

О. А. Николаева, А. И. Азовцева, А. Е. Рябова

## Разработка тест-системы для генотипирования полиморфизма 4:28632407 A/G в гене *BMP-2* у аквакультурной радужной форели

### Аннотация.

Геномные селекционные мероприятия в разведении радужной форели становятся доступнее с появлением последних достижений молекулярной генетики. Сложности, с которыми сталкивается аквакультура на сегодняшний день, заключаются в том, что программы геномной и маркер-ассоциированной селекций в разведении гидробионтов появились значительно позднее, чем аналогичные программы для наземных сельскохозяйственных животных. В существующих условиях актуальной задачей является разработка тест-систем для генотипирования радужной форели, которые позволят эффективно обогащать благоприятными полиморфизмами целевые популяции.

**Целью** данного исследования была разработка тест-системы на основании полиморфизма в перспективном гене *BMP-2* и установление геномных ассоциаций между однонуклеотидным полиморфизмом (SNP) в нем и размерно-весовыми характеристиками рыб.

**Материалы и методы.** Материалом для исследования послужили особи радужной форели породы ро-фор ( $n=200$ ), от которых были сняты следующие размерно-весовые показатели: масса рыбы, длина тела по Смиту, длина до конца чешуйчатого покрова, длина головы, высота и толщина тела.

**Результаты.** В результате исследования выявлено, что подавляющее большинство рыб являлось носителями гетерозиготного генотипа AG (98%), тогда как гомозиготный генотип AA полностью отсутствовал в выборке. Достоверных ассоциаций с размерно-весовыми показателями обнаружить не удалось, что, вероятно, связано с отсутствием генотипа AA в популяции. Тем не менее тест-система была успешно разработана и апробирована. Исследование влияния данного полиморфизма внесло свой вклад в знания о генетике радужной форели. Дальнейшее применение разработанной тест-системы в программах селекции радужной форели возможно после проведения дополнительных исследований для выявления хозяйственно-полезных генетических ассоциаций на больших выборках особей.

**Ключевые слова:** *BMP-2*; форель; аквакультура; генотипирование; полиморфизм.

Авторы:

Николаева О. А. — e-mail: trantoburito@mail.ru;

Азовцева А. И. — e-mail: ase4ica15@mail.ru;

Рябова А. Е. — e-mail: aniuta.riabova2016@yandex.ru.

Всероссийский научно-исследовательский институт генетики и разведения сельскохозяйственных животных – филиал ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр животноводства – ВИЖ имени академика Л. К. Эрнста»; 196625, Россия, г. Санкт-Петербург, пос. Тярлево, Московское шоссе, д. 55а.

*Работа выполнена при поддержке Министерства науки и высшего образования Российской Федерации (тема FGGN-2024-0015).*

**Введение.** Форелеводство, как важная часть аквакультуры, является значимой отраслью агропромышленного комплекса, которая способна обеспечивать население продукцией с высоким содержанием белка и низким содержанием насыщенных жиров [1, 2]. Растущий спрос на рыбную продукцию стимулирует промышленность внедрять селекционные методы, ориентированные на быстрый и эффективный рост поголовья с высоким качеством мяса, оптимальным содержанием жира и устойчивым к болезням, с учетом особенностей репродуктивного цикла и роста радужной форели (*Oncorhynchus mykiss*) [3–5]. Современ-

ным решением вышестоящих задач являются программы геномной маркер-ассоциированной селекции, которые появились не так давно в рыбоводстве [6]. Рост мышечных волокон является основным фактором, детерминирующим рентабельность рыбоводства, поскольку скелетные мышцы составляют около 50–60 % от веса рыбы; тем не менее генетические основы мышечного роста еще недостаточно изучены [1, 7]. Помимо мышечного роста генетическую детерминированность проявляют и такие размерно-весовые и качественные показатели мяса как выход и плотность филе, что указывает на возможность

их улучшения [8, 9]. Авторы Никандров и др. отмечают высокие уровни фенотипического разнообразия, репродуктивного потенциала и значительные резервы генетической изменчивости радужной форели [10], обуславливающие высокий интерес к изучению генома последней.

#### Геномная селекция в рыбоводстве.

В настоящее время существует более десяти видов рыб и моллюсков, для которых были разработаны коммерческие ДНК-чипы [6], большинство из которых содержат 50–60K однонуклеотидных полиморфизмов (SNP, single nucleotide polymorphism). Хотя для точного обнаружения локусов количественных признаков (QTL) такие чипы не являются эффективными, для целей геномной селекции они подходят [11]. Также разработаны и чипы высокой плотности (более 500K SNP), которые ускоряют темпы генетического улучшения рыб, однако их повсеместное использование ограничено как высокими финансовыми затратами на генотипирование, так и специфической особенностью лососевых рыб — множественной дубликацией предковых геномов [11]. В связи с этим необходимы альтернативные стратегии для снижения затрат на идентификацию элитных особей для разведения [12].

