Научная статья

УДК 636.5:579.64

Штаммы *Bacillus* на страже здоровья и продуктивности цыплят-бройлеров

Андрей Валерьевич Дубровин[1,2], Лариса Александровна Ильина[1,2], Екатерина Сергеевна Пономарева[2], Ксения Андреевна Калиткина[1,2], Дарья Георгиевна Тюрина[2], Елена Александровна Йылдырым[1,2], Валентина Анатольевна Филиппова[1,2], Алиса Сергеевна Дубровина[2,3]

[1]ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный аграрный университет»; [2]ООО «БИОТРОФ», Санкт-Петербург; [3]Всероссийский научно-исследовательский ветеринарный институт птицеводства (ВНИВИП) – филиал ФГБНУ Федеральный научный центр «Всероссийский научно-исследовательский и технологический институт птицеводства» (ФНЦ «ВНИТИП»)

Аннотация: *Приводятся результаты опыта по практическому применению пробиотических штаммов бактерий Bacillus mucilagenosus и Bacillus megaterium из коллекции компании ООО «БИОТРОФ» на живых бройлерах при выращивании в виварии. Эксперимент включал также группы с применением антибиотиков коликвинол, тилмикозин, энрофлоксацин и колистин по схеме, приближенной к промышленной, и с применением комбинации данных пробиотиков и антибиотиков. В исследованиях учитывали живую массу бройлеров, а также изучали состав микробиоты слепых отростков кишечника цыплят и динамику детерминант устойчивости кишечных бактерий к различным антибиотикам. Результаты указывают на позитивное влияние применения пробиотических штаммов на показатели живой массы птицы; сопротивление колонизации кишечника патогенными представителями рода Enterococcus, преимущественно видом E. faecalis; снижение детерминант устойчивости к различным антибиотикам. Полученные данные позволяют предположить, что основным носителем детерминант устойчивости в кишечнике птицы выступили патогенные энтеробактерии. Положительный эффект от применения пробиотических штаммов был выявлен как отдельно, так и совместно с применением антибактериальных препаратов.*

Ключевые слова: *птицеводство, бройлеры, микробиота слепых отростков кишечника, Bacillus megaterium, Bacillus mucilaginosus, Enterococcus faecalis.*

Для цитирования: *Дубровин, А.В. Штаммы Bacillus на страже здоровья и продуктивности цыплят-бройлеров / А.В. Дубровин, Л.А. Ильина, Е.С. Пономарева, К.А. Калиткина, Д.Г. Тюрина, Е.А. Йылдырым, В.А. Филиппова, А.С. Дубровина // Птицеводство. – 2024. – №5. – С. 5-11.*
doi: 10.33845/0033-3239-2024-73-5-5-11

Введение. Актуальная проблема распространения возбудителей бактериальных заболеваний с устойчивостью к действию антибактериальных препаратов ставит задачу поиска альтернативных решений. Одним из основных рассматриваемых вариантов являются пробиотические кормовые добавки на основе симбиотических штаммов бактерий. Так, в недавнем отечественном исследовании было отмечено ускорение развития кишечной микрофлоры на ранних стадиях роста цыплят-бройлеров при применении в кормлении штамма *Bacillus subtilis*, а также снижение содержания патогенных микроорганизмов рода кампилобактерий, в сравнении с методом выращивания с применением антибиотика вирджиниамицина [1]. В другом исследовании применение штамма *Lactobacillus plantarum* также привело к улучшению зоотехнических показателей бройлеров [2]. Целью нашего исследования было не только изучение возможности применения пробиотических штаммов бактерий для повышения продуктивности птицы и снижения количества патогенной микрофлоры в пищеварительной системе, но и обнаружение возможного снижения относительного числа детерминант устойчивости к антибиотикам в микробиоме птицы.

