

Е.А. Йылдырым¹, ✉
Л.А. Ильина¹,
Г.Ю. Лаптев¹,
В.А. Филиппова¹,
А.В. Дубровин¹,
Д.Г. Тюрина¹,
К.А. Калиткина¹,
А.С. Дубровина¹,
Е.С. Пономарева¹,
В.И. Фисинин²,
И.А. Егоров²,
Т.А. Егорова²,
В.А. Манукян²,
Т.Н. Ленкова²,
О.Н. Дегтярева²

¹ ООО «БИОТРОФ+», Санкт-Петербург, Россия

² Всероссийский научно-исследовательский и технологический институт птицеводства, Москва, Россия

✉ deniz@biotrof.ru

Поступила в редакцию:
03.04.2023

Одобрена после рецензирования:
15.08.2023

Принята к публикации:
28.08.2023

Elena A. Yildirim¹, ✉
Larisa A. Ilina¹,
George Y. Laptev¹,
Valentina A. Filippova¹,
Andrey V. Dubrovin¹,
Darya G. Tiurina¹,
Ksenya A. Kalitkina¹,
Alisa S. Dubrovina¹,
Ekaterina S. Ponomareva¹,
Vladimir I. Fisinin²,
Ivan A. Egorov²,
Tatiana A. Egorova²,
Vardges A. Manukyan²,
Tatyana N. Lenkova²,
Olga N. Degtyareva²

¹ «БИОТРОФ+» Ltd, Saint-Petersburg, Russia

² All-Russian Research and Technological Poultry Institute, Moscow, Russia

✉ deniz@biotrof.ru

Received by the editorial office:
03.04.2023

Accepted in revised:
15.08.2023

Accepted for publication:
28.08.2023

Экспрессия ключевых генов в слепой кишке у кур линий CM5 и CM9 мясного кросса «Смена 9» на фоне замены рыбной муки

РЕЗЮМЕ

Актуальность. Зависимость от рыбной муки сдерживает развитие птицеводства. Цель исследования — анализ экспрессии ключевых генов у родительского поголовья *Gallus gallus* L. линий CM5 и CM9 мясного кросса «Смена 9» на фоне рационов с заменой рыбной муки.

Методы. Проведены опыты на курах линий CM5 и CM9: группы 1А и 1Б получали основной рацион (ОР), 2А и 2Б — ОР с заменой рыбной муки продуктами переработки сои, 3А и 3Б — ОР с заменой рыбной муки продуктами переработки подсолнечника, 4А и 4Б — ОР с заменой рыбной муки продуктами переработки сои и подсолнечника в соотношении 50:50. Анализ экспрессии генов проводили с помощью количественной ПЦР с обратной транскрипцией.

Результаты. Наиболее выраженные изменения в уровнях экспрессии ключевых генов на фоне замены рыбной муки на продукты переработки сои и подсолнечника касались материнской линии плимутрок CM9 по сравнению с отцовской линией корниш CM5. Так, экспрессия мРНК *SOD* в группах 2Б, 3Б и 4Б уменьшалась в 14,3–100 раз по сравнению с контролем 1Б ($p \leq 0,05$), тогда как в опыте на линии CM5 экспрессия гена *SOD* в опытных группах 2А и 3А уменьшалась не более чем в 3,5 раза по сравнению с контролем 1А ($p \leq 0,05$). Во всех опытных группах зоотехнические показатели мясной и яичной продуктивности отмечались на уровне контрольных групп ($p > 0,05$).

Ключевые слова: «Смена 9», мясной кросс, экспрессия генов, количественная ПЦР с обратной транскрипцией, рыбная мука, соя, подсолнечник

Для цитирования: Йылдырым Е.А. и др. Экспрессия ключевых генов в слепой кишке у кур линий CM5 и CM9 мясного кросса «Смена 9» на фоне замены рыбной муки. *Аграрная наука*. 2023; 374(9): 52–58. <https://doi.org/10.32634/0869-8155-2023-374-9-52-58>

© Йылдырым Е.А., Ильина Л.А., Лаптев Г.Ю., Филиппова В.А., Дубровин А.В., Тюрина Д.Г., Калиткина К.А., Дубровина А.С., Пономарева Е.С., Фисинин В.И., Егоров И.А., Егорова Т.А., Манукян В.А., Ленкова Т.Н., Дегтярева О.Н.

Expression of key genes in the caecum in CM5 and CM9 chickens of the meat cross «Smena 9» against the background of the replacement of fishmeal

ABSTRACT

Relevance. Dependence on fishmeal hinders the development of the poultry industry. The aim of the study was to analyze the expression of key genes in the parent stock of *Gallus gallus* L. lines CM5 and CM9 of the meat cross «Smena 9» on the background of diets with the replacement of fish meal.

Methods. Experiments were carried out on CM5 and CM9 chickens: groups 1A and 1B received the main diet (MD), 2A and 2B — MD with the replacement of fish meal with soy products, 3A and 3B — MD with the replacement of fish meal with sunflower products, 4A and 4B — MD with the replacement of fishmeal with soybean and sunflower products at a ratio of 50:50. Gene expression analysis was performed using quantitative reverse transcription PCR.

Results. The most pronounced changes in the levels of expression of key genes against the background of the replacement of fishmeal with soybean and sunflower processed products concerned the maternal line Plymouth Rock CM9 compared to the paternal line Cornish CM5. Thus, the expression of *SOD* mRNA in groups 2B, 3B and 4B decreased by 14.3–100 times compared with control 1B ($p \leq 0.05$). Whereas in the experiment on the CM5 line, the expression of the *SOD* gene in the experimental groups 2A and 3A decreased by no more than 3.5 times compared with the control 1A ($p \leq 0.05$). In all experimental groups, zootechnical indicators of meat and egg productivity were noted at the level of control groups ($p > 0.05$).

Key words: «Smena 9», meat-type cross, gene expression, quantitative reverse transcription PCR, fishmeal, soy, sunflower

For citation: Yildirim E.A. and other. Expression of key genes in the caecum in CM5 and CM9 chickens of the meat cross «Smena 9» against the background of the replacement of fishmeal. *Agrarian science*. 2023; 374(9): 52–58 (In Russian). <https://doi.org/10.32634/0869-8155-2023-374-9-52-58>

© Yildirim E.A., Ilina L.A., Laptev G.Y., Filippova V.A., Dubrovin A.V., Turina D.G., Kalitkina K.A., Dubrovina A.S., Ponomareva E.S., Fisinin V.I., Egorov I.A., Egorova T.A., Manukyan V.A., Lenkova T.N., Degtyareva O.N.

