB* был выше в тканях перешейка, тогда как *SPPI* активнее экспрессировался в матке, что может отражать их различные, хотя и взаимосвязанные роли в разных участках или на разных этапах формирования скорлупы.

Критически важным результатом стало выявление зависимости уровней экспрессии обоих исследуемых генов (*BMPIB* и *SPPI*) в тканях матки от стадии овуляторного цикла. У кур, находящихся на стадии предовуляторной волны (период активной подготовки матки к секреции компонентов скорлупы и кальцификации), экспрессия *BMPIB* ($p = 0,009$) и *SPPI* ($p = 0,00369$) была достоверно выше, чем у кур в середине цикла. Это указывает на то, что физиологическая активность матки, связанная с формированием яйца, значительно модулирует экспрессию данных генов. Фактор возраста (сравнение молодых и старых кур с нормальной скорлупой) не оказывал статистически значимого влияния на экспрессию этих генов в нашем исследовании, что может свидетельствовать о том, что возрастные изменения в качестве скорлупы могут быть связаны с другими молекулярными механизмами или более тонкими изменениями экспрессии, не выявленными при данном дизайне эксперимента.

При попытке нивелировать влияние стадии овуляторного цикла путем сравнения групп «старые, середина цикла» и «тонкая скорлупа, середина цикла» статистически значимых различий в уровнях экспрессии генов *BMPIB* и *SPPI* в тканях матки и перешейка обнаружено не было. Это подчеркивает существенное влияние овуляторного цикла на профили экспрессии данных генов, особенно в матке, и указывает на необходимость строгого учета этой переменной при планировании и интерпретации подобных исследований. Возможно, истинные различия, связанные непосредственно с дефектами скорлупы, могут быть более выражены именно в активные фазы ее формирования (например, во время

предовуляторной волны или в процессе кальцификации), а не в середине цикла, когда матка относительно неактивна в плане формирования скорлупы.

Таким образом, полученные данные подтверждают значимую связь экспрессии гена *SPPI* в матке с качеством яичной скорлупы и указывают на его потенциальную роль в качестве биомаркера этого признака, хотя и с учетом цикличности его экспрессии. Выраженное влияние стадии овуляторного цикла на экспрессию как *BMPR1B*, так и *SPPI* в матке является ключевым фактором, который необходимо учитывать при дальнейшем изучении молекулярных механизмов формирования скорлупы и разработке селекционных программ. Неучет этого

фактора может приводить к получению противоречивых или неверно интерпретируемых результатов. Дальнейшие исследования с увеличенными выборками, более точным определением стадий овуляторного цикла и, возможно, анализом экспрессии на различных этапах процесса кальцификации позволят глубже понять регуляторные пути, вовлеченные в формирование качественной яичной скорлупы, и валидировать перспективные гены-кандидаты для использования в практической селекции птицы. Также перспективным направлением является изучение полиморфизмов в этих генах и их связи с уровнем экспрессии и фенотипическими проявлениями качества скорлупы.

Библиографический список (References)