Материал и методика исследований. В условиях вивария поставили опыт на цыплятах-бройлерах с созданием условий применения антибактериальных препаратов, приближенных к производственным. Цыплята были разделены на 4 равные группы по 45 голов в каждой (табл. 1). Для опыта были взяты пробиоти-

Таблица 1. Схема опыта на бройлерах с раздельным и совместным вводом в рационы антибиотиков и пробиотических штаммов Bacillus

Группы	Особенности кормления
Контроль (К)	Основной рацион
Опытная (А/б)	Основной рацион + антибиотики коликвинол (0-3 дня), тилмикозин (4-6 дней), энрофлоксацин и колистин (19-22 дней)
Опытная (А/б+Пб)	Основной рацион + антибиотики коликвинол (0-3 дня), тилмикозин (4-6 дней), энрофлоксацин и колистин (19-22 дней) + штаммы *Bacillus mucilaginosus* и *Bacillus megaterium*
Опытная (П/б)	Основной рацион + штаммы *Bacillus mucilaginosus* и *Bacillus megaterium*

Таблица 2. Список исследованных генов устойчивости

Имя гена	Функция
Eub 338/518	Контрольный праймер ДНК бактерий
bla_shv	Резистентность к бета-лактамам, включая широкую устойчивость к пенициллинам и цефалоспоринам
ampC	Устойчивость к ампициллину
mecA	Резистентность к β-лактамным антибиотикам, метициллину
vanA	Устойчивость к ванкомицину, гликопептидам
parC *parE*	Устойчивость к хинолонам
tetA *tetO*	Устойчивость к тетрациклинам
StrA	Устойчивость к стрептомицинам
Sul1	Устойчивость к сульфаниламидам
ermA *ermB*	Устойчивость к эритромицинам

ческие штаммы бактерий *Bacillus mucilagenosus* и *Bacillus megaterium* из коллекции компании ООО «БИОТРОФ».

Цыплят выращивали с суточного возраста до 42 дней жизни. В течение опыта у птицы всех групп производили отбор проб содержимого слепых отростков для исследования содержания микробиоты и проб помета для анализа детерминант устойчивости к антибиотикам. Также все поголовье взвешивали раз в неделю.

Бактериальную ДНК выделяли с использованием набора для очистки геномной ДНК (Fermentas, Inc., Литва) в соответствии с рекомендациями производителя. Анализ состава микробиома слепых отростков кишечника провели методом высокопроизводительного секвенирования 16S РНК на секвенаторе MiSeq (Illumina, США) с применением набора реагентов MiSeq® ReagentKit v3 (600 cycle). Для анализа детерминант устойчивости подобрали праймеры генов устойчивости, как относящихся к выбранным препаратам, так и к антибиотикам других групп (табл. 2). Постановку ПЦР выполняли с применением набора «5X qPCRmix-HS SYBR» (Евроген, Россия) на амплификаторе «ДТлайт 4» (ДНК-Технология, Россия). Таргетный анализ генов устойчивости к антибиотикам проводили с помощью количественной ПЦР из расчета по отношению к копии контрольного гена. За основу расчетов был взят метод Ливака и Шмитгена [3].

Результаты исследований. В течение опыта разница по живой массе между группами начала проявляться с 14-дневного возраста. При этом наиболее низкий средняя живая масса цыплят наблюдалась в группе с применением антибактериальных препаратов (А/б). Данная тенденция сохранилась до конца эксперимента. По итогам опыта наиболее высокая средняя масса была отмечена у цыплят в группах с применением штаммов *Bacillus* (А/б+П/б и Пб). В начале эксперимента живая масса всех экспериментальных птиц была близкой друг к другу: средняя живая масса в контрольной группе (К) составила 46,09±0,48 г, в опытной группе А/б – 46,13±0,45 г, в опытной группе А/б+П/б – 45,79±0,57 г, в опытной группе П/б – 45,09±0,54 г. К концу эксперимента (на 42-й день) живая масса бройлеров составила соответственно этим группам 2206,89±81,98; 2159,42±51,65; 2346,41±62,44 и 2322,76±66,63 г соответственно. Таким образом, к концу выращивания живая масса птицы, потреблявшей только антибиотики, была на 2,2% ниже показателя контрольной группы, а птица, потреблявшая пробиотические штаммы бактерий, весила на 5,3-6,3% больше, чем птица контрольной группы. Подробные данные представлены на рис. 1.