Введение/Introduction

В настоящее время производство рыбной муки, которая является основным источником белка в рационах сельскохозяйственной птицы, снижается, а потребность в ней у отрасли птицеводства увеличивается [1]. Зависимость от дорогостоящей рыбной муки — один из рисков для отрасли, поэтому для устойчивого развития птицеводства актуален поиск альтернативных источников белка. Соевый шрот — наиболее подходящая альтернатива для кормления птицы из-за высокого содержания белка, сбалансированности незаменимых аминокислот в составе и более низкой стоимости [2]. Однако присутствие в соевом шроте ряда антипитательных факторов (уреазы, ингибитора трипсина, соевого лектина, фитиновой кислоты, сапонинов, фитоэстрогенов и др.) может приводить к нежелательным эффектам на переваримость, усвоение питательных веществ, вызывать повреждение тканей организма [3]. Помимо этого, в качестве альтернативы рыбной муке представляет интерес шрот подсолнечный, который является побочным продуктом экстракции масла из семян подсолнечника (*Helianthus annuus*). Он содержит в своем составе меньше антипитательных факторов, кроме танина и фитиновой кислоты, по сравнению с другими шротами из масличных культур [4]. Кроме того, он богат серосодержащими аминокислотами.

Результаты ряда экспериментов [5] продемонстрировали, что птица нового отечественного кросса «Смена 9» может эффективно применяться в мясном птицеводстве. О зоотехнической характеристике отцовской линии корниш CM5 и материнской линии плимутрок CM9 кросса «Смена 9» известно, что главные селекционные признаки CM5 — высокая живая масса, обмускуленность груди и ног при сниженной оплодотворенности яиц и выводе цыплят [6]. CM9, напротив, имеют превосходство по яйценоскости, массе яиц, выходу цыплят, срокам наступления половой зрелости, жизнеспособности при меньшей скорости прироста живой массы молодняка и более высоких значениях коэффициента конверсии корма [7].

В ряде опытов на сельскохозяйственной птице показано, что продуктивные параметры животных и птицы могут быть связаны с различными внутриклеточными механизмами, включая экспрессию мРНК [8]. Доказано также влияние состава рациона на экспрессию генов сельскохозяйственной птицы [9, 10]. Известно, что в слепых отростках кишечника птицы экспрессируется множество генов, которые связаны с жизненно важными функциями организма [11]. Благодаря пищеварительной системе происходит взаимодействие организма птицы с окружающей средой, формируется устойчивость к заболеваниям и изменениям условий кормления, что в результате влияет на показатели продуктивности.

В настоящее время отсутствуют исследования по оценке влияния продуктов переработки сои и подсолнечника (в качестве альтернативы рыбной муке) на экспрессию жизненно важных генов у линий CM5 и CM9 нового мясного кросса «Смена 9». Поиск связи между ингредиентным составом кормов, генетическим фоном птицы, продуктивностью и уровнем экспрессии ключевых генов может помочь раскрыть новые физиологические механизмы, связанные с высокой

Таблица 1. Схема опыта на линиях CM5 и CM9 родительского поголовья кур (*Gallus gallus* L.) кросса «Смена 9» селекции СГЦ «Смена» (Московская обл.)
Table 1. Scheme of the experiment on the SM5 and SM9 parent lines of the «Smena 9» cross (*Gallus gallus* L.) from the «Smena» breeding center (Moscow region)

Группа		Особенности кормления
Линия CM5	Линия CM9	
1А — контрольная	1Б — контрольная	Основной рацион (ОР) относительно «Руководства по работе с птицей мясного кросса "Смена 9"».
2А — опытная	2Б — опытная	ОР с заменой рыбной муки продуктами переработки сои.
3А — опытная	3Б — опытная	ОР с заменой рыбной муки продуктами переработки подсолнечника.
4А — опытная	4Б — опытная	ОР с заменой рыбной муки продуктами переработки сои и подсолнечника в соотношении 50:50.

продуктивностью, а также способствовать разработке и оптимизации составов рационов [12].

Цель исследования — анализ экспрессии генов, связанных с антиоксидантной защитой, иммунитетом, воспалением, апоптозом и продуктивностью в тканях слепых отростков кишечника у родительского поголовья *Gallus gallus* L. линий CM5 и CM9 мясного кросса «Смена 9» на фоне рационов с заменой рыбной муки на продукты переработки сои и подсолнечника.

Материалы и методы исследования / Materials and methods

Эксперименты проводили в виварии СГЦ «Загорское ЭПХ» (Московская обл., Россия) в 2022 г. на двух линиях родительского поголовья кур (*Gallus gallus* L.) отечественного кросса «Смена 9» селекции СГЦ «Смена» (Московская обл.) — отцовской линии CM5 породы корниш и материнской линии CM9 породы плимутрок. При постановке эксперимента были соблюдены требования Европейской конвенции о защите позвоночных животных, используемых для экспериментов или в иных научных целях (ETS № 123, Страсбург, 1986)¹.

Условия содержания соответствовали требованиям². В возрасте 26 недель из несушек сформировали восемь групп (по три головы в каждой) с близкой живой массой (табл. 1).

Рецепты комбикормов для птиц различных контрольных и опытных групп представлены в таблице 2.

Мясную и яичную продуктивность птиц кросса «Смена 9» учитывали согласно методикам³. Определяли естественную резистентность организма (бактерицидная активность, включая лизоцимную) [13, 14].

В конце эксперимента птицу декапитировали и проводили отбор тканей слепых отростков кишечника для анализа экспрессии генов. Анализ экспрессии генов проводили с помощью количественной ПЦР с обратной транскрипцией. РНК выделяли из образцов тканей с использованием мини-набора Aurum™ Total RNA (Bio-Rad, Hercules, CA, USA), следуя инструкциям производителя. Реакцию обратной транскрипции проводили для получения кДНК на матрице РНК с использованием iScript™ Reverse Transcription Supermix (Bio-Rad). Для анализа экспрессии мРНК были выбраны специфические праймеры для следующих исследованных генов иммунитета: *IRF7*, *Gal9*, *Gal10*; антиоксидантной защиты: *CAT*, *SOD*;

¹ Европейская конвенция о защите позвоночных животных, используемых для экспериментов или в иных научных целях. Страсбург, 18 марта 1986 года. <https://base.garant.ru/4090914/>

² Методика проведения научных и производственных исследований по кормлению сельскохозяйственной птицы. Молекулярно-генетические методы определения микрофлоры кишечника / под общ. ред. В. И. Фисинина. Сергиев Посад: ВНИТИП. 2013.

