

О. Ю. Перинек, Г. В. Ширяев

Влияние концентрации эстрадиола и вителлогенина в сыворотке крови кур мясо-яичной породы на яичную продуктивность

Аннотация.

Цель исследований — определение влияния изменения концентрации эстрадиола-17 β на концентрацию вителлогенина на стадии формирования скорлупы яйца и подготовки организма кур мясо-яичной породы (на примере пушкинской породы) к овуляции.

Материалы и методы. Материалом для проведения исследования служили куры пушкинской породы, в количестве 28 гол. в возрасте 48 недель. Куры содержались в индивидуальных клетках. Световой режим — 14С:10Т. Поение — ниппельное, температура в птичнике и кормление — согласно нормам, принятым в биоресурсной коллекции ВНИИГРЖ «Генетическая коллекция редких и исчезающих пород кур». В течение 10 дней до взятия крови у исследуемой группы кур проводили УЗИ-сканирование яичника и яйцевода, это позволило определить стадию формирования яйца. Кровь у исследуемых кур брали утром натощак для одновременного определения концентрации эстрадиола и вителлогенина на стадии формирования скорлупы яйца. Концентрацию эстрадиола и вителлогенина в плазме крови кур определяли методом ИФА. Для уточнения влияния концентрации эстрадиола (E2) на вителлогенин (VTG) изучаемое поголовье разделили на 2 группы по концентрации вителлогенина: 1-ая гр. — >Мср. (>20 мкг/мл) и 2-ая гр. — <Мср. (<20 мкг/мл). В исследуемый период яйца кур оценивали по следующим морфометрическим показателям: массе яйца, желтка, белка и скорлупы, упругой деформации, индексу формы, плотности белковых фракций, толщине скорлупы и подскорлупной оболочки, мраморности. Количество снесенных яиц было определено за 10 дней опытного периода.

Результаты. Установлено, что продолжительность овуляторного цикла у кур пушкинской породы составляет 27–29 часов. В результате такого длинного овуляторного цикла в последующие дни снесение яиц происходит позже с прогрессивным сдвигом, в результате чего цикл яйцекладки в среднем по исследуемой группе кур составляет 3 дня. Уровень E2 у 1-ой группы составил 258,48 $\pm$ 30,60 пг/мл ($p<0,05$), что достоверно отличалось от 2-ой группы — 181,45 $\pm$ 13,81 пг/мл. Установлена положительная корреляция между показателями VTG и E2, $r=0,5$ ($p<0,001$).

Заключение. Уровень VTG достоверно возрастает у кур пушкинской породы в возрасте 48 недель при повышении концентрации в крови E2. Отмечена положительная корреляционная связь между этими признаками. По результатам наших исследований, высокое содержание в сыворотке крови кур эстрадиола и вителлогенина не оказало существенного влияния на яичную продуктивность.

Ключевые слова: мясо-яичная порода кур, эстрадиол-17 β , вителлогенин, овуляторный цикл, фолликул, яйцо, УЗИ-сканирование.

Авторы:

Перинек Оксана Юрьевна — кандидат биологических наук; e-mail: odormidonova@mail.ru; gs-2027@yandex.ru;

Ширяев Геннадий Владимирович — кандидат сельскохозяйственных наук; e-mail: gs-2027@yandex.ru.

Всероссийский научно-исследовательский институт генетики и разведения сельскохозяйственных животных — филиал ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр животноводства — ВИЖ имени академика Л. К. Эрнста»; 196601, Россия, г. Санкт-Петербург, п. Тярлево, 55 а.

Введение. В последнее время усиливается интерес к изучению физиологического процесса яйцекладки с целью поиска различных биомаркеров, связанных с реализацией репродуктивной функции у домашней птицы. Важная роль в механизмах регуляции репродуктивной системы принад-

лежит органам внутренней секреции, синтезирующих и секретирующих в кровь биологически активные вещества, которые напрямую или косвенно воздействуют на половой аппарат птицы, вызывая тем самым стимулирующий или ингибирующий эффект. Изучение половых гормонов

в биологических жидкостях половозрелых птиц позволяет сравнить уровень их продукции яйцесекрета в разные фазы овуляторного цикла и оценить их влияние на различные катаболические процессы.