По результатам исследования детерминант устойчивости было обнаружено, что применение антибактериальных препаратов привело к повышению уровня широкого спектра генов антибиотикорезистентности (табл. 3). Так, к концу курса применения препарата коликвинол было отмечено повышение уровня генов устойчивости к макролидам: *ermA* (в 34,3 раза) и *ermB* (в 630,3 раза). Также повысился относительный уровень гена устойчивости к ампициллину *ampC* (в 6,9 раза) и генов устойчивости к пенициллинам *blaSHV* и *mrcA* (в 2,0 и 2,1 раза соответственно).

Уровень устойчивости к сульфаниламидам (входят в состав препарата) повысился в 1,3 раза (ген *sul1*).

Аналогично к концу курса применения препарата тилмикозин в опытной группе (А/б) было отмечено повышение уровня генов устойчивости к пенициллинам: *blaSHV* (в 2,5 раза) и *mrcA* (в 13,0 раза). Также было отмечено повышение относительной концентрации генов устойчивости к хинолонам *parC* (в 1,2 раза), стрептомицинам *strA* (в 4,6 раза) и ампициллинам *ampC* (в 6,9 раза).

Применение препарата энрофлоксацин к концу курса привело к повышению уровня генов устойчивости к пенициллинам *blaSHV* в 2,29 раза, хинолонам *parE* в 1,5 раза, а к тетрациклинам *tetO* – в 5,28 раза.

При этом следует отметить, что в аналогичные даты отбора проб уровень детерминант устойчивости к антибиотикам в опытной группе с применением пробиотических штаммов *Bacillus mucilaginosus* и *Bacillus megaterium* был на уровне контрольной группы или ниже. Исключение составили показатели детерминант устойчивости при применении препарата коликвинол. При этом такой скачок детерминант устойчивости может быть обусловлен в целом низкой стабильностью микрофлоры желудочно-кишечного тракта цыплят в раннем возрасте.

Применение антибактериальных препаратов и штаммов *Bacillus* также привело и к изменениям состава микробиоты кишечника птицы. Общее число выявленных таксонов варьировало в зависимости от группы и применяемого препарата (табл. 4).

Выявленные таксоны принадлежали к 37 филумам, при этом подавляющее большинство бактерий относилось к филуму *Firmicutes*. Остальные относились к филумам *Proteobacteria*, *Tenericutes*, *Bacteroidetes* и прочим. Доля содержания прочих филумов не превышала 0,47% от общего числа микроорганизмов в отдельно взятом образце.

Наиболее выраженные изменения в микробиоте птицы наблюдались в увеличении доли патогенных представителей рода *Enterococcus*, в т.ч. *E. faecalis, E. gallinarum, E. avium, E. casseliflavus, E. raffinosus* при применении антибактериальных препаратов. При этом в группах с применением коликвинола содержание патогенных энтерококков (преимущественно *E. faecalis*) до-