³ Методика проведения исследований по технологии производства яиц и мяса птицы / под ред. В. С. Лукашенко. Сергиев Посад: ВНИТИП. 2015; 103.

Таблица 2. Рецепты комбикормов в опытах на линиях CM5 и CM9 родительского поголовья кур (Gallus gallus L.) кросса «Смена 9» селекции СГЦ «Смена» (Московская обл.), %
Table 2. Feed recipes in experiments on SM5 and SM9 parent lines of the «Smena 9» cross (Gallus gallus L.) from the «Smena» breeding center (Moscow region), %

Показатель	Опытные группы			
	1А, 1Б	2А, 2Б	3А, 3Б	4А, 4Б
Пшеница	40,19	42,42	28,72	36,82
Кукуруза	20,94	22,08	25,0	23,45
Овес	7,0	7,0	7,0	7,0
Жмых подсолнечный	11,0	–	28,18	11,0
Соевый шрот	9,19	18,01	–	11,0
Мука рыбная	1,5	–	–	–
Масло соевое	1,0	1,03	1,50	1,20
Известняк	6,91	7,00	7,00	7,00
Монокальций фосфат	1,21	1,39	1,28	1,35
Премикс	0,5	0,5	0,5	0,5
Соль поваренная	0,29	0,34	0,30	0,33
Лизина сульфат	0,10	0,01	0,36	0,15
Родимет АТ88	0,07	0,12	0,04	0,09
Треонин	0,01	0,01	0,03	0,02
Холин-хлорид	0,08	0,08	0,08	0,08
Фермент ФЕКОРД 2012-С	0,01	0,01	0,01	0,01
Итого, %	100	100	100	100
Сырой протеин	15,5	15,5	15,5	15,5
Сырая клетчатка	4,9	3,62	7,1	5,0
Лизин усвояемый	0,63	0,63	0,63	0,63
Метионин усвояемый	0,32	0,32	0,32	0,32
Метионин + цистин усвояемый	0,56	0,56	0,56	0,56
Треонин усвояемый	0,47	0,47	0,47	0,47
Триптофан усвояемый	0,17	0,17	0,16	0,17
Кальций	3,0	3,0	3,0	3,0
Фосфор общий	0,71	0,66	0,79	0,71
Фосфор доступный	0,40	0,40	0,40	0,40
Натрий	0,15	0,15	0,15	0,15
Хлор	0,24	0,25	0,25	0,25
Обменная энергия, ккал	270	270	270	270

продуктивности: SGLT2; воспаления и апоптоза: Casp6, PTGS2. В качестве референсного контроля использовали праймеры на ген «домашнего хозяйства» — белка бета-актина (ACTB). Праймеры, использованные при анализе экспрессии изученных генов, представлены в таблице 3.

Реакции амплификации проводили с использованием SsoAdvanced™ Universal SYBR® Green Supermix (Bio-Rad, США) в соответствии с протоколом производителя и амплификатором детектирующим ДТлайт (ДНК-Технология, Россия). Режим и условия амплификации были следующими: 5 мин. при 95 °С (предварительный прогрев); 30 сек. при 95 °С, 30 сек. при 60 °С, 30 сек. при 70 °С (40 циклов). Оценка относительного уровня экспрессии проводилась с использованием метода, предложенного Livak и Schmittgen [15].

Математическую и статистическую обработку результатов осуществляли методом многофакторного дисперсионного анализа (ANOVA) в программах Microsoft Excel XP/2003, R-Studio v. 1.1.453 (<https://rstudio.com>, США). Достоверность различий устанавливали по t-критерию Стьюдента, различия считали статистически значимыми при $p \leq 0,05$. Средние значения сравнивались с использованием теста достоверно значимой разницы Тьюки (HSD) и функции TukeyHSD в пакете R Stats Package (США).

Таблица 3. Праймеры, использованные при изучении экспрессии генов у птиц (Gallus gallus L.) линий CM5 и CM9 нового мясного кросса «Смена 9»
Table 3. Primers used in the study of gene expression in poultry (Gallus gallus L.) of the SM5 and SM9 lines of the new meat-type cross «Smena 9»

Ген, его продукт	Последовательность праймеров (5' → 3')
Гены, связанные с антиоксидантной защитой	
CAT, каталаза	F: ACCAAGTACTGCAAGGCCGAA, R: TGAGGGTTCCTCTTCTGGCT
SOD, супероксиддисмутаза	F: CGGGCCAGTAAAGGTTACTGGAA, R: TGTTGTCTCCAAATTCATGCACATG
Гены, связанные с иммунитетом	
IRF7, регуляторный фактор интерферона 7	F: ATCCCTTGAAGCACAACGCC, R: CTGAGGCAACCGCTAGACCTT
AvBD9 (Gal9), β-дефензин 9	F: AACACCGTCAGGCATCTTCACA, R: CGTCTTCTGGCTGTAAGCTGGA
AvBD10 (Gal10), β-дефензин 10	F: GCTCTTCGCTGTCTCCTCT, R: CCAGAGATGGTGAAGGTG
Гены, связанные с воспалением и апоптозом	
PTGS2, простагландин-эндопероксидсинтаза	F: TCGAGATCACACTTGATTGACA, R: TTTGTGCTTGTGGGTCAG
Casp6, каспаза 6	F: CAGAGGAGACAAGTGCCAGA, R: CCAGGAGCCGTTTACAGTTT
Гены, связанные с продуктивностью	
SGLT2, натрий-глюкозного котранспортер 2-го типа	F: ACCAAGTACTGCAAGGCCGAA, R: TGAGGGTTCCTCTTCTGGCT

Результаты и обсуждение / Results and discussion

В экспериментах на линиях CM5 и CM9 родительского поголовья кур кросса «Смена 9» установлено, что сохранность поголовья за период опыта (26–47 недель) находилась на уровне 96–100% и не имела достоверных различий между группами ($p > 0,05$) (табл. 4). Кроме того, применение комбикормов растительного типа с разными источниками белка (группы 2А, 3А, 4А, 2Б, 3Б, 4Б) не сказалось отрицательно на показателях яйценоскости и живой массы птицы как по линии CM5, так и по линии CM9 ($p > 0,05$). Так, в 47-недельном возрасте живая масса несушек породы корниш находилась от $3799 \pm 30,1$ до $3840 \pm 27,7$ г, а по курам породы плимутрок — от $3700 \pm 31,2$ до $3725 \pm 27,9$ г.

