

Д.Г. Тюрина¹,
Г.Ю. Лаптев²,
Е.А. Йылдырым^{2, 3},
Л.А. Ильина^{1, 2, 3},
В.А. Филиппова^{2, 3},
Е.А. Бражник¹,
К.А. Калиткина^{1, 3},
Е.С. Пономарева¹,
А.В. Дубровин¹,
Н.И. Новикова¹,
Д.А. Ахматчин¹,
В.В. Молотков¹,
В.Х. Меликиди¹,
Е.П. Горфункель¹

¹ ООО «БИОТРОФ», Санкт-Петербург,
Пушкин, Российская Федерация

² ООО «БИОТРОФ+», Санкт-Петербург,
Российская Федерация

³ Санкт-Петербургский государственный
аграрный университет,
Санкт-Петербург, Пушкин,
Российская Федерация

✉ deniz@biotrof.ru

Поступила в редакцию:
30.07.2022

Одобрена после рецензирования:
10.10.2022

Принята к публикации:
10.11.2022

Research article

Daria G. Tyurina¹,
Georgiy Y. Laptev²,
Elena A. Yildirim^{2, 3},
Larisa A. Ilyina^{1, 2, 3},
Valentina A. Filippova^{2, 3},
Evgeny A. Brazhnik¹,
Kseniya A. Kalitkina^{1, 3},
Ekaterina S. Ponomareva¹,
Andrey V. Dubrovin¹,
Natalya I. Novikova¹,
Dmitriy A. Akhmatchin¹,
Vitaliy V. Molotkov¹,
Veronika H. Melikidi¹,
Elena P. Gorfunkel¹

¹ ООО «БИОТРОФ», St. Petersburg, Pushkin,
Russian Federation

² ООО «БИОТРОФ+», St. Petersburg,
Russian Federation

³ St. Petersburg State Agrarian University,
St. Petersburg, Pushkin, Russian Federation

✉ deniz@biotrof.ru

Received by the editorial office:
30.07.2022

Accepted in revised:
10.10.2022

Accepted for publication:
10.11.2022

Изменение экспрессии генов антимикробных пептидов у сельскохозяйственной птицы под влиянием глифосата и пробиотика

РЕЗЮМЕ

Актуальность. Появляется все больше информации о том, что глифосаты могут оказывать ряд негативных эффектов на здоровье животных, птиц и человека, что вызывает серьезную озабоченность в отношении глобальной безопасности кормов и продукции животноводства и птицеводства.

Методы. Эксперименты проводили в виварии ООО «БИОТРОФ+» на бройлерах кросса Росс 308. Птиц разделили на 3 группы: 1-ю (контрольную), получавшую рацион без введения добавок, 2-ю (опытную), получавшую рацион с добавлением глифосата, 3-ю (опытную), получавшую рацион с добавлением глифосата и штамма микроорганизма *Bacillus sp.* GL-8. Анализ экспрессии генов слепых отростков кишечника бройлеров проводили с помощью количественной ПЦР с обратной транскрипцией. Для анализа экспрессии мРНК были выбраны специфические праймеры для генов антимикробных пептидов. Реакции амплификации проводили с использованием «SsoAdvanced™ Universal SYBR® Green Supermix» («Bio-Rad», США).

Результаты. Показано, что остаточные количества глифосатов, присутствующие в кормах бройлеров, оказывают влияние на экспрессию генов антимикробных пептидов AvBD1, AvBD2, AvBD4, AvBD6, CATH-2, NK-lysin, усиливая ее. Так, например, в опытной группе 2 наблюдалось усиление экспрессии генов дефензинов AvBD1, AvBD2, AvBD4, AvBD6 в 21,9; 29,9; 35,1 и 33,5 раза соответственно по сравнению с контрольной группой 1 ($P \leq 0,001$). Снижение (на 31–41%) экспрессии гена LEAP-2 при загрязнении корма глифосатами может, по всей видимости, приводить к уменьшению резистентности к бактериальным патогенам, таким как *Salmonella enterica typhimurium*, *Streptococcus spp.*, и увеличению тяжести симптомов кокцидиозов у птиц. Пробиотик оказывал «выравнивающее» влияние на экспрессию генов дефензинов AvBD1, AvBD2, AvBD4 и AvBD6. Вероятно, это связано с усилением у микробиоты кишечника, модифицированной пробиотиком, возможностей метаболизма глифосата, что могло действовать в качестве физического барьера.

Ключевые слова: бройлеры, антимикробные пептиды, глифосат, экспрессия генов, пробиотик

Для цитирования: Тюрина Д. Г. и др. Изменение экспрессии генов антимикробных пептидов у сельскохозяйственной птицы под влиянием глифосата и пробиотика. Аграрная наука. 2022; 365 (12): 28–34. <https://doi.org/10.32634/0869-8155-2022-365-12-28-34>

© Тюрина Д.Г., Лаптев Г.Ю., Йылдырым Е.А., Ильина Л.А., Филиппова В.А., Бражник Е.А., Калиткина К.А., Пономарева Е.С., Дубровин А.В., Новикова Н.И., Ахматчин Д.А., Молотков В.В., Меликиди В.Х., Горфункель Е.П.

Changes in the expression of antimicrobial peptide genes in poultry under the influence of glyphosate and probiotic

ABSTRACT

Relevance. There is increasing information that glyphosates can have a range of adverse effects on animal, bird and human health, raising serious concerns about global feed and animal and poultry product safety.

Methods. The experiments were carried out in the vivarium of OOO “BIOTROF+” on broilers of the Ross 308 cross. The birds were divided into 3 groups: 1st (control), which received a diet without additives, 2nd (experimental), which received a diet with the addition of glyphosate, 3rd (experimental), which received a diet with the addition of glyphosate and a strain of the microorganism *Bacillus sp.* GL-8. Analysis of the gene expression of the caecum of the intestines of broilers was carried out using quantitative PCR with reverse transcription. To analyze mRNA expression, specific primers for antimicrobial peptide genes were selected. Amplification reactions were performed using “SsoAdvanced™ Universal SYBR® Green Supermix” (“Bio-Rad”).

Results showed that the residual amounts of glyphosates which are present at sterns of broilers influence an expression of genes of antimicrobial peptides AvBD1, AvBD2, AvBD4, AvBD6, CATH-2, NK-lysin, strengthening it. For example, in experimental group 2, there was an increase in gene expression of defensins AvBD1, AvBD2, AvBD4, AvBD6 by 21.9, 29.9, 35.1 and 33.5 times, respectively, compared to control group 1 ($P \leq 0,001$). A decrease (31 to 41%) in LEAP-2 gene expression when feed is contaminated with glyphosates may likely lead to a decrease in resistance to bacterial pathogens such as *Salmonella enterica typhimurium*, *Streptococcus spp.* and increased severity by the symptom of coccidiosis in poultry. The probiotic had a «leveling» effect on the expression of AvBD1, AvBD2, AvBD4 and AvBD6 defensin genes. This is likely due to the enhancement in the probiotic-modified gut microbiota of glyphosate metabolic opportunities, which may have acted as a physical barrier.

Key words: broilers, antimicrobial peptides, glyphosate, gene expression, probiotic

For citation: Tyurina D.G. et al. Changes in the expression of antimicrobial peptide genes in poultry under the influence of glyphosate and probiotic. Agrarian science. 2022; 365 (12): 28–34. <https://doi.org/10.32634/0869-8155-2022-365-12-28-34> (In Russian).