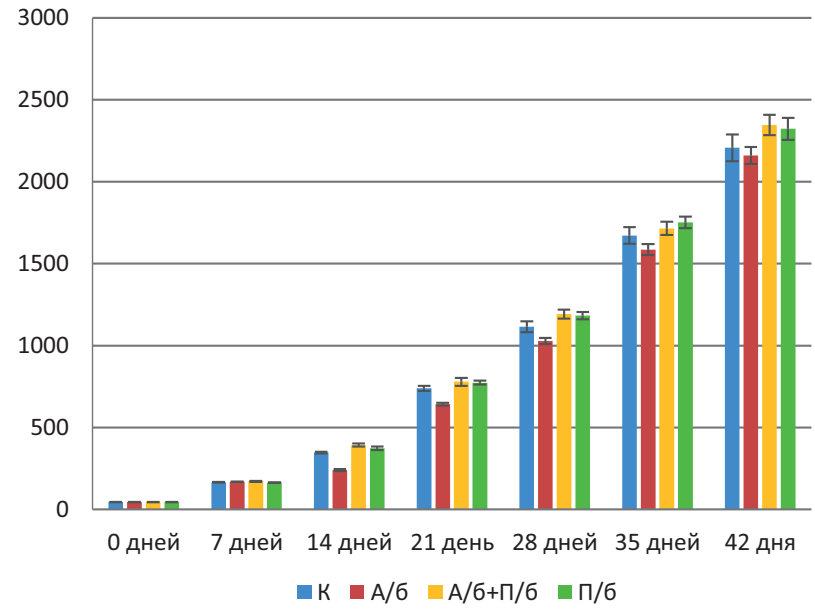

Рис. 1. Динамика живой массы бройлеров в течение эксперимента, г

Таблица 3. Относительное содержание детерминант устойчивости к антибиотикам в образцах помета от опытных групп в сравнении с контрольной (Контроль = 1)

Ген	3 дня		7 дней		22 дня	
	А/б Коликвинол	П/б	А/б Тилмикозин	П/б	А/б Энрофлоксацин + колистин	П/б
bla_shv	2	0,933	2,462	0,25	2,297	0,33
ampC	6,964	6,964	6,063	0,025	0,218	0,109
mecA	1,072	1,625	0,66	0,008	0,379	0,354
vanA	0	0	0	0	0	0
parC	2,297	1,625	1,231	0,379	0,707	1,149
parE	1	1,231	0,933	0,203	1,516	0,268
tetA	2,462	0,66	0,871	0,006	0,029	0,077
tetO	0,435	1,866	0,933	0,354	5,278	0,574
StrA	2,297	3,732	4,595	0,014	0,25	0,125
Sul1	1,32	2,297	0,707	0,125	0,102	0,051
ermA	34,297	64	0	0	0	0
ermB	630,346	51,984	0	0	0,812	0,154
mrcA	2,144	6,063	12,996	0,051	0,379	0,218
Шкала	минимум		1 (контроль)		максимум	

Таблица 4. Число таксонов, выявленных в образцах микробиоты слепых кишок

	К	А/б	А/б + П/б	П/б
3 дня - коликвинол	684	630	627	672
7 дней - тилмикозин	493	390	424	494
22 дня -энрофлоксацин + колистин	577	806	650	716

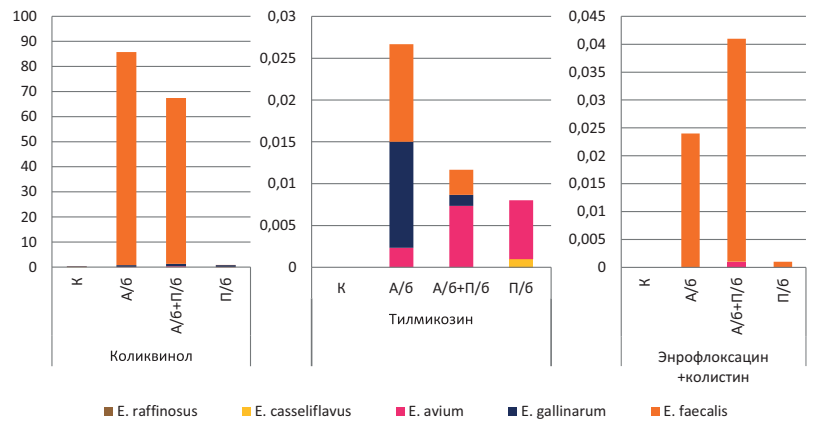

Рис. 2. Содержание энтерококков в образцах разных групп, %

стигало 67,4% при параллельном применении пробиотика (А/б+П/б) и 85,7% – без пробиотика (А/б). Применение тилмикозина и энрофлоксацина с колистином также приводило к повышению содержания патогенных энтерококков, однако их содержание относительно всего микробного пейзажа было невелико. Так, применение энрофлоксацина и колистина привело к увеличению доли патогенных энтерококков в 24,0 раза (А/б), а применение тилмикозина – к увеличению в 3,3 раза (А/б) в сравнении с показателями контрольной группы (рис. 2).