Известно, что в регуляции полового созревания птиц важную роль играют половые гормоны, в частности, эстрогены. Эти гормоны регулируют процессы овуляции и кладки яиц, индуцируют биосинтез компонентов желтка в печени и транспорт их в яйцо, стимулируют развитие яйцевода и секрецию в нем белка, участвуют в минеральном обмене [1, 2]. В отличие от млекопитающих, у птиц эстрогены синтезируются клетками теки фолликулов яйцесекретов. Строма яйцесекрета с многочисленными кортикальными фолликулами и большими фолликулами вырабатывает в основном эстрогены яйцесекретов, тогда как большие преовуляторные желтые фолликулы являются источником прогестерона яйцесекретов [3].

Основным эстрогеном, секретируемым яйцесекретом курицы, является эстрадиол-17 β (E_2). Ученые пришли к выводу, что продукция андрогенов и E_2 клетками теки может регулировать биосинтез прогестерона клетками гранулезы у домашней курицы [4]. Эстрадиол не участвует напрямую в контроле высвобождения лютеинизирующего гормона с положительной обратной связью, но необходим для стимулирования гипоталамуса, чтобы обеспечить положительное действие прогестерона по обратной связи.

Синтез и секреция одного из основных предшественников яичного белка вителлогенина (VTG) также находится под контролем E_2 . У кур синтез VTG (поступающий затем по сосудистой системе в ооциты фолликулов яйцесекрета) начинается в печени при наступлении у них половой зрелости [5]. Однако способность синтезировать VTG может проявиться и раньше, начиная с 60-дневного возраста. В этот период диаметр ядер и цитоплазмы гепатоцитов у курочек становится выше, чем у петушков [6]. Гены, кодирующие этот белок, сверхэкспрессируются более чем в 30–40 раз в печени половозрелых кур. Печень приобретает новую, репродуктивную функцию без утраты предшествующих. Такая дифференцировка уже специализированной ткани находится под контролем эстрогенов [7, 8].

Производство VTG происходит не только у самок, образующих яйца, но и у неполовозрелых самок, экзогенно получавших E_2 [9]. В работе Коршуновой Л. Г. и Карапетяна Р. В. (2011) введение E_2 цыплятам в возрасте трех месяцев вызывало появление в плазме крови через 4 часа VTG в регистрируемых количествах. Через 12 часов его

содержание уже достоверно различалось по отношению к контролю. Максимальное значение фиксировалось на 5-е сутки после стимуляции (введение было однократным в контроле и двукратным в опытной группе).

В нескольких исследованиях предпринимались попытки использовать E_2 для управления физиологией или производительностью яйцесекретов размножающихся самок. Исследователи стремились увеличить концентрацию E_2 в плазме аддитивным образом, но все же в пределах диапазона естественных вариаций, чтобы вызвать физиологические, а не фармакологические эффекты. Вследствии E_2 повышал концентрацию в плазме предшественника желтка VTG, но увеличения массы яйца и других показателей репродуктивной функции не происходило. Авторы пришли к выводу, что экзогенный E_2 , возможно, снижает поглощение предшественников желтка в яйцесекретах, из-за негативных эффектов обратной связи на секрецию ФСГ.

Из выше сказанного видно, что E_2 играет значимую роль в организме птицы и отвечает за многие функции репродуктивной системы кур, и очевидно, что синтез и секреция VTG зависит от концентрации E_2 в крови.

Исследования по гормональной регуляции процессов формирования яйца проводятся, в основном, на курах коммерческих кроссов, а данных по птице комбинированного направления продуктивности практически нет. В связи с возрастающим интересом к использованию этих кур в органическом птицеводстве появилась необходимость в исследованиях физиологических процессов, связанных с формированием признаков яичной продуктивности.