© Tyurina D.G., Laptev G.Y., Yildirim E.A., Ilyina L.A., Filippova V.A., Brazhnik E.A., Kalitkina K.A., Ponomareva E.S., Dubrovin A.V., Novikova N.I., Akhmatchin D.A., Molotkov V.V., Melikidi V.H., Gorfunkel E.P.

Введение / Introduction

Присутствие токсикантов, в том числе остаточных количеств гербицида глифосата, в кормах для сельскохозяйственной птицы – это очень остро стоящая проблема в нашей стране [1] и во всем мире [2]. Появляется все больше информации о том, что глифосаты могут оказывать ряд негативных эффектов на здоровье животных, птиц и человека [3, 4]. Это вызывает серьезную озабоченность в отношении глобальной безопасности кормов и продукции животноводства и птицеводства.

Слизистая оболочка кишечника животных и птиц подвергается воздействию патогенов и токсикантов, поступающих с кормами, что может вызывать у организма различные типы откликов (толерантность, включение защитных механизмов, усиление резистентности или ухудшение здоровья и продуктивности). Поверхность слизистой оболочки кишечника действует как основной барьер против патогенов и токсикантов, что может повлиять на клеточные и иммунные реакции хозяина. Эпителий и слизистая кишечника состоят из муцинов, гликопротеинов, липидов, антимикробных пептидов (АМП), секреторного иммуноглобулина А (IgA), которые контролируют прохождение определенных субстанций и предотвращают попадание бактерий через эпителиальный барьер [5]. Антигены, прежде всего патогенные микроорганизмы, инициируют экспрессию врожденных иммунных эффекторных молекул, а именно АМП, которые критически важны для поддержания функционального иммунного барьера в кишечнике и одновременно играют ключевую гомеостатическую роль в формировании состава микробиоты [6]. Нарушение функционирования данных барьеров под влиянием ряда негативных факторов, прежде всего кормовых, может ухудшить резистентность, в результате чего микроорганизмы могут приобрести потенциал для вторжения в организм хозяина, что инициирует гастроэнтериты, септицемии, падение продуктивности, массовые падежи и др.

АМП вырабатываются как компонент врожденной иммунной системы организма, они эффективны против широкого спектра патогенов, таких как бактерии, простейшие и грибы [7]. Важной особенностью АМП является их способность ингибировать рост бактерий с множественной лекарственной устойчивостью. Так, показано, что АМП способны ингибировать метициллинрезистентный золотистый стафилококк и синегнойную палочку с множественной лекарственной устойчивостью [8]. Это разнообразная группа (анионные пептиды, линейные катионные α -спиральные пептиды, катионные пептиды и др.) эволюционно консервативных молекул, которые обычно состоят из 5–50 аминокислот, обладающих широким спектром антимикробной активности и относительно низким уровнем развития резистентности [9]. Дефензины представляют собой наиболее распространенное и наиболее консервативное семейство этих катионных пептидов [10]. У кур имеется 14 птичьих β -дефензинов (AvBD) и не обнаружено α -дефензинов [10]. Птицы кателицидины (CATH1, CATH2, CATH1–3, CATH-B1) были обнаружены у сельскохозяйственной птицы в 2004 году [11], они проявляют активность в отношении *E. coli*, *S. aureus*, *P. aeruginosa* и др. Не так давно у цыплят был идентифицирован катионный антимикробный пептид LEAP-2, высокоеффективный против *Salmonella enterica* [12]. В дополнение к антимикробной активности, АМП, такие как, например, пептид кателицидина LL-37 и куриный NK-lysin, проявляют иммуномодулирующие свойства [13].

Известно, что поступление ксенобиотиков в организм изменяет активность экспрессии множества генов [14]. Тем не менее, исследования влияния токсикантов на уровень экспрессии генов АМП единичны. В связи с этим интересно оценить потенциальное влияние, которое значимые стрессоры, такие как глифосаты, оказывают на экспрессию генов АМП.

В настоящее время одним из многообещающих подходов к снижению риска, связанного с присутствием ксенобиотиков в кормах, является биологическая детоксикация, осуществляемая ферментами пробиотических штаммов [15].

В связи с этим целью нашего исследования было изучить изменение экспрессии генов антимикробных пептидов у бройлеров на фоне загрязнения кормов глифосатом и введение в рацион пробиотического штамма *Bacillus sp.* ГЛ-8.

Материалы и методы / Materials and methods

Эксперименты проводили в виварии ООО «БИО-ТРОФ+» на бройлерах кросса Росс 308 1–35-суточного возраста в 2022 году в соответствии с требованиями Европейской конвенции о защите позвоночных животных, используемых для экспериментов или в иных научных целях (ETS №123, Страсбург, 1986). Условия кормления и содержания соответствовали требованиям для кросса бройлеров [16]. Для кормления с 1-го по 28-й день выращивания применяли комбикорм ПК 5 для бройлеров, с 29-го по 35-й день – ПК 6 для бройлеров. Птиц разделили на 3 группы по 40 голов в каждой: 1) контрольную группу 1, получавшую рацион без введения глифосата и пробиотического штамма микроорганизма, 2) опытную группу 2, получавшую рацион с добавлением глифосата в количестве 20 мг/кг корма, что соответствовало 1 ПДК для продуктов питания (СанПиН 1.2.3685-21 «Гигиенические нормативы и требования к обеспечению безопасности и (или) безопасности для человека факторов среды обитания»); 3) опытную группу 3, получавшую рацион с добавлением глифосата в количестве 20 мг/кг корма, а также пробиотического штамма микроорганизма *Bacillus sp.* ГЛ-8.

Для проведения производственного эксперимента применяли глифосат в составе препарата «Агрокиллер» (ЗАО «Август», Россия), содержащий 500 г/л глифосата кислоты (изопропиламинная соль). Для этого готовили рабочий раствор из препарата «Агрокиллер», рабочий раствор наносили на комбикорм методом распыления в соотношении на 1 кг комбикорма 5 мл рабочего раствора до конечной концентрации чистого глифосата в комбикорме 20 мг/кг.

Для анализа экспрессии генов у бройлеров в конце эксперимента отбирали ткани слепых отростков кишечника. Анализ экспрессии генов проводили с помощью количественной ПЦР с обратной транскрипцией. РНК выделяли из образцов тканей с использованием мини-набора «AurumTM Total RNA» («Bio-Rad», США), следуя инструкциям производителя. Реакцию обратной транскрипции проводили для получения кДНК на матрице РНК с использованием «iScriptTM Reverse Transcription Supermix» («Bio-Rad», США). Для анализа экспрессии мРНК были выбраны специфические праймеры для следующих исследованных генов АМП: для гена AvBD1 – F: CCGTTTCTGTCACCGTCA, R: CCTTGCTAAAAATCCCTTC, для гена AvBD2 – F: GCACTCCAGGTTCTCCA, R: GGCGTCCGACTTTGATT, для гена AvBD4 – F: TCATGGAGCTGTGGCTTT, R: AGCATTCCCATAAGGGCATT,

для гена AvBD6 – F: CTGCTGCTGTCTGTCCCTTT, R: TGCAGACACCCCTTGATAT, для гена CATH-2 – F: GACGACTGCGACTTCAAGGA, R: CGTCTCTGCAGCGTAGATTG, для гена NK-lysin – F: TTCTGCGTCAGTCTGGTGA, R: TCCCGTACTGCACACCTT, для гена LEAP-2 – F: ACTCTGGAATTCTGCCTGATGACA, R: CATCTGCATCCGTGCCTGA. В качестве референсного контроля использовали праймеры на ген «домашнего хозяйства» – белка β -актина (ACTB).