Таблица 4. Зоотехнические параметры и показатели естественной резистентности линий CM5 и CM9 родительского поголовья кур (Gallus gallus L.) кросса «Смена 9» (Московская обл.)

Table 4. Zootechnical parameters and indicators of natural resistance of the SM5 and SM9 lines of the parent stock (Gallus gallus L.) of the «Smena 9» cross (Moscow region)

Показатели	Опытные группы							
	Линия CM5				Линия CM9			
	1А	2А	3А	4А	1Б	2Б	3Б	4Б
Зоотехнические показатели за 21 неделю продуктивного периода (26–47 недель жизни)								
Сохранность поголовья, %	96,0	96,0	92,0	92,0	96,0	96,0	96,0	100,0
Живая масса, г: в 26 недель	3620 ± 31,1	3672 ± 27,7	3700 ± 27,8	3720 ± 22,9	3505 ± 30,4	3516 ± 34,4	3511 ± 30,2	3510 ± 31,1
в 47 недель	3840 ± 27,7	3799 ± 30,1	3820 ± 27,3	3827 ± 25,5	3720 ± 30,3	3700 ± 31,2	3725 ± 27,9	3715 ± 29,3
Яйценоскость, шт.	64	63	61	65	106	106	103	107
Показатели естественной резистентности в 36 недель жизни								
Лизоцимная активность сыворотки крови, %	38,17 ± 0,17	37,91 ± 0,21	35,02 ± 0,24***	38,08 ± 0,17	37,42 ± 0,19	36,77 ± 0,25	36,17 ± 0,24*	37,22 ± 0,16
Бактерицидная активность сыворотки крови, %	54,47 ± 0,19	54,25 ± 0,14	52,17 ± 0,20***	54,04 ± 0,16	55,21 ± 0,18	54,99 ± 0,22	53,27 ± 0,20**	55,02 ± 0,17

Различия с соответствующими контрольными группами достоверны при: * $p \leq 0,05$, ** $p \leq 0,01$, *** $p \leq 0,001$.

При полной замене рыбной муки продуктами переработки подсолнечника (группы 3А и 3Б) показатели лизоцимной и бактерицидной активности сыворотки крови на пике продуктивности мясных кур пород корниш и плимутрок имели достоверное снижение ($p \leq 0,05$). Лизоцимная и бактерицидная активность сыворотки крови имеет связь с содержанием врожденных иммунных медиаторов (лизоцима, бактерицидных характеристик крови и т. д.). Данные показатели сыворотки тесно связаны с ответом на инфекцию и широко используются для оценки состояния здоровья. Антимикробные элементы крови обеспечивают быстрые ответы на патогены, поэтому в дальнейшем снижение их выработки в организме может привести к уменьшению устойчивости в ситуациях контакта с возбудителями инфекционных заболеваний [16].

Результаты анализа методом количественной ПЦР с обратной транскрипцией показали, что в большинстве опытных групп (как в вариантах с линией CM5, так и с линией CM9) происходило снижение ($p \leq 0,05$) в тканях слепых отростков кишечника по сравнению с контрольными группами 1А и 1Б экспрессии генов *SOD* и *CAT*, связанных с антиоксидантной защитой организма птиц (рис. 1). Дело в том, что антиоксидантные ферменты супероксиддисмутаза (*SOD*) и каталаза (*CAT*), которые отвечают за радикальную детоксикацию на начальном этапе, создают первый уровень защиты от чужеродных агентов [17]. Производство свободных радикалов, нарушение антиоксидантной защиты и окислительный стресс являются ведущими причинами пагубных последствий стресса у сельскохозяйственной птицы [18], поэтому снижение экспрессии генов *SOD* и *CAT* под влиянием изменения состава рациона в некоторых опытных группах в нашем эксперименте может иметь негативные последствия для организма птиц. Ранее подобных исследований на сельскохозяйственной птице не проводилось. Тем не менее

Рис. 1. Уровень экспрессии генов, связанных с антиоксидантной защитой, в слепых отростках кишечника кур (* отличия от контрольной группы при $p \leq 0,05$, *** отличия от контрольной группы при $p \leq 0,001$)

Fig. 1. The expression level of genes associated with antioxidant protection in the caecum of chicken (* differences from the control group at $p \leq 0,05$, *** differences from the control group at $p \leq 0,001$)

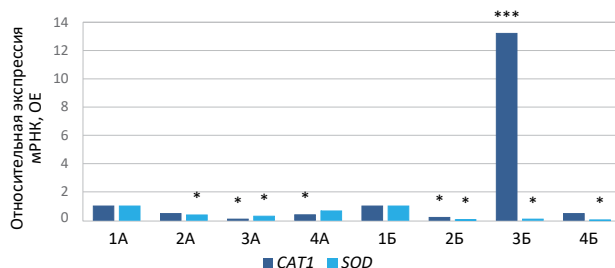
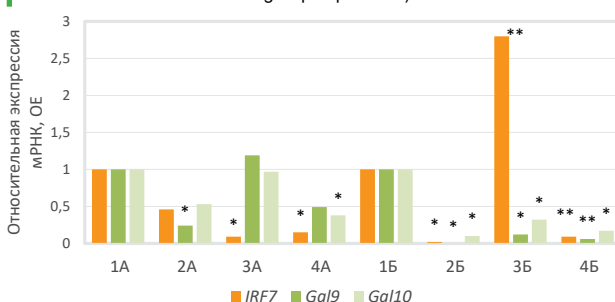


Рис. 2. Уровень экспрессии генов, связанных с иммунитетом, в слепых отростках кишечника кур (* отличия от контрольной группы при $p \leq 0,05$, ** отличия от контрольной группы при $p \leq 0,01$)

Fig. 2. The expression level of genes associated with immunity in the caecum of chicken (* differences from the control group at $p < 0,05$, ** differences from the control group at $p < 0,01$)



в опытах с аквакультурой показано, что соевый глобулин и β -конглицинин в соевой муке разрушительно действовали на антиоксидантную систему и вызывали окислительное повреждение [19, 20].