Вместе с тем, применение антибактериальных препаратов приводило к снижению относительного числа других патогенных микроорганизмов, относящихся к 26 родам, в т.ч. *Leptospira*, *Mycoplasma*, *Acinetobacter*, *Staphylococcus*, *Mycobacterium*, *Actinobacillus* и др. (рис. 3). При этом применение пробиотических штаммов совместно с энрофлоксацином и колистином показало усиление бактерицидного эффекта антибиотиков. Если в группе с применением антибиотиков (А/б) содержание патогенных организмов снизилось в 1,9 раза, то совокупное применение антибактериального препарата и штаммов рода *Bacillus* (А/б+П/б) привело к снижению суммарного числа патогенных бактерий в 2,8 раза.

Обсуждение результатов исследований. Согласно результатам нашего исследования, главный вывод с практической точки зрения заключается в более активном наборе живой массы цыплят при применении пробиотических штаммов микроорганизмов как совокупно с антибиотиком, так и без использования антибиотика. К концу выращивания цыплят, на 42 день эксперимента, средняя живая масса цыплят в группе с применением пробиотика была выше на 5,3% в сравнении с показателем контрольной группы и на 7,6% – в сравнении с опытной группой с применением только антибактериальных препаратов. Аналогично, к концу опыта средняя живая масса цыплят из группы с совокупным применением антибактериальных препаратов и пробиотика была выше на 6,3% в сравнении с показателем контрольной группы и на 8,7% – в сравнении с опытной группой с применением только антибактериальных препаратов. При этом стоит отметить, что масса цыплят в опытной группе с применением антибиотиков была ниже на 2,2% в сравнении с контрольной группой. Повышение зоотехнических показателей цыплят при применении пробиотических культур микроорганизмов – регулярно наблюдаемый эффект при правильном подборе пробиотика [4-6]. Вместе с тем, интерес представляет и то, что наиболее высокий прирост живой массы наблюдался в группе с совокупным применением антибиотика и пробиотика, при том, что в группе с применением только антибиотиков средняя живая масса цыплят была ниже, чем в контроле.

Изменения в составе микробиоты птицы под воздействием различных препаратов оказались наиболее интересным с точки зрения содержания патогенных энтерококков, главным образом *E. faecalis*. Патогенные энтерококки связаны, главным образом, с заболеваниями опорно-двигательного аппарата у бройлеров, в т.ч. остеомиелитами, некрозом головки бедренной кости, спондилитами. У домашней птицы *E. faecalis* связан с повышенной смертностью в первую неделю, амилоидной артропатией несушек и клапанным эндокардитом,

перитонитом и артритом у бройлеров [7]. В последние годы особый интерес представители вида *E. faecalis* вызывают благодаря выраженным свойствам множественной антибиотикоустойчивости. Так, в недавнем исследовании среди исследованных 76 штаммов *E. faecalis*, выделенных из помета птицы, корма и образцов воздуха из птицефабрик, практически все были идентифицированы как мультирезистентные, при этом различная степень устойчивости наблюдалась к тетрациклину, цефтриаксону, ампициллину, хлорамфениколу, линкомицину, эритромицину, гентамицину и другим. Интересно также, что все изученные штаммы были чувствительны к ванкомицину [8]. Данные, полученные в нашем исследовании, согласуются с этими результатами. Интересно, что в нашем опыте, как и в вышеописанном, ни в одной исследованной группе не было выявлено генов устойчивости к ванкомицину, при этом было отмечено повышение детерминант устойчивости к другим антибактериальным препаратам, что характерно для *E. faecalis* [8]. Полученные данные позволяют предположить, что использованная схема применения антибактериальных препаратов хотя и вызвала подавление развития различных патогенных микроорганизмов, но позволила получить конкурентное преимущество патогенным энтерококкам. При этом применение пробиотических штаммов бактерий оказало благоприятный эффект на состав микробиоты даже при совокупном применении с антибактериальными препаратами, что может быть также обусловлено выраженной антагонистической активностью примененных штаммов, которая ранее была выявлена *in vitro* [9], что способствовало эффекту смещения содержания *E. faecalis* в образцах, наблюдавшемуся в нашем исследовании.