Цель исследований — определение влияния изменения концентрации эстрадиола-17 β на концентрацию вителлогенина на стадии формирования скорлупы яйца и подготовкой организма кур мясо-яичной породы (на примере пушкинской породы) к овуляции.

Материалы и методы. Исследования проводились в условиях биоресурсной коллекции (БРК) ВНИИГРЖ «Генетическая коллекция редких и исчезающих пород кур». Материалом для проведения исследования служили куры пушкинской породы (мясо-яичного направления продуктивности), в количестве 28 гол., в возрасте 48 недель жизни. Куры содержались в индивидуальных клетках. Световой режим — 14С:10Т. Поение — ниппельное, температура в птичнике и кормление — согласно нормам, принятым в БРК ВНИИГРЖ «Генетическая коллекция редких и исчезающих пород кур».

В связи с зависимостью концентрации эстрадиола (и др. гормонов) в крови кур от наличия или отсутствия овуляции, от стадии формирования яйца, было необходимо сформировать группу кур, находящуюся на одинаковой стадии. Для этого в течение 10 дней до взятия крови у исследуемой группы кур проводили УЗИ-сканирование яичника и яйцевода, это позволило определить наличие овуляции, яйца в яйцеводе, т.е. стадию формирования яйца. На рисунках 1–3 представлены эхограммы: яичника с фолликулами (рис. 1), яйца на стадиях формирования белка (рис. 2) и скорлупы (рис. 3). Для УЗИ-сканирования яичника и яйцевода кур был использован ультразвуковой переносной аппарат «Раскан» ЭТС-Д-05П (г. Санкт-Петербург). Время снесения яиц контролировали и фиксировали в течение светового дня.



Рис. 1. Эхограмма фолликулов при УЗИ сканировании яичника кур



Рис. 2. Эхограмма желтка при УЗИ сканировании яйцевода кур (белковый отдел)



Рис. 3. Эхограмма яйца при УЗИ сканировании яйцевода кур (матка — скорлуповый отдел)

Кровь у исследуемых кур брали утром натощак для одновременного определения концентрации эстрадиола и вителлогенина на стадии формирования скорлупы яйца (конец овуляторного цикла — в течение 9 ч до снесения яйца), с дальнейшей фиксацией времени его снесения (рис. 3). Образцы крови отбирали от каждой курицы индивидуально в индивидуальные пробирки с активатором свертывания. Образцы центрифугировали при 3000 об/мин в течение 10 мин., отделенную сыворотку хранили в морозильной камере при -25°C до проведения анализов (не более 1 недели). Концентрацию эстрадиола и вителлогенина в плазме крови кур определяли методом ИФА на планшетном иммуноферментном анализаторе Stat Fax 2100 (Awareness Technology, США). Для определения в сыворотке крови эстрадиола применяли набор Алкор Био (Россия), вителлогенина — Chicken Vitellogenin Competitive Elisa kit, Blue-Gene Biotech (Китай). Для определения влияния концентрации E_2 на VTG изучаемое поголовье было разделено на 2 группы по концентрации VTG: 1-ая гр. — $>\text{Mcp.}$ ($> 20 \text{ мкг/мл}$) и 2-ая гр. — $<\text{Mcp.}$ ($< 20 \text{ мкг/мл}$).

В исследуемый период яйца кур оценивали по следующим морфометрическим показателям: массе яйца, желтка и скорлупы — с помощью электронных весов *Mertech M-ER 122ACF(JR)* с точностью до 0,01 г; массе белка — по разнице между массой яйца, желтка и скорлупы; упругой деформации (УД), измеренной упругомером ПУД-1; индексу формы (ИФ) — индексомером ИФ-1; показателю плотности фракций белка (ППФ) — прибором ППФ-1; толщине скорлупы / подскорлупной оболочки, определенной микрометром; мраморности — овоскопом (по 5-балльной оценке).