Реакции амплификации проводили с использованием «SsoAdvanced™ Universal SYBR® Green Supermix» («Bio-Rad», США) в соответствии с протоколом производителя с использованием амплификатора детектирующего «ДЛайт» («ДНК-Технология», Россия). Режим и условия амплификации соответствовали каждому праймеру. Оценка относительного уровня экспрессии проводилась с использованием метода $2^{-\Delta\Delta CT}$ [17].

Математическую и статистическую обработку результатов осуществляли методом многофакторного дисперсионного анализа (multifactor ANalysis Of VAriance, ANOVA) в программах «Microsoft Excel XP/2003», «R-Studio» (version 1.1.453, <https://rstudio.com>).

Результаты и обсуждение /

Results and discussion

Данные анализа относительных уровней транскриптов генов АМП в тканях слепых отростков кишечника бройлеров в ответ на введение глифосата и пробиотического штамма *Bacillus sp.* ГЛ-8 показаны на рис. 1–4.

Как видно из рис. 1, в опытной группе 2 наблюдалось резкое усиление экспрессии генов дефензинов AvBD1, AvBD2, AvBD4, AvBD6 в 21,9; 29,9; 35,1 и 33,5 раза соответственно по сравнению с контрольной группой 1 ($P \leq 0,001$). Известно, что AvBD1 и AvBD2, полученные из куриных лейкоцитов, проявляют антимикробную активность в отношении *E. coli*, *Listeria monocytogenes* и *Candida albicans* [18]. В ряде научных статей описаны случаи воздействия глифосата на иммунную систему организма, которое выражалось, например, в иммунной дисрегуляции, в частности, в уменьшении активно-

сти дефензинов [19]. В 2021 г. мы показали, что такой токсикант, как Т-2 токсин, оказывает стимулирующее влияние на экспрессию генов АМП β -дефензинов AvBD9 и AvBD10 в тканях поджелудочной железы бройлеров [20]. Дефензины демонстрируют липополисахарид-связывающую активность [21]. Липополисахариды – это эндотоксины, которые представляют собой компоненты наружной части клеточной мембранны грамотрицательных патогенных микроорганизмов, которые защищают мембрану от агрессивных воздействий окружающей среды. Кроме того, ранее было сделано неожиданное открытие, что консервативные домены фермента глутатион S-трансферазы, обладающего способностью к детоксикации ксенобиотиков, состоят из умеренно коротких катионных и гидрофобных пептидов, обладающих выраженной антимикробной активностью в отношении золотистого стафилококка и *Klebsiella pneumoniae* [22]. Эти сведения и полученные нами данные могут свидетельствовать о том, что АМП могут определенным образом быть задействованы в процессах детоксикации ксенобиотиков.

Введение в рацион пробиотика (опытная группа 3) способствовало снижению экспрессии генов AvBD1, AvBD2, AvBD4, AvBD6 по сравнению с опытной группой 2 ($P \leq 0,05$). Ранее в исследовании на бройлерах было обнаружено, что введение в рацион пробиотика было связано со снижением уровня экспрессии гена AvBD12 в пищеварительной системе [23].

В то же время в опытных группах 2 и 3 с введением глифосата наблюдалось увеличение экспрессии гена CATH-2 в 8,2 и 11,1 раза соответственно по сравнению с контрольной группой 1 ($P \leq 0,05$) (рис. 2). Кателицидины (CATH) представляют собой основную группу пептидов защиты хозяина, которые имеют высококонсервативный кателиноподобный домен. CATH, как и β -дефензины, представляют два основных семейства птичьих АМП, которые экспрессируются в различных тканях [9, 24]. Ранее показано, что CATH-1 и CATH-2 продемонстрировали антимикробную активность широкого спектра действия в отношении грам-положительных и отрицательных бактерий [25]. С другой стороны, продемонстрировано, что кателицидин CATH-2 – мощный усилитель активации макрофагов у кур и млекопитающих. Это является результатом усиленного эндоцитоза комплекса «ДНК – CATH-2» и последующей активации TLR21 [26]. Активация CATH-2 под влиянием глифосата могла иметь отрицательные последствия для организма птиц, поскольку гиперпродукция генов иммунитета часто имеет связь с различными заболеваниями. Например, показано [27], что ген кателицидин LL-37 аномально сверхэкспрессируется у человека при кожном заболевании розацеа. Ранее также сообщалось, что воспалительная реакция, наблюдавшаяся при розацеа, не проявлялась, когда экспрессия гена кателицидина у мышей была подавлена [28]. Соответственно, повышенная экспрессия LL-37 может играть роль в инициации розацеа, которое является неинфекционным хроническим полиэтиологическим дерматозом. Было показано, что различные экологические и эндогенные факторы, в том числе антимикробные пептиды, стимулируют усиленный врожденный иммунный ответ и нарушение нейроваскулярной регуляции [29].

Как видно из рис. 3, на фоне загрязнения корма глифосатами в опытных группах 2 и 3 было отмечено увеличение экспрессии гена NK-lysin в слепых отростках кишечника бройлеров в 3,3 и 2,3 раза соответственно.

Рис. 1. Уровень экспрессии генов дефензинов (AvBD1, AvBD2, AvBD4, AvBD6) в слепых отростках кишечника бройлеров: ОЕ – кратность изменений уровней экспрессии по сравнению с контрольной группой 1, принятой за 1; * – отличия от контрольной группы при $P \leq 0,05$, ** – отличия от контрольной группы при $P \leq 0,01$, *** – отличия от контрольной группы при $P \leq 0,001$; прерывистая красная линия показывает уровень экспрессии в контроле

Fig. 1. Level of defensin gene expression (AvBD1, AvBD2, AvBD4, AvBD6) in broiler cecum: OE – multiplicity of changes in expression levels compared to control group 1 taken as 1; * – differences from control group at $P \leq 0,05$; ** – differences from control group at $P \leq 0,01$; *** – differences from control group at $P \leq 0,001$; dashed red line shows the level of expression in control

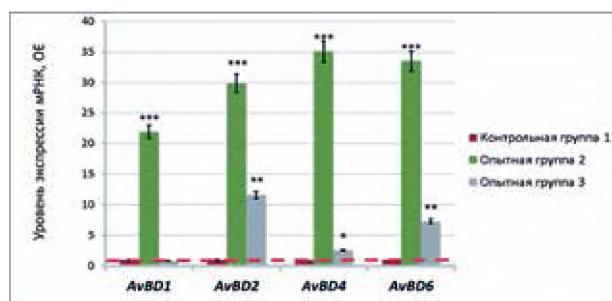


Рис. 2. Уровень экспрессии гена CATH-2 в слепых отростках кишечника бройлеров: ОЕ – кратность изменений уровней экспрессии по сравнению с контрольной группой 1, принятой за 1; * – отличия от контрольной группы при $P \leq 0,01$; прерывистая красная линия показывает уровень экспрессии в контроле

Fig. 2. Level of CATH-2 gene expression in broiler cecum: OE – multiplicity of changes in expression levels compared to control group 1 taken as 1; * – differences from control group at $P \leq 0,01$; dashed red line shows the level of expression in control