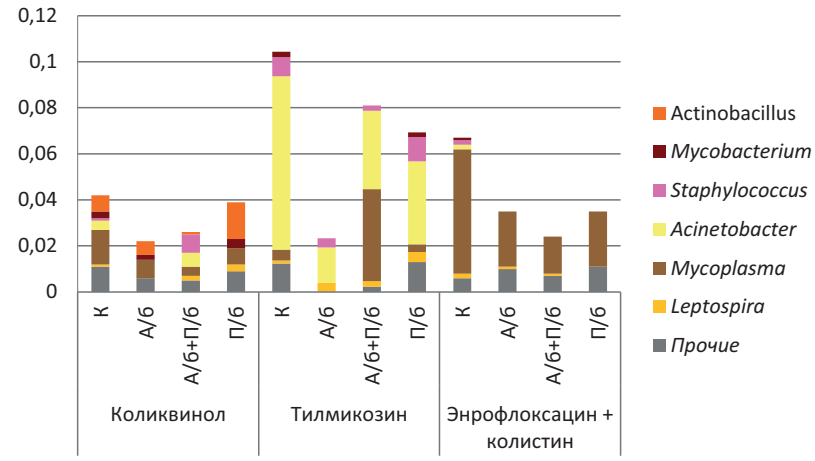

Рис. 3. Содержание патогенных микроорганизмов в образцах, %

Работа выполнена при поддержке гранта РНФ 22-76-00053.

Литература / References

1. Тюрина, Д.Г. Сравнительная оценка влияния вирджиниамицина и пробиотика на состав кишечного микробиома и зоотехнические показатели цыплят-бройлеров (*Gallus gallus* L.). / Д.Г. Тюрина, Г.Ю. Лаптев, Е.А. Йылдырым, Л.А. Ильина, В.А. Филиппова, Е.А. Бражник, Н.В. Тарлавин, Е.П. Горфункель, В.А. Дубровин, Н.И. Новикова, Т.П. Дуняшев, А.А. Грозина // С.-х. биология. - 2020. - Т. 55. - №6. - С.1220-1232. doi: 10.15389/agrobiology.2020.6.1220rus
2. Фисинин, В.И. Биопрепарат на основе штамма *Lactobacillus plantarum* L-211 для животноводства. Сообщение I. Кормление бройлеров / В.И. Фисинин, Е.Н. Андрианова, И.И. Чеботарев, Г.Ю. Лаптев, И.Н. Никонов, Л.А. Ильина, А.В. Савинов, Н.Г. Машенцева, Д.Л. Клабукова, Е.А. Йылдырым, Н.И. Новикова // С.-х. биология. - 2017. - Т. 52. - №2. - С. 382-390. doi: 10.15389/agrobiology.2017.2.382rus
3. Livak, K.J. Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the 2(-delta delta C(T)) method / K.J. Livak, T.D. Schmittgen // Methods. - 2001. - V. 25. - No 4. - P. 402-408. doi: 10.1006/meth.2001.1262
4. Тюрина, Д.Г. Продуктивность и экспрессия генов у цыплят-бройлеров (*Gallus gallus* L.) кросса Ross 308 под влиянием антибиотиков, глифосата и штамма *Bacillus sp.* / Д.Г. Тюрина, Г.Ю. Лаптев, Е.А. Йылдырым, Л.А. Ильина, В.А. Филиппова, Е.А. Бражник, Н.В. Тарлавин, К.А. Калиткина, Е.С. Пономарева, В.А. Дубровин, Н.И. Новикова, Д.А. Ахматчин, В.В. Молотков, В.В. Меликиди, Е.П. Горфункель // С.-х. биология. - 2022. - Т. 57. - №6. - С. 1147-1165. doi: 10.15389/agrobiology.2022.6.1147rus