1. Stefanello C., Santos T. C., Murakami A. E., Martins E. N., Carneiro T. C. Productive performance, eggshell quality, and eggshell ultrastructure of laying hens fed diets supplemented with organic trace minerals. *Poultry Science*. 2014; 93 (1): 104–113. DOI: 10.3382/ps.2013-03190.
2. Gautron J., Stapane L., Le Roy N., Nys Y., Rodriguez-Navarro A.B., Hincke M.T. Avian eggshell biomineralization: An update on its structure, mineralogy and protein tool kit. *BMC Molecular and Cell Biology*. 2021; 22 (1): 11. DOI: 10.1186/s12860-021-00350-0.
3. Amevor F. K., Cui Z., Ning Z., Du X., Jin N., Shu G., Deng X., Zhu Q., Tian Y., Li D., Wang Y., Zhang Z., Zhao X. Synergistic effects of quercetin and vitamin E on egg production, egg quality, and immunity in aging breeder hens. *Poultry Science*. 2021; 100 (12): 101481. DOI: 10.1016/j.psj.2021.101481.
4. Abebe F., Mulatu H., Kelemework S. Review of factors affecting egg quality and its effect. *Journal of Animal Health*. 2023; 3 (2): 17–32. DOI: 10.47604/jah.
5. Zhang H. D., Zhao X. F., Ren Z. Z., Tong M. Q., Chen J. N., Li S. Y., Chen H., Wang D. H. Comparison between different breeds of laying hens in terms of eggshell translucency and its distribution in various ends of the eggshell. *Poultry Science*. 2021; 100 (12): 101510. DOI: 10.1016/j.psj.2021.101510.
6. Zhang X., Yan K., Zhang C., Guo M., Chen S., Liao K., Bo Z., Cao Y., Wu Y. Pathogenicity comparison between QX-type and Mass-type infectious bronchitis virus to different segments of the oviducts in laying phase. *Virology Journal*. 2022; 19 (1): 62. DOI: 10.1186/s12985-022-01788-0.
7. Wu Y., Sun Y., Zhang H., Xiao H., Pan A., Shen J., Pu Y., Liang Z., Du J., Pi J. Multiomic analysis revealed the regulatory role of the KRT14 gene in eggshell quality. *Frontiers in Genetics*. 2022; 13: 927670. DOI: 10.3389/fgene.2022.927670.
8. Zhang Q., Zhu F., Liu L., Zheng C. W., Wang de H., Hou Z. C., Ning Z. H. Integrating transcriptome and genome re-sequencing data to identify key genes and mutations affecting chicken eggshell qualities. *PLoS One*. 2015; 10 (5): e0125890. DOI: 10.1371/journal.pone.0125890.
9. Li G., Yang X., Li J., Zhang B. Genome-wide analysis of lncRNA and mRNA expression in the uterus of laying hens during aging. *Genes (Basel)*. 2023; 14 (3): 639. DOI: 10.3390/genes14030639.
10. Dunn I.C., Joseph N. T., Bain M., Edmond A., Wilson P. W., Milona P., Nys Y., Gautron J., Schmutz M., Preisinger R., Waddington D. Polymorphisms in eggshell organic matrix genes are associated with eggshell quality measurements in pedigree Rhode Island Red hens. *Animal Genetics*. 2009; 40 (1): 110–114. DOI: 10.1111/j.1365-2052.2008.01794.x.
11. Onagbesan O. M., Bruggeman V., Van As P., Tona K., Williams J., Decuypere E. BMPs and BMPRs in chicken ovary and effects of BMP-4 and -7 on granulosa cell proliferation and progesterone production in vitro. *American Journal of Physiology. Endocrinology and Metabolism*. 2003; 285 (5): E973–83. DOI: 10.1152/ajpendo.00104.2003.
12. Zhang N. B., Tang H., Kang L., Ma Y. H., Cao D. G., Lu Y., Hou M., Jianget Y. L. Associations of single nucleotide polymorphism in BMP-1B gene with egg production a synthetic broiler line. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences*. 2008; 21 (5): 628–632. DOI: 10.5713/ajas.2008.70201.
13. Zhang Y., Gou W., Ma J., Zhang H., Zhang Y., Zhang H. Genome methylation and regulatory functions for hypoxic adaptation in Tibetan chicken embryos. *PeerJ*. 2017; 5: e3891. DOI: 10.7717/peerj.3891.
14. Yang X., Zhao F., Han Q., et al. Transcriptome analysis in the shell gland of laying hens affecting eggshell qualities. *Research Square PREPRINT (Version 1)*. 2020. DOI: 10.21203/rs.3.rs-34810/v1.