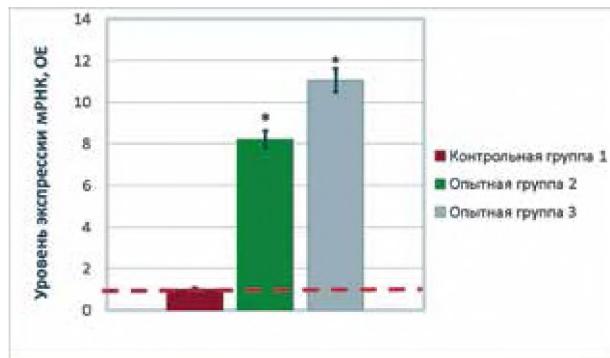
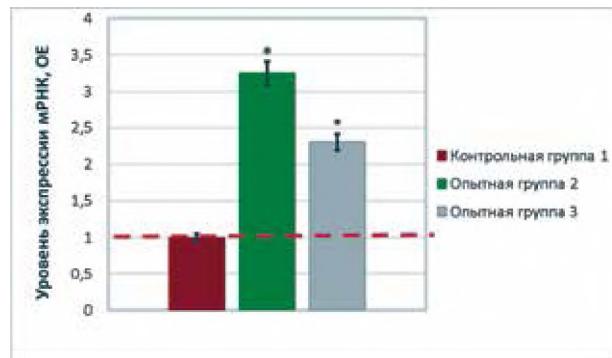


Рис. 3. Уровень экспрессии гена NK-lysin в слепых отростках кишечника бройлеров: ОЕ – кратность изменений уровней экспрессии по сравнению с контрольной группой 1, принятой за 1; * – отличия от контрольной группы при $P \leq 0,05$; прерывистая красная линия показывает уровень экспрессии в контроле

Fig. 3. Level of NK-lysin gene expression in broiler cecum: OE – multiplicity of changes in expression levels compared to control group 1 taken as 1; * – differences from control group at $P \leq 0,05$; dashed red line shows the level of expression in control



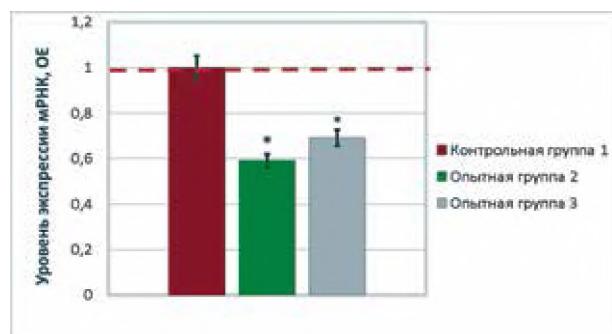
но по сравнению с контрольной группой 1 ($P \leq 0,05$). NK-lysin впервые обнаружен в кишечнике свиней, он является членом суперсемейства сапозиноподобных белков и имеет структурный гомолог гранулину. NK-lysin является эффектором, секретируемым CTL- и NK-клетками, играющим жизненно важную роль во врожденной иммунной защите от инфекционных патогенов [30].

В ряде исследований отмечалось, что NK-лизыны, как и некоторые другие АМП, обладают ингибирующим действием в отношении некоторых штаммов *Bacillus subtilis* [31]. Тем не менее, другие штаммы данного вида, а также другие виды рода *Bacillus* способны вырабатывать ряд защитных механизмов на действие АМП [32, 33]. Позитивные сдвиги в уровне экспрессии ряда генов в ответ на введение пробиотика на фоне глифосата могут косвенным образом свидетельствовать о том, что у штамма *Bacillus sp.* ГЛ-8 могут иметься защитные механизмы в ответ на действие АМП хозяина.

Кроме того, в опытных группах 2 и 3 при введении в корм глифосата было отмечено снижение транскриптов мРНК гена LEAP-2 в слепых отростках кишечника бройлеров на 41 и 31% по сравнению с контрольной группой 1 ($P \leq 0,05$). Антимикробный пептид-2 LEAP-2 синтезируются различными эпителиальными клетками. Эти пептиды обладают катионными и гидрофобными свойствами, которые позволяют им проникать в мембранные бислои с образованием пор [34], что приводит к повреждению и уничтожению микроорганизмов. При этом они проявляют избирательную антимикробную активность в отношении различных патогенов [35]. Обнаружено, что LEAP-2 у кур биологически активен против нескольких видов *Salmonella spp.* [36, 37], включая *Salmonella enterica typhimurium*. Кроме того, LEAP-2 проявлял антимикробную активность в отношении грам-положительных бактерий, таких как *Streptococcus spp.* и *Staphylococcus spp.* Ранее отмечено, что экспрессия гена LEAP-2 резко снижалась в ответ на заражение организма кокцидиями *Eimeria maxima* [38], что приводило к более тяжелому течению заболевания. Тяжесть заболевания при этом имела связь со сни-

Рис. 4. Уровень экспрессии гена LEAP-2 в слепых отростках кишечника бройлеров: ОЕ – кратность изменений уровней экспрессии по сравнению с контрольной группой 1, принятой за 1; * – отличия от контрольной группы при $P \leq 0,05$; прерывистая красная линия показывает уровень экспрессии в контроле

Fig. 4. Level of LEAP-2 gene expression in broiler cecum: OE – multiplicity of changes in expression levels compared to control group 1 taken as 1; * – differences from control group at $P \leq 0,05$; dashed red line shows the level of expression in control



жением экспрессии LEAP-2. Таким образом, исходя из данных нашего эксперимента, снижение экспрессии LEAP-2 при воздействии глифосатов может приводить к уменьшению резистентности к бактериальным патогенам, таким как *Salmonella enterica typhimurium*, *Streptococcus spp.*, *Staphylococcus spp.*, и увеличению тяжести симптомов кокцидиозов у птиц.

Выходы / Conclusion

Остаточные количества глифосатов, присутствующие в кормах бройлеров, оказывают влияние на экспрессию генов врожденных иммунных эффекторных молекул антимикробных пептидов AvBD1, AvBD2, AvBD4, AvBD6, CATH-2, NK-lysin, усиливая ее. Это может быть связано с тем, что ряд АМП синтезируется в ответ на воспалительные реакции, которые, вероятно, может инициировать глифосат при попадании в организм бройлеров.

Полученные нами данные могут свидетельствовать и о том, что АМП могут определенным образом быть задействованы в процессах детоксикации ксенобиотиков. Однако данная гипотеза требует дополнительной экспериментальной проверки в дальнейшем. С другой стороны, гиперпродукция АМП под влиянием глифосата могла иметь отрицательные последствия для организма птиц, поскольку такое явление часто имеет связь с различными заболеваниями.

Снижение экспрессии гена LEAP-2 при загрязнении корма глифосатами может, по всей видимости, приводить к уменьшение резистентности к бактериальным патогенам, таким как *Salmonella enterica typhimurium*,

Streptococcus spp., *Staphylococcus spp.*, и увеличению тяжести симптомов кокцидиозов у птиц. Введение в рацион пробиотика на основе штамма *Bacillus sp.* способствовало снижению экспрессии генов AvBD1, AvBD2, AvBD4 и AvBD6 на фоне потребления глифосатов. Вероятно, это связано с усилением у микробиоты кишечника, модифицированной пробиотиком, возможностей метаболизма глифосата, что могло действовать в качестве физического барьера. Кроме того, пробиотик мог изменять экспрессию ферментов детоксикации макроорганизма, участвующих в деструкции ксенобиотиков, что могло снизить токсичную нагрузку на организм птиц.

ФИНАНСИРОВАНИЕ

Работа выполнена при поддержке гранта Российского научного фонда 22-16-00128.