Учет и оценка яиц были индивидуальными: от каждой курицы исследовали не менее 3-х последовательно снесенных яиц на следующий день после сбора.

Результаты и обсуждение. На основе данных наблюдений установлено, что продолжительность овуляторного цикла у кур пушкинской породы составляет 27–29 часов. В результате такого длинного овуляторного цикла в последующие дни снесение яиц происходит позже с прогрессивным сдвигом, в результате чего цикл яйцекладки в среднем по исследуемой группе кур составляет 3 дня.

Из-за центральной роли эстрадиола в «производстве» яиц, мы предположили, что чем выше его концентрация в сыворотке крови кур, тем выше продуктивность и концентрация вителлогенина — основного предшественника желтка.

В таблице 1 представлены результаты по концентрации эстрадиола и вителлогенина в сыворот-

ке крови кур пушкинской породы в конце овуляторного цикла, на стадии формирования скорлупы.

Уровень E_2 у 1-ой группы составил $258,48 \pm 30,60$ пг/мл ($p < 0,05$), что достоверно отличалось от 2-ой группы — $181,45 \pm 13,81$ пг/мл. Установлена положительная корреляция между показателями VTG и E_2 , $r = 0,5$ ($p < 0,001$). Количество яиц в течение 10 дней учета перед взятием крови была выше на 2,6% также в 1-ой группе.

Мы предположили, что высокое содержание в сыворотке крови кур эстрадиола и вителлогенина (1-я группа) должны стимулировать у данных кур увеличение массы яйца и его составляющих (особенно за счет увеличения массы желтка), а также влиять на качество скорлупы [1, 2, 10]. В таблице 2 представлена сравнительная оценка морфометрических показателей яиц кур пушкинской породы в зависимости от концентрации в сыворотке крови вителлогенина. Однако анализ таб-

Таблица 1. Концентрации эстрадиола и вителлогенина в сыворотке крови кур пушкинской породы в 48 недель жизни

№ группы	Вителлогенин, мкг/мл	Эстрадиол, пг/мл	Количество яиц в течение 10 дней учета перед взятием крови, шт.
1 (>20 мкг/мл) (n=12)	$29,38 \pm 2,04$	$258,48 \pm 30,60^*$	$7,25 \pm 0,35$
2 (< 20 мкг/мл) (n=16)	$15,44 \pm 0,46$	$181,45 \pm 13,81^*$	$7,06 \pm 0,32$

* $p < 0,05$

Таблица 2. Морфометрические показатели яиц 48-недельных кур пушкинской породы в зависимости от концентрации вителлогенина в сыворотке крови

Показатель	№ группы	
	1 (>20 мкг/мл) (n=12)	2 (<20 мкг/мл) (n=16)
Количество яиц, шт.	57	76
Масса, г:		
яйца	$64,1 \pm 1,8$	$63,6 \pm 1,1$
желтка	$17,1 \pm 0,5$	$17,7 \pm 0,5$
белка	$40,7 \pm 1,5$	$39,6 \pm 0,8$
скорлупы	$6,3 \pm 0,1$	$6,3 \pm 0,09$
Доля составной части яйца к массе яйца, %:		
желтка	$26,7 \pm 0,7$	$27,8 \pm 0,6$
белка	$63,3 \pm 0,9$	$62,1 \pm 0,6$
скорлупы	$9,9 \pm 0,3$	$10,0 \pm 0,2$
Отношение массы белка к массе желтка	$2,4 \pm 0,09$	$2,2 \pm 0,07$
ИФ, %	$76,1 \pm 0,6$	$76,5 \pm 0,5$
УД, мкм	$21,2 \pm 1,0$	$20,0 \pm 0,6$
ППФ, град.	$21,8 \pm 1,0$	$20,1 \pm 0,8$
Толщина скорлупы, мкм	$365,3 \pm 4,6$	$362,5 \pm 5,1$
Толщина подскорлупной оболочки, мкм	$32,9 \pm 2,1$	$35,6 \pm 1,3$
Мраморность скорлупы, балл	$3,0 \pm 0,09$	$3,2 \pm 0,1$