В эксперименте особенно существенные изменения касались гена *SOD* в опыте на линии CM9 ($p \leq 0,05$), а также гена *CAT*, экспрессия которого повышалась в 13,2 раза в группе 3Б ($p \leq 0,05$). Экспрессия мРНК *SOD* в группах 2Б, 3Б и 4Б уменьшалась в 14,3–100 раз по сравнению с контролем 1Б ($p \leq 0,05$), тогда как на линии CM5 экспрессия гена *SOD* в опытных группах 2А и 3А уменьшалась не более чем в 3,5 раза по сравнению с контролем 1А ($p \leq 0,05$). Таким образом, эти изменения могли иметь связь с генотипом.

Интересно, что наблюдался также неодинаковый уровень экспрессии генов, связанных с иммунитетом, у птиц разных линий, получавших одинаковый рацион (рис. 2). Так, в опыте на линии CM9 происходило снижение (до 100 раз) практически во всех опытных группах по сравнению с контролем 1Б экспрессии мРНК генов *IRF7*, *Gal9* и *Gal10* ($p \leq 0,05$) (исключая экспрессию *IRF7* в варианте 3Б). В то же время в опыте на линии CM5 уменьшение экспрессии генов *IRF7*, *Gal9* и *Gal10* было не столь значительно и затрагивало не все варианты опыта ($p \leq 0,05$). Снижение экспрессии генов *IRF7*, *Gal9* и *Gal10*, скорее всего, свидетельствует о происходящих негативных изменениях в организме птицы под влиянием изменений в составе рациона. Дело в том, что регуляторные факторы интерферона (*IRF*) представляют собой семейство транскрипционных факторов, которое играет решающую роль в индукции генов, кодирующих интерфероны (*IFN*), являющиеся критическими факторами в борьбе с вирусными инфекциями. Они составляют первую линию защиты организма от инфекций. *IRF7* — это ключевой член семейства *IRFS* [21]. В свою очередь, *Gal9* и *Gal10* — это дефензины, которые являются факторами, участвующими во врожденном иммунитете. Они обладают антимикробной активностью в отношении различных патогенов, включая грамотрицательные и положительные бактерии, вирусы и грибы [22]. Это позволяет предположить, что замена рыбной муки на продукты переработки подсолнечника и сои может отрицательно сказаться на показателях резистентности у материнской линии CM9 в случае патогенной нагрузки. Более того, продемонстрировано естественное снижение экспрессии дефензинов в слепых отростках кишечника по мере роста уже с четвертого дня жизни цыплят [23]. Кроме того, Su с соавт. [24] сообщили, что заражение птиц *Eimeria acervulina* также приводит к падению уровня *AvBD1*, *6*, *10*, *11*, *12* и *13* в тканях кишечника, что может создавать определенный риск, особенно при разведении поголовья линии CM9 в условиях промышленного птицеводства.

Полученные данные частично перекликаются с фенотипически наблюдаемым снижением показателей резистентности сыворотки крови в группе 3Б (замена рыбной муки продуктами переработки подсолнечника) в опыте на линии CM9.

Кроме того, был отмечен разный уровень экспрессии провоспалительного гена *PTGS2* у птиц разных линий, получавших одинаковый рацион (рис. 3). Так, в эксперименте на линии CM5 происходило снижение экспрессии мРНК гена *PTGS2* в опытных группах 2А, 3А и 4А по сравнению с контролем 1А от 3,2 до 6,6 раза ($p \leq 0,05$). С другой стороны, в эксперименте на линии CM9 не наблюдалось уменьшения экспрессии данного гена в опытных группах 2Б и 3Б по сравнению с контролем 1Б ($p > 0,05$),

Рис. 3. Уровень экспрессии генов, связанных с воспалением и апоптозом, в слепых отростках кишечника кур (* отличия от контрольной группы при $p \leq 0,05$, *** отличия от контрольной группы при $p \leq 0,001$)

Fig. 3. The expression level of genes associated with inflammation and apoptosis in the caecum of chicken (* differences from the control group at $p \leq 0.05$, *** differences from the control group at $p \leq 0.001$)

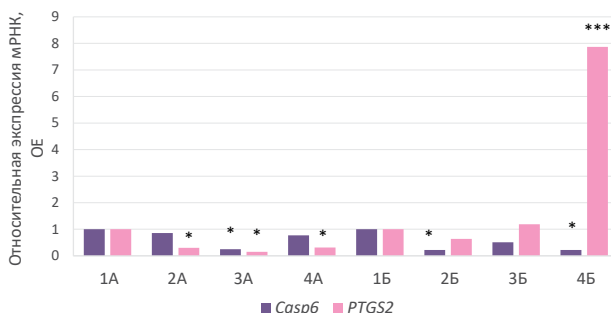
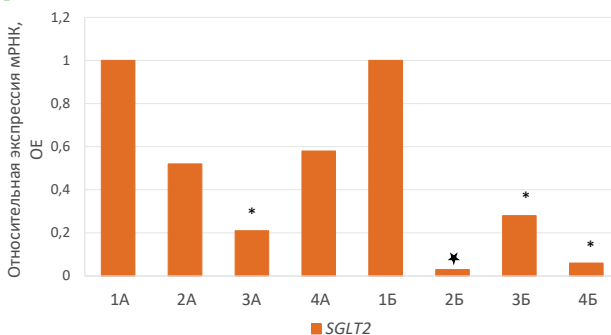


Рис. 4. Уровень экспрессии гена *SGLT2*, связанного с продуктивностью, в слепых отростках кишечника кур (* отличия от контрольной группы при $p \leq 0,05$)

Fig. 4. The expression level of the *SGLT2* gene associated with productivity in the caecum of chicken (* differences from the control group at $p \leq 0.05$)



тогда как в опытной группе 4Б даже происходила его индукция в 7,9 раза ($p \leq 0,05$). Дело в том, что ген *PTGS2* имеет связь с синтезом эндопероксидсинтазы простагландинов (циклооксигеназы 2), которая катализирует окислительное превращение арахидоновой кислоты в простагландин. Простагландин впоследствии метаболизируется до различных биологически активных метаболитов — простациклина и тромбоксана A2, принимая участие как в местных, так и в системных воспалительных реакциях [25]. Ранее в опытах на млекопитающих показано, что гиперэкспрессия *PTGS2* может иметь негативные последствия для организма [26].