Все авторы несут ответственность за свою работу и представленные данные.

Все авторы внесли равный вклад в эту научную работу.

Авторы в равной степени участвовали в написании рукописи и несут равную ответственность за плагиат.

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

FUNDING

The work was supported by the Russian Science Foundation grant 22-16-00128.

All authors bear responsibility for the work and presented data.

All authors have made an equal contribution to this scientific work.

The authors were equally involved in writing the manuscript and bear the equal responsibility for plagiarism.

The authors declare no conflict of interest.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Тюрина Д.Г., Меликиди В.Х., Околелова Т.М. и др. Глифосат в комбикормах для птицы. *Птицеводство*. 2021;3: 27–30.
2. Xu J, Shayna S, Smith G, Want W, Li Y. Glyphosate contamination in grains and foods: An overview. *Food Control*. 2019. DOI: 10.1016/j.foodcont.2019.106710. 106 Article 10670.
3. Tarazona JV, et al. Glyphosate toxicity and carcinogenicity: a review of the scientific basis of the European Union assessment and its differences with IARC. *Arch. Toxicol.* 2017; 9: 12723–2743.
4. Szekacs A, Darvas B. Re-registration challenges of glyphosate in the European union. *Front Environ. Sci.* 2018; 6: 35.
5. Munford RS, Sheppard PO, O'Hara PJ. Saposin-like proteins (SAPLIP) carry out diverse functions on a common backbone structure. *J. Lipid Res.* 1995;36: 1653–1663.
6. Maurice CF, Haiser HJ, Turnbaugh PJ. Xenobiotics shape the physiology and gene expression of the active human gut microbiome. *Cell*. 2013;152(1-2): 39–50. DOI: 10.1016/j.cell.2012.10.052.
7. Sierra JM, Fuste E, Rabanal F, Vinuesa T, Vinas M. An overview of antimicrobial peptides and the latest advances in their development. *Expert Opin. Biol. Ther.* 2017;17: 663–676. DOI: 10.1080/14712598.2017.1315402.
8. Brogden K.A. Antimicrobial peptides: Pore formers or metabolic inhibitors in bacteria? *Nat. Rev. Microbiol.* 2005, 3, 238–250
9. Divyashree M, et al. Clinical applications of antimicrobial peptides (AMPs): where do we stand now? *Protein Pept. Lett.* 2020;27: 120–134. DOI: 10.2174/0929866526666190925152957.
10. Van Dijk A, Veldhuizen EJ, Haagsman HP. Avian defensins. *Vet Immunol Immunopathol.* 2008;124(1-2): 1–18. DOI: 10.1016/j.vetimm.2007.12.006.
11. Lynn DJ; Higgs R, Gaines S, Tierney J, James T, Lloyd AT, Fares MA, Mulcahy G, O'Farrelly C. Bioinformatic discovery and initial characterisation of nine novel antimicrobial peptide genes in the chicken. *Immunogenetics*. 2004;56: 170–177.
12. Michailidis G. Expression of chicken LEAP-2 in the reproductive organs and embryos and in response to *Salmonella enterica* infection. *Vet Res Commun.* 2010;34(5): 459–71. DOI: 10.1007/s11259-010-9420-3.
13. Bowdish DM, et al. Impact of LL-37 on anti-infective immunity. *J. Leukoc. Biol.* 2005;77: 451–459. DOI: 10.1189/jlb.0704380.
14. Boei JJWA, Vermeulen S, Klein B, et al. Xenobiotic metabolism in differentiated human bronchial epithelial cells. *Arch Toxicol.* 2017;91: 2093–2105. DOI: 10.1007/s00204-016-1868-7.
15. Firdous S, Iqbal S, Anwar S. Optimization and modeling of glyphosate biodegradation by a novel *Comamonas odontotermitis* P2 through response surface methodology. *Pedosphere*. 2017. DOI: 10.1016/S1002-0160(17)60381-3.
16. Егоров ИА, Манукян ВА, Ленкова ТН, и др. Методика проведения научных и производственных исследований по кормлению сельскохозяйственной птицы. Молекулярно-генетические методы определения микрофлоры кишечника. Сергиев Посад.: Весь Сергиев Посад. 2013.
17. Streptococcus spp., *Staphylococcus spp.*, и увеличению тяжести симптомов кокцидиозов у птиц. Введение в рацион пробиотика на основе штамма *Bacillus sp.* способствовало снижению экспрессии генов AvBD1, AvBD2, AvBD4 и AvBD6 на фоне потребления глифосатов. Вероятно, это связано с усилением у микробиоты кишечника, модифицированной пробиотиком, возможностей метаболизма глифосата, что могло действовать в качестве физического барьера. Кроме того, пробиотик мог изменять экспрессию ферментов детоксикации макроорганизма, участвующих в деструкции ксенобиотиков, что могло снизить токсичную нагрузку на организм птиц.
18. Тюрина D.G., Меликиди V.H., Okolelova T.M. et al. Glyphosate in poultry feed. *Poultry farming*. 2021;3:27–30 (In Russian)
19. Xu J, Shayna S, Smith G, Want W, Li Y. Glyphosate contamination in grains and foods: An overview. *Food Control*. 2019. DOI: 10.1016/j.foodcont.2019.106710. 106 Article 10670.
20. Tarazona JV, et al. Glyphosate toxicity and carcinogenicity: a review of the scientific basis of the European Union assessment and its differences with IARC. *Arch. Toxicol.* 2017; 9: 12723–2743.
21. Szekacs A, Darvas B. Re-registration challenges of glyphosate in the European union. *Front Environ. Sci.* 2018; 6: 35.
22. Munford RS, Sheppard PO, O'Hara PJ. Saposin-like proteins (SAPLIP) carry out diverse functions on a common backbone structure. *J. Lipid Res.* 1995;36: 1653–1663.
23. Maurice CF, Haiser HJ, Turnbaugh PJ. Xenobiotics shape the physiology and gene expression of the active human gut microbiome. *Cell*. 2013;152(1-2): 39–50. DOI: 10.1016/j.cell.2012.10.052.
24. Sierra JM, Fuste E, Rabanal F, Vinuesa T, Vinas M. An overview of antimicrobial peptides and the latest advances in their development. *Expert Opin. Biol. Ther.* 2017;17: 663–676. DOI: 10.1080/14712598.2017.1315402.
25. Brogden K.A. Antimicrobial peptides: Pore formers or metabolic inhibitors in bacteria? *Nat. Rev. Microbiol.* 2005, 3, 238–250
26. Divyashree M, et al. Clinical applications of antimicrobial peptides (AMPs): where do we stand now? *Protein Pept. Lett.* 2020;27: 120–134. DOI: 10.2174/0929866526666190925152957.
27. Van Dijk A, Veldhuizen EJ, Haagsman HP. Avian defensins. *Vet Immunol Immunopathol.* 2008;124(1-2): 1–18. DOI: 10.1016/j.vetimm.2007.12.006.
28. Lynn DJ; Higgs R, Gaines S, Tierney J, James T, Lloyd AT, Fares MA, Mulcahy G, O'Farrelly C. Bioinformatic discovery and initial characterisation of nine novel antimicrobial peptide genes in the chicken. *Immunogenetics*. 2004;56: 170–177.
29. Michailidis G. Expression of chicken LEAP-2 in the reproductive organs and embryos and in response to *Salmonella enterica* infection. *Vet Res Commun.* 2010;34(5): 459–71. DOI: 10.1007/s11259-010-9420-3.
30. Bowdish DM, et al. Impact of LL-37 on anti-infective immunity. *J. Leukoc. Biol.* 2005;77: 451–459. DOI: 10.1189/jlb.0704380.
31. Boei JJWA, Vermeulen S, Klein B, et al. Xenobiotic metabolism in differentiated human bronchial epithelial cells. *Arch Toxicol.* 2017;91: 2093–2105. DOI: 10.1007/s00204-016-1868-7.
32. Firdous S, Iqbal S, Anwar S. Optimization and modeling of glyphosate biodegradation by a novel *Comamonas odontotermitis* P2 through response surface methodology. *Pedosphere*. 2017. DOI: 10.1016/S1002-0160(17)60381-3.
33. Егоров И.А., Манукян В.А., Ленкова Т.Н. и др. Методология для научных и производственных исследований по кормлению сельскохозяйственной птицы. Молекулярно-генетические методы определения микрофлоры кишечника. Сергиев Посад.: Весь Сергиев Посад. 2013 (In Russian)