5. Timmerman, H.M. Mortality and growth performance of broilers given drinking water supplemented with chicken-specific probiotics / H.M. Timmerman, A. Veldman, E. van den Elsen, F.M. Rombouts, A.C. Beynen // Poult. Sci. - 2006. - V. 85. - No 8. - P. 1383-1388. doi: 10.1093/ps/85.8.1383
6. Sögaard, H. Microbials for feed: beyond lactic acid bacteria / H. Sögaard, T. Suhr-Jessen // Feed Intl. - 1990. - No 11. - P. 32-38.
7. Ribeiro, J. Antibiotic resistance among gastrointestinal bacteria in broilers: a review focused on *Enterococcus spp.* and *Escherichia coli* / J. Ribeiro, V. Silva, A. Monteiro, M. Vieira-Pinto, G. Igrejas, F.S. Reis, L. Barros, P. Poeta // Animals. - 2023. - V. 13. - No 8. - P. 1362. doi: 10.3390/ani13081362
8. Hasan, K.A. The unravelled *Enterococcus faecalis* zoonotic superbugs: emerging multiple resistant and virulent lineages isolated from poultry environment / K.A. Hasan, S.A. Ali, M. Rehman, H. Bin-Asif, S. Zahid // Zoonoses Public Health. - 2018. - V. 65. - No 8. - P. 921-935. doi: 10.1111/zph.12512
9. Лаптев, Г.Ю. Геномный и фенотипический потенциал антимикробной активности штамма бактерии *Bacillus megaterium* в-4801 / Г.Ю. Лаптев, Е.А. Йылдырым, Т.П. Дуняшев, Л.А. Ильина, Д.Г. Тюрина, В.А. Филиппова, Е.А. Бражник, Н.В. Тарлавин, В.А. Дубровин, Н.И. Новикова, В.Х. Меликиди, С.Н. Биконя // С.-х. биология. - 2020. - Т. 55. - №4. - С. 816-829. doi: 10.15389/agrobiology.2020.4.816rus

Сведения об авторах:

Дубровин А.В.: кандидат ветеринарных наук, старший научный сотрудник каф. крупного животноводства[1], биотехнолог молекулярно-генетической лаборатории[2]; dubrovin@biotrof.ru. **Ильина ЛА.:** доктор биологических наук, профессор каф. крупного животноводства[1], начальник молекулярно-генетической лаборатории[2]; ilina@biotrof.ru. **Пономарева Е.С.:** биотехнолог молекулярно-генетической лаборатории; kate@biotrof.ru. **Калиткина К.А.:** аспирант очной формы обучения[1], биотехнолог молекулярно-генетической лаборатории[2]; kseniya.k.a@biotrof.ru. **Тюрина Д.Г.:** кандидат экономических наук, старший биотехнолог молекулярно-генетической лаборатории; tiurina@biotrof.ru. **Йылдырым Е.А.:** доктор биологических наук, профессор каф. крупного животноводства[1], главный биотехнолог молекулярно-генетической лаборатории[2]; deniz@biotrof.ru. **Филиппова В.А.:** зав. лабораторией каф. крупного животноводства[1], биотехнолог молекулярно-генетической лаборатории[2]; filippova@biotrof.ru. **Дубровина А.С.:** биотехнолог молекулярно-генетической лаборатории[2], аспирант очной формы обучения[3]; dasvet@biotrof.ru.