лицы 2 показал, что высокое содержание в сыворотке крови кур эстрадиола и вителлогенина (1-я группа) не оказала существенного влияния на массу яйца, его составляющих и качество скорлупы. У кур 1-ой и 2-ой групп масса яиц, желтка, белка и скорлупы находятся на одном уровне.

Возможно, более высокий уровень вителлогенина в сыворотке крови может быть связан не с увеличением производства предшественника желтка печенью, а результатом более низкой скорости его поглощения в яичниках и, следовательно, более медленного истощения циркулирующих веществ крови. Также, вероятно, имеет значение количество фолликулов, находящихся на стадии быстрого роста, что приводит к усилению конкуренции между фолликулами за циркулирующий вителлогенин. Все вышесказанное, указывает на то, что проявление изучаемых фенотипических признаков регулируется на более высоких уровнях

организации, чем те, которые исследовались в этом эксперименте.

Закключение. Уровень VTG достоверно возрастает у кур пушкинской породы в возрасте 48 недель при повышении концентрации в крови E_2 . Отмечена положительная корреляционная связь между этими показателями, $r=0,5$ ($p < 0,001$). По результатам наших исследований, высокое содержание в сыворотке крови кур эстрадиола и вителлогенина не оказало существенного влияния на яичную продуктивность. Вероятно, что проявление изучаемых фенотипических признаков регулируется на более высоких уровнях организации, чем те, которые исследовались в этом эксперименте. Возможно, более высокий уровень вителлогенина в сыворотке крови является результатом не увеличения производства предшественника желтка печенью, а более низкой скорости поглощения его в яичниках и, следовательно, более медленного истощения циркулирующих веществ крови.

Работа проведена в рамках выполнения научных исследований Министерства науки и высшего образования РФ по теме №121052600357-8

Литература

1. Hansen K. K. Estrogen receptor- α populations change with age in commercial laying hens / K. K. Hansen, R. J. Kittok, G. Sarath, C. F. Toombs, N. Caceres, M. M. Beck // Poultry Sci. — 2003. — № 82. — P. 1624–1629. doi: 10.1093/ps/82.10.1624.
2. Bluhm C. K. Serum levels of luteinizing hormone (LH), prolactin, estradiol, and progesterone in laying and nonlaying canvasback ducks (*Aythya valisineria*) / C. K. Bluhm, R. E. Phillips, W. H. Burke // General and Comparative Endocrinology. — 2003. — № 52(1). — P. 1–16. doi: 10.1016/0016-6480(83)90152-1.
3. Hrabia A. Expression of α and β Estrogen Receptors in the Chicken Ovary / A. Hrabia, M. Wilk, J. Rzaša // Folia Biologica. — 2008. — V. 56(3). — P. 187–191. doi:10.3409/fb.56_3-4.187-191.
4. Lee H. T. Inhibitory sites of androgens and estradiol in progesterone biosynthesis in granulosa cells of the domestic hen / H. T. Lee, J. M. Bahr // Endocrinology. — 1989. — № 125(2). — P. 760–765. doi: 10.1210/endo-125-2-760.
5. Козлова С. В. Морфометрические параметры печени бройлеров кросса Arbor / С. В. Козлова // Вестник Курской государственной сельскохозяйственной академии. — 2019. — № 9. — С. 128–134.
6. Гришина Д. Ю. Микрометрические показатели эпителиальной ткани печени цыплят бройлеров кросса Flex в зависимости от этапов и критических фаз развития органа / Д. Ю. Гришина, Х. Б. Баймишев // Ветеринарная медицина. — 2008. — № 4. — С. 32–33.
7. Ratna, W. N. Estrogen-responsive genes encoding egg yolk proteins vitellogenin and apolipoprotein II in chicken are differentially regulated by selective estrogen receptor modulators / W. N. Ratna, V. D. Bhatt, K. Chaudhary, A. B. Ariff, S. A. Bavadekar, H. N. Ratna // Theriogenology. — 2016. — № 85(3), 376–383. doi:10.1016/j.theriogenology.2015.
8. Evans M. I. Isolation of chicken vitellogenin I and III cDNAs and the developmental regulation of five estrogen-responsive genes in the embryonic liver / M. I. Evans, R. Silva, J. B. E. // Burch Genes Dev. — 1988. — № 2. — P. 116–124. doi: 10.1101/gad.2.1.116.
9. Коршунова Л. Г. Синтез вителлогенина в печени эстрогенизированных цыплят / Л. Г. Коршунова, Р. В. Карапетян // Вестник российской академии сельскохозяйственных наук. — 2011. — № 4. — С. 67–69.
10. Grunder A. A. Calcium-binding proteins in serum: quantitative differences between thick and thin shell lines of chickens / A. A. Grunder, R. B. Guyer, E. G. Buss, C. O. Clagett // Poultry Science. — 1980. — № 59(4). — P. 880–884. doi:10.3382/ps.0590880.