17. Livak KJ, Schmittgen TD. Analysis of Relative Gene Expression Data Using Real-Time Quantitative PCR and the $2^{-\Delta\Delta CT}$ Method. *Methods*. 2001;25(4): 402–408. DOI: 10.1006/meth.2001.1262.
18. Harwig SS, et al. Gallinacins: cysteine-rich antimicrobial peptides of chicken leukocytes. *FEBS Lett*. 1994;342: 281–285.
19. Motta EVS, Powell JE, Moran NA. Glyphosate induces immune dysregulation in honey bees. *Anim Microbiome*. 2022 Feb 22;4(1):16. doi: 10.1186/s42523-022-00165-0. PMID: 35193702; PMCID: PMC8862317
20. Йылдырым Е.А., Гроздина А.А., Вертипракхов В.Г., Ильина Л.А., Филиппова В.А., Лаптев Г.Ю., Бражник Е.А., Калиткина К.А., Тарлavin Н.В., Дубровин А.В., Новикова Н.И., Тюрина Д.Г. Экспрессия генов, ассоциированных с иммунитетом, в тканях слепых отростков кишечника и поджелудочной железы цыплят-бройлеров (*Gallus gallus L.*) при экспериментальном Т-2 токсикозе. *Сельскохозяйственная биология*. 2021;56(4):664-681.
21. Motzkus D, Schulz-Maronde S, Heitland A, Schulz A, Forssmann WG, Jubner M, Maronde E. The novel beta-defensin DEFB123 prevents lipopolysaccharide-mediated effects in vitro and in vivo. *FASEB J*. 2006;20(10): 1701-2. DOI: 10.1096/fj.05-4970fje.
22. Horam S, Raj S, Tripathi VC, et al. Xenobiotic Binding Domain of Glutathione S-Transferase Has Cryptic Antimicrobial Peptides. *Int J Pept Res Ther*. 2019;25: 1477–1489. DOI: 10.1007/s10989-018-9793-7.
23. Elsayed SI Mohammed et al. Effects of Probiotics on the Expression and Localization of Avian β -defensins in the Proventriculus of Broiler Chicks. *The Journal of Poultry Science*. 2015;52(1): 57-67. DOI: 10.2141/jpsa.0140114.
24. Van Dijk A, Veldhuizen EJ, Haagsman HP. Avian defensins. *Vet. Immunol. Immunopathol*. 2008;124: 1–18. DOI: 10.1016/j.vetimm.2007.12.006.
25. Xiao Y, et al. Identification and functional characterization of three chicken cathelicidins with potent antimicrobial activity. *J. Biol. Chem*. 2006;281: 2858–2867. DOI: 10.1074/jbc.M507180200.
26. Maarten Coorens, Albert van Dijk, Floris Bikker, Edwin JA Veldhuizen, and Henk P. Haagsman. Importance of Endosomal Cathelicidin Degradation To Enhance DNA-Induced Chicken Macrophage Activation. *J Immunol*. 2015; 195(8): 3970-3977. DOI: 10.4049/jimmunol.1501242.
27. Park BW, Ha JM, Cho EB, Jin JK, Park EJ, Park HR, Kang HJ, Ko SH, Kim KH, Kim KJ. A Study on Vitamin D and Cathelicidin Status in Patients with Rosacea: Serum Level and Tissue Expression. *Ann Dermatol*. 2018;30(2): 136–142. DOI: 10.5021/ad.2018.30.2.136.
28. Yamasaki K, Di Nardo A, Bardan A, Murakami M, Ohtake T, Coda A, et al. Increased serine protease activity and cathelicidin promotes skin inflammation in rosacea. *Nat Med*. 2007;13: 975–980.
29. Rainer BM, Kang S, Chien AL. Rosacea: Epidemiology, pathogenesis, and treatment. *Dermatoendocrinol*. 2017; 4(9):e1361574. doi: 10.1080/19381980.2017.1361574.
30. Li J, Han Y, Jin K, Wan Y, Wang S, Liu B, et al. Dynamic changes of cytotoxic T lymphocytes (CTLs), natural killer (NK) cells, and natural killer T (NKT) cells in patients with acute hepatitis B infection. *Virol. J*. 2011;8: 1–8.
31. Lin Q, Fu Q, Chen D, Yu B, Luo Y, Huang Z, Zheng P, Mao X, Yu J, Luo J, Yan H, He J. Functional Characterization of Porcine NK-Lysin: A Novel Immunomodulator That Regulates Intestinal Inflammatory Response. *Molecules*. 2021;13;26(14):4242. doi: 10.3390/molecules26144242.
32. Cole JN, Nizet V. Bacterial Evasion of Host Antimicrobial Peptide Defenses. *Microbiol Spectr*. 2016;4(1):10.1128/microbiolspec.VMBF-0006-2015. doi: 10.1128/microbiolspec.
33. Klein C, Entian KD. Genes involved in self-protection against the lantibiotic subtilin produced by *Bacillus subtilis* ATCC 6633. *Appl Environ Microbiol*. 1994;60(8):2793-801. doi: 10.1128/aem.60.8.2793-2801.1994.
34. Brogden KA. Antimicrobial peptides: Pore formers or metabolic inhibitors in bacteria? *Nat. Rev. Microbiol*. 2005;3: 238–250.
35. Lee SY, Nam YK. Gene structure and expression characteristics of liver-expressed antimicrobial peptide-2 isoforms in mud loach (*Misgurnus mizolepis*, Cypriniformes). *Fish Aquatic Sci*. 2017;20: 31. DOI: 10.1186/s41240-017-0076-6.
36. Townes CL, Michailidis G, Nile CJ, Hall J. Induction of cationic chicken liver-expressed antimicrobial peptide 2 in response to *Salmonella enterica* infection. *Infect. Immun*. 2004;72: 6987-6993.
37. Townes CL, Michailidis G, Hall J. The interaction of the antimicrobial peptide 2 cLEAP-2 and the bacterial membrane. *Biochem. Biophys*. 2009;387: 500-503.
38. Casterlow S, Li H, Gilbert ER, Dalloul RA, McElroy AP, Emmerson DA, Wong EA. An antimicrobial peptide is downregulated in the small intestine of *Eimeria maxima*-infected chickens. *Poultry Science*. 2011;90(6): 1212-1219. DOI: 10.3382/ps.2010-01110.