Помимо этого, в группе 3А (с заменой рыбной муки продуктами переработки подсолнечника) в опыте на линии СМ5 и в группах 2Б и 4Б (с заменой рыбной муки продуктами переработки сои, а также сои и подсолнечника в соотношении 50:50) в опыте на линии СМ9 наблюдалось снижение мРНК гена *Casp6* ($p \leq 0,05$) (рис. 4). Каспаза-6 (*Casp6*) является одной из трех коротких продоменных эффекторных каспаз, участвующих в апоптотической гибели клеток [27]. Супрессия мРНК *Casp6* в опытных вариантах, по всей вероятности, не является негативным событием, поскольку ранее

сообщалось, что лишь увеличение экспрессии данного гена играет роль в патогенезе различных заболеваний [28, 29]. Ранее в опытах на *Carassius auratus gibelio* и *Cyprinus carpio* было, напротив, показано, что при увеличении потребления соевого шрота повышалась экспрессия провоспалительных генов *IL-6* и *TNF-α* [30].

Изменения в составе рациона оказали также выраженное ингибирующее влияние на уровень экспрессии гена *SGLT2* во всех опытных группах по сравнению с контролем 1Б в эксперименте на линии СМ9 ($p \leq 0,05$). Так, уровень экспрессии данного гена снижался до 33,3 раза (при замене рыбной муки продуктами переработки сои в группе 2Б) по сравнению с контролем 1Б ($p \leq 0,05$). В то же время в опыте на линии СМ5 экспрессия гена *SGLT2* снижалась только в варианте 3А в 4,8 раза по сравнению с контролем 1А ($p \leq 0,05$). Дело в том, что точная роль *SGLT2* для организма птицы неизвестна, однако в опытах на млекопитающих показано, что данный белок — это основной натриевый транспортер глюкозы [31], которая, как известно, представляет собой источник энергии для птицы. Следовательно, усиление экспрессии мРНК *SGLT2* может играть определенную роль в формировании продуктивных качеств. Однако несмотря на то, что замена рыбной муки в рационе птицы в некоторых вариантах опыта приводила к снижению экспрессии гена *SGLT2*, это всё же не приводило к изменениям продуктивности на уровне фенотипа.

Выводы/Conclusion

Таким образом, замена рыбной муки на продукты переработки (как сои, так и подсолнечника) у родительского поголовья кур линий СМ5 и СМ9 мясного кросса «Смена 9» приводила к изменению экспрессии генов *SOD*, *CAT*, *IRF7*, *Gal9*, *Gal10*, *PTGS2*, *Casp6* и *SGLT2* в тканях слепых отростков кишечника. Наиболее выраженные изменения в уровнях экспрессии изученных ключевых генов касались линии СМ9 по сравнению с линией СМ5. В вариантах с полной заменой рыбной муки продуктами переработки подсолнечника (группы 3А и 3Б) на уровне фенотипа наблюдалось снижение показателей лизоцимной и бактерицидной активности сыворотки крови. С определенной долей вероятности в случае патогенной нагрузки такие изменения могут привести к негативным последствиям для здоровья птицы из-за снижения общей резистентности. Однако для подтверждения данной гипотезы в дальнейшем необходимы дополнительные эксперименты по искусственному заражению птицы.

Необходимо отметить, что сдвиги в экспрессии ключевых генов птицы не отразились на фенотипе мясной и яичной продуктивности: зоотехнические показатели отмечались на уровне контрольных групп. Вероятно, сдвиги в экспрессии генов были естественной физиологической реакцией на изменение состава рациона.

Полученные результаты обеспечивают теоретическую основу для разработки и оптимизации комбикормов для линий СМ5 и СМ9 нового отечественного мясного кросса «Смена 9».

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.

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.

ФИНАНСИРОВАНИЕ

Исследование выполнено за счет средств гранта Российского научного фонда № 22-66-00061 «Экспрессия генов продуктивности и резистентности кур нового отечественного кросса «Смена 9» и ее влияние на иммунитет, особенности реализации генетического потенциала продуктивности при разном энергоаминокислотном питании».

FUNDING

The study was funded by the grant of the Russian Science Foundation No. 22-66-00061 «Expression of productivity and resistance genes in chickens of the new domestic cross «Smena 9» and its effect on immunity, features of the realization of the genetic potential of productivity with different energy amino acid nutrition».