Perinek O., Shiryayev G.

Effect of the concentration of estradiol and vitellogenin in the blood serum of meat and egg breed chickens on egg productivity

Abstract.

The aim of the research is to determine the effect of changes in the concentration of estradiol-17 β on the concentration of vitellogenin at the stage of egg shell formation and preparation of the body of meat and egg breed chickens (for example, the Pushkin breed) for ovulation.

***Materials and methods.** The material for the study was the Pushkin breed chickens, in the amount of 28 heads. at the age of 48 weeks. Chickens were kept in individual cages. Light mode — 14C:10T. Drinking — nipple, temperature in the house and feeding — according to the standards adopted in the bioresource collection of RRIFAGB «Genetic collection of rare and endangered chicken breeds». Within 10 days prior to blood sampling, an ultrasound scan of the ovary and oviduct was performed from the studied group of chickens, which made it possible to determine the stage of egg formation. Blood from the studied chickens was taken in the morning on an empty stomach for the simultaneous determination of the concentration of estradiol and vitellogenin at the stage of egg shell formation. The concentration of estradiol and vitellogenin in the blood plasma of chickens was determined by ELISA. To clarify the effect of the concentration of estradiol (E2) on vitellogenin (VTG), the studied flock was divided into 2 groups according to the concentration of vitellogenin: 1st gr. — >Mav. (>20 μg / ml) and 2nd gr. — <Mav. (<20 μg / ml). During the study period, eggs of chickens were evaluated according to the following morphometric parameters: the weight of the egg, yolk, protein and shell, elastic deformation, shape index, density of protein fractions, thickness of the shell and subshell, marbling. The number of eggs laid was determined in 10-day trial period.*

***Results.** It has been established that the duration of the ovulatory cycle in Pushkin breed chickens is 27–29 hours. As a result of such a long ovulatory cycle in the following days, laying of eggs occurs later with a progressive shift, as a result of which the laying cycle on average for the studied group of chickens is 3 days. The E2 level in the 1st group was 258,48 $\pm$ 30,60 pg/ml ($p<0,05$), which significantly differed from the 2nd group — 181,45 $\pm$ 13,81 pg/ml. A positive correlation was found between VTG and E2, $r=0,5$ ($p<0,001$).*

***Conclusion.** The VTG level significantly increases in Pushkin chickens at the age of 48 weeks with an increase in the concentration of E2 in the blood. A positive correlation was noted between these features. According to the results of our research, the high content of estradiol and vitellogenin in the chickens blood serum did not have a significant effect on egg productivity.*

Key words: meat and egg breed of chickens, estradiol-17 β , vitellogenin, ovulatory cycle, follicle, egg, ultrasound scan.