17. Livak KJ, Schmittgen TD. Analysis of Relative Gene Expression Data Using Real-Time Quantitative PCR and the $2^{-\Delta\Delta CT}$ Method. *Methods*. 2001;25(4): 402–408. DOI: 10.1006/meth.2001.1262.
18. Harwig SS, et al. Gallinacins: cysteine-rich antimicrobial peptides of chicken leukocytes. *FEBS Lett*. 1994;342: 281–285.
19. Motta EVS, Powell JE, Moran NA. Glyphosate induces immune dysregulation in honey bees. *Anim Microbiome*. 2022 Feb 22;4(1):16. doi: 10.1186/s42523-022-00165-0. PMID: 35193702; PMCID: PMC8862317
20. Yildirim E.A., Grozina A.A., Vertiprakhov V.G., Ilyina L.A., Filippova V.A., Laptev G.Y., Brazhnik E.A., Kalitkina K.A., Tarlavin N.V., Dubrovina A.V., Novikova N.I., Tyurina D.G. Expression of immune-associated genes in tissues of blind intestinal and pancreatic processes of broiler chickens (*Gallus gallus L.*) in experimental T-2 toxicosis. *Agricultural biology*. 2021;56(4): 664-681. (In Russian)/
21. Motzkus D, Schulz-Maronde S, Heitland A, Schulz A, Forssmann WG, Jubner M, Maronde E. The novel beta-defensin DEFB123 prevents lipopolysaccharide-mediated effects in vitro and in vivo. *FASEB J*. 2006;20(10): 1701-2. DOI: 10.1096/fj.05-4970fje.
22. Horam S, Raj S, Tripathi VC, et al. Xenobiotic Binding Domain of Glutathione S-Transferase Has Cryptic Antimicrobial Peptides. *Int J Pept Res Ther*. 2019;25: 1477–1489. DOI: 10.1007/s10989-018-9793-7.
23. Elsayed SI Mohammed et al. Effects of Probiotics on the Expression and Localization of Avian β -defensins in the Proventriculus of Broiler Chicks. *The Journal of Poultry Science*. 2015;52(1): 57-67. DOI: 10.2141/jpsa.0140114.
24. Van Dijk A, Veldhuizen EJ, Haagsman HP. Avian defensins. *Vet. Immunol. Immunopathol*. 2008;124: 1–18. DOI: 10.1016/j.vetimm.2007.12.006.
25. Xiao Y, et al. Identification and functional characterization of three chicken cathelicidins with potent antimicrobial activity. *J. Biol. Chem*. 2006;281: 2858–2867. DOI: 10.1074/jbc.M507180200.
26. Maarten Coorens, Albert van Dijk, Floris Bikker, Edwin JA Veldhuizen, and Henk P. Haagsman. Importance of Endosomal Cathelicidin Degradation To Enhance DNA-Induced Chicken Macrophage Activation. *J Immunol*. 2015; 195(8): 3970-3977. DOI: 10.4049/jimmunol.1501242.
27. Park BW, Ha JM, Cho EB, Jin JK, Park EJ, Park HR, Kang HJ, Ko SH, Kim KH, Kim KJ. A Study on Vitamin D and Cathelicidin Status in Patients with Rosacea: Serum Level and Tissue Expression. *Ann Dermatol*. 2018;30(2): 136–142. DOI: 10.5021/ad.2018.30.2.136.
28. Yamasaki K, Di Nardo A, Bardan A, Murakami M, Ohtake T, Coda A, et al. Increased serine protease activity and cathelicidin promotes skin inflammation in rosacea. *Nat Med*. 2007;13: 975–980.
29. Rainer BM, Kang S, Chien AL. Rosacea: Epidemiology, pathogenesis, and treatment. *Dermatoendocrinol*. 2017; 4(9):e1361574. doi: 10.1080/19381980.2017.1361574.
30. Li J, Han Y, Jin K, Wan Y, Wang S, Liu B, et al. Dynamic changes of cytotoxic T lymphocytes (CTLs), natural killer (NK) cells, and natural killer T (NKT) cells in patients with acute hepatitis B infection. *Virol. J*. 2011;8: 1–8.
31. Lin Q, Fu Q, Chen D, Yu B, Luo Y, Huang Z, Zheng P, Mao X, Yu J, Luo J, Yan H, He J. Functional Characterization of Porcine NK-Lysin: A Novel Immunomodulator That Regulates Intestinal Inflammatory Response. *Molecules*. 2021;13;26(14):4242. doi: 10.3390/molecules26144242.
32. Cole JN, Nizet V. Bacterial Evasion of Host Antimicrobial Peptide Defenses. *Microbiol Spectr*. 2016;4(1):10.1128/microbiolspec.VMBF-0006-2015. doi: 10.1128/microbiolspec.
33. Klein C, Entian KD. Genes involved in self-protection against the lantibiotic subtilin produced by *Bacillus subtilis* ATCC 6633. *Appl Environ Microbiol*. 1994;60(8):2793-801. doi: 10.1128/aem.60.8.2793-2801.1994.
34. Brogden KA. Antimicrobial peptides: Pore formers or metabolic inhibitors in bacteria? *Nat. Rev. Microbiol*. 2005;3: 238–250.
35. Lee SY, Nam YK. Gene structure and expression characteristics of liver-expressed antimicrobial peptide-2 isoforms in mud loach (*Misgurnus mizolepis*, Cypriniformes). *Fish Aquatic Sci*. 2017;20: 31. DOI: 10.1186/s41240-017-0076-6.
36. Townes CL, Michailidis G, Nile CJ, Hall J. Induction of cationic chicken liver-expressed antimicrobial peptide 2 in response to *Salmonella enterica* infection. *Infect. Immun*. 2004;72: 6987-6993.
37. Townes CL, Michailidis G, Hall J. The interaction of the antimicrobial peptide 2 cLEAP-2 and the bacterial membrane. *Biochem. Biophys*. 2009;387: 500-503.
38. Casterlow S, Li H, Gilbert ER, Dalloul RA, McElroy AP, Emmerson DA, Wong EA. An antimicrobial peptide is downregulated in the small intestine of *Eimeria maxima*-infected chickens. *Poultry Science*. 2011;90(6): 1212-1219. DOI: 10.3382/ps.2010-01110.