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК / REFERENCES

- Chen Yu., Ma J., Huang H., Zhong H. Effects of the replacement of fishmeal by soy protein concentrate on growth performance, apparent digestibility, and retention of protein and amino acid in juvenile pearl gentian grouper. *PLoS ONE*. 2019; 14(12): e0222780. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0222780>
- Sørensen M., Stjepanovic N., Romarheim O.H., Krekling T., Storebakken T. Soybean meal improves the physical quality of extruded fish feed. *Animal Feed Science and Technology*. 2009; 149(1-2): 149–161. <https://doi.org/10.1016/j.anifeeds.2008.05.010>
- Kumar V., Barman D., Kumar K., Kumar V., Mandal S.C., De Clercq E. Antinutritional Factors in Plant Feedstuffs Used in Aquafeeds. *World Aquaculture*. 2012; 43(3): 64–68.
- Francis G., Makkar H.P.S., Becker K. Antinutritional factors present in plant-derived alternate fish feed ingredients and their effects in fish. *Aquaculture*. 2001; 199(3-4): 197–227. [https://doi.org/10.1016/S0044-8486\(01\)00526-9](https://doi.org/10.1016/S0044-8486(01)00526-9)
- Emanuylova Zh.V., Egorova A.V., Efimov D.N., Komarov A.A. Efficient highly productive new meat cross Smena-9 with federsex maternal parental form. *E3S Web of Conferences*. 2021; 247: 01035. <https://doi.org/10.1051/e3sconf/202124701035>
- Emanuylova Zh.V., Egorova A.V., Efimov D.N., Komarov A.A. New maternal line of the Cornish breed of the «Smena» selection and genetic center. *E3S Web of Conferences*. 2021; 262: 02003. <https://doi.org/10.1051/e3sconf/202126202003>
- Islam M.S., Howlader M.A.R., Uddin M.S., Kabir F., Alam J. Study on Reproductive Parameters of Barred Plymouth Rock, White Leghorn, Rhode Island Red and White Rock Breed of Cock. *Journal of Biological Sciences*. 2002; 2(9): 605–607. <https://doi.org/10.3923/jbs.2002.605.607>
- Davis R.V.N., Lamont S.J., Rothschild M.F., Persia M.E., Ashwell C.M., Schmidt C.J. Transcriptome Analysis of Post-Hatch Breast Muscle in Legacy and Modern Broiler Chickens Reveals Enrichment of Several Regulators of Myogenic Growth. *PLoS ONE*. 2015; 10(3): e0122525. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0122525>
- Navidshad B., Royan M. Effect of Dietary Fat on Gene Expression in Poultry, A Review. *Critical Reviews™ in Eukaryotic Gene Expression*. 2016; 26(4): 333–341. <https://doi.org/10.1615/CritRevEukaryotGeneExpr.2016016859>
- Brannan K.E., Helfrich K.K., Flentke G.R., Smith S.M., Livingston K.A., Jansen van Rensburg C. Influence of incubation, diet, and sex on avian uncoupling protein expression and oxidative stress in market age broilers following exposure to acute heat stress. *Poultry Science*. 2022; 101(5): 101748. <https://doi.org/10.1016/j.psj.2022.101748>
- Overbey E.G. et al. Transcriptomes of an Array of Chicken Ovary, Intestinal, and Immune Cells and Tissues. *Frontiers in Genetics*. 2021; 12: 664424. <https://doi.org/10.3389/fgene.2021.664424>
- Niemann H., Kuhla B., Flachowsky G. Perspectives for feed-efficient animal production. *Journal of Animal Science*. 2011; 89(12): 4344–4363. <https://doi.org/10.2527/jas.2011-4235>
- Gershwin L.J., Krawkowka S., Olsen R.G. Immunology and Immunopathology of Domestic Animals. 2nd ed. St. Louis: Mosby. 1995; x+195. ISBN 0-0816-6398-9
- Grossowicz N., Ariel M. Methods for Determination of Lysozyme Activity. *Methods of Biochemical Analysis*. 1983; 29: 435–446. <https://doi.org/10.1002/9780470110492.ch8>
- 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. <https://doi.org/10.1006/meth.2001.1262>
- Levy O. Antimicrobial proteins and peptides of blood: templates for novel antimicrobial agents. *Blood*. 2000; 96(8): 2664–2672.
- Teyssier J.R., Brugaletta G., Sirri F., Dridi S., Rochell S.J. A review of heat stress in chickens. Part II: Insights into protein and energy utilization and feeding. *Frontiers in Physiology*. 2022; 13: 943612. <https://doi.org/10.3389/fphys.2022.943612>

- Surai P.F., Kochish I.I., Fisinin V.I., Kidd M.T. Antioxidant Defence Systems and Oxidative Stress in Poultry Biology: An Update. *Antioxidants*. 2019; 8(7): 235. <https://doi.org/10.3390/antiox8070235>
- Jiang W.-D. et al. Soyabean glycinin depresses intestinal growth and function in juvenile Jian carp (*Cyprinus carpio* var Jian): Protective effects of glutamine. *British Journal of Nutrition*. 2015; 114(10): 1569–1583. <https://doi.org/10.1017/S0007114515003219>
- Kokou F. et al. Effects of Fish Meal Replacement by a Soybean Protein on Growth, Histology, Selected Immune and Oxidative Status Markers of Gilthead Sea Bream, *Sparus aurata*. *Journal of World Aquaculture Society*. 2015; 46(2): 115–128. <https://doi.org/10.1111/jwas.12181>
- Wang Yu. et al. Chicken interferon regulatory factor 7 (IRF7) can control ALV-J virus infection by triggering type I interferon production through affecting genes related with innate immune signaling pathway. *Developmental & Comparative Immunology*. 2021; 119: 104026. <https://doi.org/10.1016/j.dci.2021.104026>
- Terada T., Nii T., Isobe N., Yoshimura Yu. Changes in the Expression of Avian β -defensins (AvBDs) and Proinflammatory Cytokines and Localization of AvBD2 in the Intestine of Broiler Embryos and Chicks during Growth. *The Journal of Poultry Science*. 2018; 55(4): 280–287. <https://doi.org/10.2141/jpsa.0180022>
- Crhanova M. et al. Immune Response of Chicken Gut to Natural Colonization by Gut Microflora and to *Salmonella enterica* Serovar Enteritidis Infection. *Infection and Immunity*. 2011; 79(7): 2755–2763. <https://doi.org/10.1128/iai.01375-10>
- Su S., Dwyer D.M., Miska K.B., Fetterer R.H., Jenkins M.C., Wong E.A. Expression of host defense peptides in the intestine of Eimeria-challenged chickens. *Poultry Science*. 2017; 96(7): 2421–2427. <https://doi.org/10.3382/ps/pew468>
- Thuresson E.D. et al. Prostaglandin Endoperoxide H Synthase-1: The Functions of Cyclooxygenase Active Site Residues in the Binding, Positioning, and Oxygenation of Arachidonic Acid. *Journal of Biological Chemistry*. 2001; 276(13): 10347–10357. <https://doi.org/10.1074/jbc.M009377200>
- Kunzmann A.T., Murray L.J., Cardwell C.R., McShane C.M., McMenamin U.C., Cantwell M.M. PTGS2 (Cyclooxygenase-2) Expression and Survival among Colorectal Cancer Patients: A Systematic Review. *Cancer Epidemiology, Biomarkers & Prevention*. 2013; 22(9): 1490–1497. <https://doi.org/10.1158/1055-9965.EPI-13-0263>
- Godefroy N., Foveau B., Albrecht S., Goodyer C.G., LeBlanc A.C. Expression and Activation of Caspase-6 in Human Fetal and Adult Tissues. *PLoS ONE*. 2013; 8(11): e79313. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0079313>
- Graham R.K., Ehrnhoefer D.E., Hayden M.R. Caspase-6 and neurodegeneration. *Trends in Neurosciences*. 2011; 34(12): 646–656. <https://doi.org/10.1016/j.tins.2011.09.001>
- Giaime E. et al. Loss of function of DJ-1 triggered by Parkinson's disease-associated mutation is due to proteolytic resistance to caspase-6. *Cell Death & Differentiation*. 2010; 17(1): 158–169. <https://doi.org/10.1038/cdd.2009.116>
- Xuran Liu et al. Replacement of fishmeal with soybean meal affects the growth performance, digestive enzymes, intestinal microbiota and immunity of *Carassius auratus gibelio* × *Cyprinus carpio*. *Aquaculture Reports*. 2020; 18: 100472. <https://doi.org/10.1016/j.aqrep.2020.100472>
- Michel M.C., Mayoux E., Vallon V. A comprehensive review of the pharmacodynamics of the SGLT2 inhibitor empagliflozin in animals and humans. *Naunyn-Schmiedeberg's Archives of Pharmacology*. 2015; 388(8): 801–816. <https://doi.org/10.1007/s00210-015-1134-1>