Authors:

Perinek O. — PhD (Biol. Sci.); e-mail: odormidonova@mail.ru;

Shiryayev G. — PhD (Agr. Sci.); e-mail: gs-2027@yandex.ru.

Russian Research Institute of Farm Animal Genetics and Breeding — Branch of FSBSI «Federal Research Center for Animal Husbandry named after Academy Member L. K. Ernst»; 196601, Russia, St.Petersburg-Tyartarovo, 55 a.

References

1. Hansen K. K. Estrogen receptor- α populations change with age in commercial laying hens / K. K. Hansen, R. J. Kittok, G. Sarath, C. F. Toombs, N. Caceres, M. M. Beck // *Poult. Sci.* — 2003. — № 82. — P. 1624–1629. doi: 10.1093/ps/82.10.1624.
2. Bluhm C. K. Serum levels of luteinizing hormone (LH), prolactin, estradiol, and progesterone in laying and nonlaying canvasback ducks (*Aythya valisineria*) / C. K. Bluhm, R. E. Phillips, W. H. Burke // *General and Comparative Endocrinology.* — 2003. — № 52(1). — P. 1–16. doi: 10.1016/0016-6480(83)90152-1.
3. Hrabia A. Expression of α and β Estrogen Receptors in the Chicken Ovary / A. Hrabia, M. Wilk, J. Rzaša // *Folia Biologica.* — 2008. — V. 56(3). — P. 187–191. doi:10.3409/fb.56_3-4.187-191.

4. Lee H. T. Inhibitory sites of androgens and estradiol in progesterone biosynthesis in granulosa cells of the domestic hen / H. T. Lee, J. M. Bahr // *Endocrinology*. — 1989. — № 125(2). — P. 760–765. doi: 10.1210/endo-125-2-760.
5. Kozlova S. V. Morfometricheskie parametry pecheni brojlerov krossa Arbor / S. V. Kozlova // *Vestnik Kurskoj gosudarstvennoj sel'skohozyajstvennoj akademii*. — 2019. — № 9. — P. 128–134.
6. Grishina D. YU. Mikrometricheskie pokazateli epitelial'noj tkani pecheni cyplyat brojlerov krossa Flex v zavisimosti ot etapov i kriticheskikh faz razvitiya organa / D. YU. Grishina, H. B. Bajmishev // *Veterinarnaya medicina*. — 2008. — № 4. — P. 32–33.
7. Ratna, W. N. Estrogen-responsive genes encoding egg yolk proteins vitellogenin and apolipoprotein II in chicken are differentially regulated by selective estrogen receptor modulators / W. N. Ratna, V. D. Bhatt, K. Chaudhary, A. B. Ariff, S. A. Bavadekar, H. N. Ratna // *Theriogenology*. — 2016. — №85 (3), 376–383. doi:10.1016/j.theriogenology.2015
8. Evans M. I. Isolation of chicken vitellogenin I and III cDNAs and the developmental regulation of five estrogen-responsive genes in the embryonic liver / M. I. Evans, R. Silva, J. B. E. // *Burch Genes Dev*. — 1988. — №2. — P. 116-124. doi: 10.1101/gad.2.1.116.
9. Korshunova L. G. Sintez vitellogenina v pecheni estrogenizirovannyh cyplyat / L. G. Korshunova, R. V. Karapetyan // *Vestnik rossijskoj akademii sel'skohozyajstvennyh nauk*. — 2011. — № 4. — P. 67–69.
10. Grunder A. A. Calcium-binding proteins in serum: quantitative differences between thick and thin shell lines of chickens / A. A. Grunder, R. B. Guyer, E. G. Buss, C. O. Clagett // *Poultry Science*. — 1980. — № 59(4). — P. 880–884. doi:10.3382/ps.0590880.