ОБ АВТОРАХ:

- Дарья Георгиевна Тюрина,** кандидат экономических наук, заместитель директора по финансам ООО «БИОТРОФ», ул. Малиновская, д. 8, г. Санкт-Петербург, г. Пушкин, 196602, Российская Федерация
E-mail: tiurina@biotrof.ru
<https://orcid.org/0000-0001-9001-2432>
- Георгий Юрьевич Лаптев,** доктор биологических наук, генеральный директор ООО «БИОТРОФ+», бульвар Загребский, д. 19, г. Санкт-Петербург, 192284, Российской Федерации
E-mail: laptev@biotrof.ru
<https://orcid.org/0000-0002-8795-6659>
- Елена Александровна Йылдырым,** доктор биологических наук, главный биотехнолог молекулярно-генетической лаборатории ООО «БИОТРОФ+», бульвар Загребский, д. 19, г. Санкт-Петербург, 192284, Российской Федерации
E-mail: deniz@biotrof.ru
<https://orcid.org/0000-0002-5846-5105>
- Лариса Александровна Ильина,** кандидат биологических наук, начальник молекулярно-генетической лаборатории ООО «БИОТРОФ+», бульвар Загребский, д. 19, г. Санкт-Петербург, 192284, Российской Федерации
E-mail: ilina@biotrof.ru
<https://orcid.org/0000-0003-2789-4844>
- Валентина Анатольевна Филиппова,** биотехнолог молекулярно-генетической лаборатории ООО «БИОТРОФ+», бульвар Загребский, д. 19, г. Санкт-Петербург, 192284, Российской Федерации
E-mail: filippova@biotrof.ru
<https://orcid.org/0000-0001-8789-9837>
- Евгений Александрович Бражник,** контролер по качеству ООО «БИОТРОФ», ул. Малиновская, д. 8, г. Санкт-Петербург, г. Пушкин, 196602, Российской Федерации
E-mail: vetdoctor@biotrof.ru
<https://orcid.org/0000-0003-2178-9330>
- Ксения Андреевна Калиткина,** биотехнолог молекулярно-генетической лаборатории ООО «БИОТРОФ», ул. Малиновская, д. 8, г. Санкт-Петербург, г. Пушкин, 196602, Российской Федерации
E-mail: kseniya.k.a@biotrof.ru
<https://orcid.org/0000-0002-9541-6839>
- Екатерина Сергеевна Пономарева,** биотехнолог молекулярно-генетической лаборатории ООО «БИОТРОФ», ул. Малиновская, д. 8, г. Санкт-Петербург, г. Пушкин, 196602, Российской Федерации
E-mail: kate@biotrof.ru
<https://orcid.org/0000-0002-4336-8273>
- Андрей Валерьевич Дубровин,** кандидат ветеринарных наук, биотехнолог молекулярно-генетической лаборатории ООО «БИОТРОФ», ул. Малиновская, д. 8, г. Санкт-Петербург, г. Пушкин, 196602, Российской Федерации
E-mail: dubrowin.a.v@yandex.ru
<https://orcid.org/0000-0001-8424-4114>
- Наталья Ивановна Новикова,** заместитель директора ООО «БИОТРОФ», ул. Малиновская, д. 8, г. Санкт-Петербург, г. Пушкин, 196602, Российской Федерации
E-mail: novikova@biotrof.ru
<https://orcid.org/0000-0002-9647-4184>
- Дмитрий Андреевич Ахматчин,** менеджер по продажам ООО «БИОТРОФ», ул. Малиновская, д. 8, г. Санкт-Петербург, г. Пушкин, 196602, Российской Федерации
E-mail: da@biotrof.ru
<https://orcid.org/0000-0002-5264-1753>
- Виталий Владимирович Молотков,** менеджер по продажам ООО «БИОТРОФ», ул. Малиновская, д. 8, г. Санкт-Петербург, г. Пушкин, 196602, Российской Федерации
E-mail: molotkov@biotrof.ru
<https://orcid.org/0000-0002-6196-6226>
- Вероника Христофоровна Меликиди,** ведущий биотехнолог-разработчик ООО «БИОТРОФ», ул. Малиновская, д. 8, г. Санкт-Петербург, г. Пушкин, 196602, Российской Федерации
E-mail: veronika@biotrof.ru
<https://orcid.org/0000-0002-2883-3974>
- Елена Павловна Горфункель,** контролер по качеству ООО «БИОТРОФ», ул. Малиновская, д. 8, г. Санкт-Петербург, г. Пушкин, 196602, Российской Федерации
E-mail: elena@biotrof.ru

ABOUT THE AUTHORS:

Daria Georgievna Tyurina, PhD of Economic Sciences, Deputy Director of Financial BIOTROF LLC, 8 Malinovskaya, str., St. Petersburg, Pushkin, 196602, Russian Federation
E-mail: tiurina@biotrof.ru
<https://orcid.org/0000-0001-9001-2432>

Georgiy Yurievich Laptev, Doctor of Biological Sciences, CEO of BIOTROF+ LLC, 19, Zagrebsky Boulevar, St. Petersburg, 192284, Russian Federation
E-mail: laptev@biotrof.ru
<https://orcid.org/0000-0002-8795-6659>

Elena Aleksandrovna Yildirim, Doctor of Biological Sciences, Chief Biotechnologist of the Molecular Genetic Laboratory of BIOTROF+ LLC, 19, Zagrebsky Boulevar, St. Petersburg, 192284, Russian Federation
E-mail: deniz@biotrof.ru
<https://orcid.org/0000-0002-5846-5105>

Larisa Aleksandrovna Ilyina, PhD of Biological Sciences, Head of the Molecular Genetic Laboratory of BIOTROF+ LLC, 19, Zagrebsky Boulevar, St. Petersburg, 192284, Russian Federation
E-mail: ilina@biotrof.ru
<https://orcid.org/0000-0003-2789-4844>

Valentina Anatolievna Filippova, biotechnologist of the molecular genetic laboratory of BIOTROF+ LLC, 19, Zagrebsky Boulevar, St. Petersburg, 192284, Russian Federation
E-mail: filippova@biotrof.ru
<https://orcid.org/0000-0001-8789-9837>

Evgeny Aleksandrovich Brazhnik, quality control specialist of BIOTROF LLC, 8 Malinovskaya, str., St. Petersburg, Pushkin, 196602, Russian Federation
E-mail: vetdoctor@biotrof.ru
<https://orcid.org/0000-0003-2178-9330>

Kseniya Andreevna Kalitkina, biotechnologist of the molecular genetic laboratory of BIOTROF LLC, 8 Malinovskaya, str., St. Petersburg, Pushkin, 196602, Russian Federation
E-mail: kseniya.k.a@biotrof.ru
<https://orcid.org/0000-0002-9541-6839>

Ekaterina Sergeevna Ponomareva, biotechnologist of the molecular genetic laboratory of BIOTROF LLC, 8 Malinovskaya, str., St. Petersburg, Pushkin, 196602, Russian Federation
E-mail: kate@biotrof.ru
<https://orcid.org/0000-0002-4336-8273>

Andrey Valerevich Dubrovin, PhD of Veterinary Sciences, biotechnologist of the molecular genetic laboratory of BIOTROF LLC, 8 Malinovskaya, str., St. Petersburg, Pushkin, 196602, Russian Federation
E-mail: dubrowin.a.v@yandex.ru
<https://orcid.org/0000-0001-8424-4114>

Natalya Ivanovna Novikova, Deputy Director of BIOTROF LLC, 8 Malinovskaya, str., St. Petersburg, Pushkin, 196602, Russian Federation
E-mail: novikova@biotrof.ru
<https://orcid.org/0000-0002-9647-4184>

Dmitriy Andreevich Akhmatchin, sales-manager of BIOTROF LLC, 8 Malinovskaya, str., St. Petersburg, Pushkin, 196602, Russian Federation
E-mail: da@biotrof.ru
<https://orcid.org/0000-0002-5264-1753>

Vitaliy Vladimirovich Molotkov, sales-manager of BIOTROF LLC, 8 Malinovskaya, str., St. Petersburg, Pushkin, 196602, Russian Federation
E-mail: molotkov@biotrof.ru
<https://orcid.org/0000-0002-6196-6226>

Veronika Khristoforovna Melikidi, leading biotechnologist-developer of BIOTROF LLC, 8 Malinovskaya, str., St. Petersburg, Pushkin, 196602, Russian Federation
E-mail: veronika@biotrof.ru
<https://orcid.org/0000-0002-2883-3974>

Elena Pavlovna Gorfunkel, quality control specialist, LLC BIOTROF, 8 Malinovskaya, str., St. Petersburg, Pushkin, 196602, Russian Federation
E-mail: elena@biotrof.ru