15. Carré G. A., Couty I., Hennequet-Antier C., Govoroun M. S. Gene expression profiling reveals new potential players of gonad differentiation in the chicken embryo. *PLoS One*. 2011; 6 (9): e23959. DOI: 10.1371/journal.pone.0023959.
16. Li Z., Wu H., Fu J., Mushtaq M., Khan M., Liu Y., Azeem Z., Shi H., He Y., Zhang R., Rahman M. A. U., Kang J., Ge C., Wang K. Eggshell quality traits and transcriptome gene screening between yunnong and jingfen chicken breeds. *Biology (Basel)*. 2024; 13 (12): 1048. DOI: 10.3390/biology13121048.
17. Untergasser A., Cutcutache I., Koressaar T., Ye J., Faircloth B. C., Remm M., Rozen S. G. Primer3 – new capabilities and interfaces. *Nucleic Acids Research*. 2012; 40 (15): e115. DOI: 10.1093/nar/gks596.
18. Livak K. J., Schmittgen T. D. Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the 2⁻(Delta Delta C(T)) method. *Methods*. 2001; 25 (4): 402–408. DOI: 10.1006/meth.2001.1262.
19. Li J., Zhang X., Wang X., Wang Z., Li X., Zheng J., Li J., Xu G., Sun C., Yi G., Yang N. Single-nucleus transcriptional and chromatin accessible profiles reveal critical cell types and molecular architecture underlying chicken sex determination. *Journal of Advanced Research*. 2025; 70: 29–43. DOI: 10.1016/j.jare.2024.05.007.
20. Ma P., Xue F., Chen J., Zhang X., Xu X., Ma Z., Zhang H., Wu Y., Li L., Qu Y., Li Y. Transcriptomic insight into the underlying mechanism of induced molting on reproductive remodeling, performance and egg quality in laying hen. *Poultry Science*. 2025; 104 (2): 104692. DOI: 10.1016/j.psj.2024.104692.
21. Gai K., Ge Y., Liu D., Zhang H., Cong B., Guo S., Liu Y., Xing K., Qi X., Wang X., Xiao L., Long C., Guo Y., Chen L., Sheng X. Identification of key genes related to intramuscular fat deposition in Beijing-You chicken by mRNA and miRNA transcriptome analysis. *Poultry Science*. 2023; 102 (11): 103035. DOI: 10.1016/j.psj.2023.103035.
22. Gai K., Ge Y., Liu D., Zhang H., Cong B., Guo S., Liu Y., Xing K., Qi X., Wang X., Xiao L., Long C., Guo Y., Sheng X. Identification of key genes affecting flavor formation in Beijing-You chicken meat by transcriptome and metabolome analyses. *Foods*. 2023; 12 (5): 1025. DOI: 10.3390/foods12051025.

Об авторах:

Ольга Сергеевна Романенкова, кандидат биологических наук, научный сотрудник лаборатории молекулярной генетики сельскохозяйственных животных, Федеральный исследовательский центр животноводства – ВИЖ имени академика Л. К. Эрнста, Дубровицы, Московская область, Россия;
ORCID 0000-0002-2682-6164, AuthorID 745206. E-mail: eridpa@mail.ru

Ольга Викторовна Алейникова, кандидат биологических наук, научный сотрудник лаборатории биологических проблем репродукции животных, Федеральный исследовательский центр животноводства – ВИЖ имени академика Л. К. Эрнста, Дубровицы, Московская область, Россия;
ORCID 0000-0003-2583-0492, AuthorID 1046552. E-mail: 68ovk@mail.ru

Ольга Васильевна Костюнина, доктор биологических наук, ведущий научный сотрудник лаборатории молекулярной генетики сельскохозяйственных животных, Федеральный исследовательский центр животноводства – ВИЖ имени академика Л. К. Эрнста, Дубровицы, Московская область, Россия;
ORCID 0000-0001-8206-3221, AuthorID 147325. E-mail: kostolan@yandex.ru

Authors' information:

Olga S. Romanenkova, candidate of biological sciences, researcher of the laboratory of molecular genetics of farm animals, L. K. Ernst Federal Research Center for Animal Husbandry, Dubrovitsy, Moscow region, Russia;
ORCID 0000-0002-2682-6164, AuthorID 745206. E-mail: eridpa@mail.ru

Olga V. Aleynikova, candidate of biological sciences, researcher of the laboratory of biological problems of animal reproduction, L. K. Ernst Federal Research Center for Animal Husbandry, Dubrovitsy, Moscow region, Russia;
ORCID 0000-0003-2583-0492, AuthorID 1046552. E-mail: 68ovk@mail.ru

Olga V. Kostyunina, doctor of biological sciences, leading researcher of the laboratory of molecular genetics of farm animals, L. K. Ernst Federal Research Center for Animal Husbandry, Dubrovitsy, Moscow region, Russia;
ORCID 0000-0001-8206-3221, AuthorID 147325. E-mail: kostolan@yandex.ru.