Статья поступила в редакцию 23.03.2024; одобрена после рецензирования 12.04.2024; принята к публикации 15.04.2024.

Research article

Bacillus Strains for Protection of Health and Productivity in Broilers

Andrey V. Dubrovin[1,2], Larisa A. Ilyina[1,2], Ekaterina S. Ponomareva[2], Ksenia A. Kalitkina[1,2], Darya G. Tiurina[2], Elena A. Yildyrym[1,2], Vera A. Filippova[1,2], Alisa S. Dubrovina[2,3]

[1]St. Petersburg State Agrarian University; [2]BIOTROF, Ltd., St. Petersburg; [3]All-Russian Research Veterinary Institute of Poultry Science - branch of the Federal Scientific Center "All-Russian Research and Technological Institute of Poultry"

Abstract. *The experiment was aimed at the evaluation of the effects of separate and combined use of probiotics (strains of Bacillus mucilagenosus and Bacillus megaterium from the collection of BIOTROF, Ltd.) and typical to broiler production scheme of the consecutive application of different antibiotics (coliquinol, tilmicosin, enfrofloxacin, and colistin). The dynamics of live bodyweight in broilers was studied as well as the composition of cecal microbiota and expression of the gene determinants of the bacterial resistance to various antibiotics. The results evidenced beneficial effects of the probiotic (applied separately or in combination with the antibiotics) on growth rate in broilers; on the resistance to colonization of the intestine by pathogenic representatives of Enterococcus genus, mainly E. faecalis; and on the reduction of the expression of the resistance determinants to various antibiotics. The data obtained suggest that pathogenic Enterococci were the main intestinal carriers of drug resistance determinants.*

Keywords: *poultry farming, broilers, cecal microbiota, Bacillus megaterium, Bacillus mucilaginosus, Enterococcus faecalis.*

For Citation: *Dubrovin A.V., Ilyina L.A., Ponomareva E.S., Kalitkina K.A., Tiurina D.G., Yildyrym E.A., Filippova V.A., Dubrovina A.S. (2024) Bacillus strains for protection of health and productivity in broilers. Ptitsevodstvo, 73(5): 5-11. (in Russ.)*
doi: 10.33845/0033-3239-2024-73-5-5-11

(For references see above)

Authors:

Dubrovin A.V.: Cand. of Vet. Sci., Senior Research Officer of Dept. of Large Animals[1], Biotechnologist of Lab. of Molecular Genetics[2]; dubrovin@biotrof.ru. **Ilyina L.A.:** Dr. of Biol. Sci., Prof. of Dept. of Large Animals[1], Head of Lab. of Molecular Genetics[2]; ilina@biotrof.ru. **Ponomareva E.S.:** Biotechnologist of Lab. of Molecular Genetics; kate@biotrof.ru. **Kalitkina K.A.:** Aspirant[1], Biotechnologist of Lab. of Molecular Genetics[2]; kseniya.k.a@biotrof.ru. **Tiurina D.G.:** Cand. of Econ. Sci., Senior Biotechnologist of Lab. of Molecular Genetics; tiurina@biotrof.ru. **Yildyrym E.A.:** Dr. of Biol. Sci., Prof. of Dept. of Large Animals[1], Chief Biotechnologist of Lab. of Molecular Genetics[2]; deniz@biotrof.ru. **Filippova V.A.:** Head of Lab. of Dept. of Large Animals[1], Biotechnologist of Lab. of Molecular Genetics[2]; filippova@biotrof.ru. **Dubrovina A.S.:** Biotechnologist of Lab. of Molecular Genetics[2], Aspirant[3]; dasvet@biotrof.ru.

Submitted 23.03.2024; revised 12.04.2024; accepted 15.04.2024.

© Дубровин А.В., Ильина Л.А., Пономарева Е.С., Калиткина К.А., Тюрина Д.Г., Йылдырым Е.А., Филиппова В.А., Дубровина А.С., 2024