ОБ АВТОРАХ

Елена Александровна Йылдырым¹,
доктор биологических наук
deniz@biotrof.ru
<https://orcid.org/0000-0002-5846-5105>

Лариса Александровна Ильина¹,
доктор биологических наук
ilina@biotrof.ru
<https://orcid.org/0000-0003-2789-4844>

Георгий Юрьевич Лаптев¹,
доктор биологических наук
laptev@biotrof.ru
<https://orcid.org/0000-0002-8795-6659>

ABOUT THE AUTHORS

Elena Alexandrovna Yildirim¹,
Doctor of Biological Sciences
deniz@biotrof.ru
<https://orcid.org/0000-0002-5846-5105>

Larisa Alexandrovna Ilina¹,
Doctor of Biological Sciences
ilina@biotrof.ru
<https://orcid.org/0000-0003-2789-4844>

George Yurievich Laptev¹,
Doctor of Biological Sciences
laptev@biotrof.ru
<https://orcid.org/0000-0002-8795-6659>

Валентина Анатольевна Филиппова¹,
биотехнолог
filippova@biotrof.ru
<https://orcid.org/0000-0001-8789-9837>

Андрей Валерьевич Дубровин¹,
кандидат ветеринарных наук
dubrowin.a.v@yandex.ru
<https://orcid.org/0000-0001-8424-4114>

Дарья Георгиевна Тюрина¹,
кандидат экономических наук
tiurina@biotrof.ru
<https://orcid.org/0000-0001-9001-2432>

Ксения Андреевна Калиткина¹,
биотехнолог
ksenya.k.a@biotrof.ru
<https://orcid.org/0000-0002-9541-6839>

Алиса Сергеевна Дубровина¹,
биотехнолог
dasvet@biotrof.ru
<https://orcid.org/0009-0005-1879-7497>

Екатерина Сергеевна Пономарева¹,
биотехнолог,
kate@biotrof.ru
<https://orcid.org/0000-0002-4336-8273>

Владимир Иванович Фисинин²,
академик Российской академии наук, доктор сельскохозяйственных наук, профессор, научный руководитель
olga@vnitip.ru
<https://orcid.org/0000-0003-0081-6336>

Иван Афанасьевич Егоров²,
академик Российской академии наук, доктор биологических наук, профессор, руководитель отдела исследований по кормлению птицы
olga@vnitip.ru
<https://orcid.org/0000-0001-9122-9553>

Татьяна Анатольевна Егорова²,
доктор сельскохозяйственных наук, заместитель директора по научно-исследовательской работе
eta164@yandex.ru
<https://orcid.org/0000-0002-5102-2248>

Вардгес Агавардович Манукян²,
доктор сельскохозяйственных наук, главный научный сотрудник, заведующий отделом питания птицы
manukyan@vnitip.ru
<https://orcid.org/0000-0003-4564-4427>

Татьяна Николаевна Ленкова²,
доктор сельскохозяйственных наук, профессор, ученый секретарь
dissovet@vnitip.ru
<https://orcid.org/0000-0001-8391-5000>

Ольга Николаевна Дегтярева²,
кандидат сельскохозяйственных наук, научный сотрудник
fncvnitip@mail.ru
<https://orcid.org/0000-0001-7243-7381>

¹ ООО «БИОТРОФ+»,
бульвар Загребский, 19, корп. 1, Санкт-Петербург, 192288, Россия

² Федеральный научный центр «Всероссийский научно-исследовательский и технологический институт птицеводства», ул. Птицегоградская, 10, Сергиев Посад, 141311, Россия

Valentina Anatolievna Filippova¹,
Biotechnologist
filippova@biotrof.ru
<https://orcid.org/0000-0001-8789-9837>

Andrey Valerievich Dubrovin¹,
Candidate of Veterinary Sciences
dubrowin.a.v@yandex.ru
<https://orcid.org/0000-0001-8424-4114>

Darya Georgievna Tiurina¹,
Candidate of Economic Sciences
tiurina@biotrof.ru
<https://orcid.org/0000-0001-9001-2432>

Ksenya Andreevna Kalitkina¹,
Biotechnologist
ksenya.k.a@biotrof.ru
<https://orcid.org/0000-0002-9541-6839>

Alisa Sergeevna Dubrovina¹,
Biotechnologist
dasvet@biotrof.ru
<https://orcid.org/0009-0005-1879-7497>

Ekaterina Sergeevna Ponomareva¹,
Biotechnologist,
kate@biotrof.ru
<https://orcid.org/0000-0002-4336-8273>

Vladimir Ivanovich Fisinin²,
Academician of the Russian Academy of Sciences, Doctor of Agricultural Sciences, Professor, Scientific Supervisor
olga@vnitip.ru
<https://orcid.org/0000-0003-0081-6336>

Ivan Afanasievich Egorov²,
Academician of the Russian Academy of Sciences, Doctor of Biological Sciences, Professor, Head of the Poultry Feeding Research Department
olga@vnitip.ru
<https://orcid.org/0000-0001-9122-9553>

Tatiana Anatolievna Egorova²,
Doctor of Agricultural Sciences, Deputy Director for Research
eta164@yandex.ru
<https://orcid.org/0000-0002-5102-2248>

Vardges Agavardovich Manukyan²,
Doctor of Agricultural Sciences, Senior Researcher, Head of the Department of Poultry Nutrition
manukyan@vnitip.ru
<https://orcid.org/0000-0003-4564-4427>

Tatyana Nikolaevna Lenkova²,
Doctor of Agricultural Sciences, Professor, Scientific Secretary
dissovet@vnitip.ru
<https://orcid.org/0000-0001-8391-5000>

Olga Nikolaevna Degtyareva²,
Candidate of Agricultural Sciences, Researcher
fncvnitip@mail.ru
<https://orcid.org/0000-0001-7243-7381>

¹ «БИОТРОФ+» Ltd,
19 Zagrebkiy boulevard, 1 building, Saint-Petersburg, 192288, Russia

² Federal State Budget Scientific Institution Federal Scientific Center «All-Russian Research and Technological Poultry Institute», 10 Ptitsegradskaya Str., Sergiev Posad, 141311, Russia