#### BMP-2: функции

Для данного исследования в качестве кандидата гена был выбран *BMP-2*. Ген *BMP-2* входит в суперсемейство трансформирующего фактора роста бета (TGF- $\beta$ ) и на основе гомологии последовательностей попадает в группу III (из существующих пяти групп) в соответствии с его ролью в дифференцировке и росте клеток [13–15]. Так же, как и другие члены этого семейства, *BMP-2* вовлечен в процессы скелетных образований и участвует в развитии позвоночных. Развитие скелета опосредовано влияет на проявление фенотипических признаков, таких как высокий или низкий рост, размер конечностей, крепкое или хрупкое телосложение. Влияние *BMP-2* особенно велико на развитие скелета и мышц у радужной форели, тем самым отражаясь на общих показателях роста и приспособленности [16]. Костный морфогенетический белок *BMP-2* играет важную роль в ходе эмбриогенеза и онтогенеза, способствуя остеогенезу, нейроге-

незу, развитию глазной системы, кардиогенезу [17]. Помимо роли в развитии костной ткани *BMP-2* задействован в регуляции различных физиологических систем, включая кровеносную и неврологическую, тем самым влияя на общую динамику роста рыб. Семейство генов *BMP*, включая *BMP-2*, участвует в контроле деления и пролиферации клеток, которые являются критическими процессами в регуляции роста. Также *BMP-2* участвует в создании и дифференцировке жировых клеток-предшественников [18]. *BMP-2* способен усиливать действие витамина D3, оказывая синергетический эффект на дифференцировку остеобластов в более раннем периоде и созреванию на более поздних стадиях [19, 20]. От *BMP-2* также зависит качественное развитие скелета [21]. Кальцинирование позвонков обеспечивает жесткость, которая варьирует в зависимости от расположения позвонков — ближе к концевому отделу жесткость смодулирована повышенной минерализацией, как бы механически компенсируя изменение геометрии тела, вызванное движением рыб [22].

Известны некоторые аномалии развития организмов, связанные с измененными сигнальными путями *BMP-2*, которые являются одной из основополагающих причин нарушений в скелете человека [23], а у рыб актуальной проблемой остается проявление аномалий в развитии скелета в процессе раннего онтогенеза [24], которые наряду с ухудшением экстерьера, могут приводить к физиологической дисфункции и летальному исходу [25].

#### BMP-2: перспективы в применении

В исследовании Reis Neto et al. с помощью GWAS с использованием плотной панели SNP (57 тыс.), идентифицировали *BMP-2* как ген-кандидата, лежащего в основе роста у костистых рыб, в том числе у радужной форели и атлантического лосося [26]. Результаты секвенирования *BMP-2* в работе Щербакова Ю. С., Тыщенко В. И. позволили выявить его полиморфные участки, которые могут быть связаны с формированием продуктивных признаков рыбы [27]. В форелеводстве уже предпринимаются шаги по проведению геномной селекции, опираясь на полиморфизмы *BMP-2*, и выполняется составление базы производителей на основе выявленных ассоциа-

Таблица 1. Характеристика праймеров и зондов к SNP гена *BMP-2*

| Название         | Последовательность           | Краситель | Гаситель | Длина фрагмента |
|------------------|------------------------------|-----------|----------|-----------------|
| Прямой праймер   | GGACTAGTCAGTTCATTACTCATCT    | -         | -        | 129 п.н.        |
| Обратный праймер | GTACGCCTAATTACGTGGTTCT       | -         | -        |                 |
| Зонд 1           | CGCACTCTTTATACGCAATTACGCACGT | FAM       | BHQ1     |                 |
| Зонд 2           | CGCACTCTTTATGCGCAATTACGCACG  | R6G       | BHQ1     |                 |

ций между SNP в костном морфогенетическом белке-2 и размерно-весовыми характеристиками рыб [28]. В данном исследовании ставится цель разработки тест-системы для генотипирования радужной форели методом ПЦР в режиме реального времени по SNP, расположенном в гене *BMP-2* в позиции 4:28632407. Задачи исследования разделились на несколько этапов, где вначале производилось снятие размерно-весовых показателей и отбор образцов тканей от стада-производителей радужной форели. Далее выполнялся анализ участка гена *BMP-2* и подбор праймеров с зондами для генотипирования. В заключение проведенный статистический анализ установил ассоциативные связи генотипов с фенотипическими показателями.

**Материалы и методы.** Объектом нашего исследования были образцы ДНК самок радужной форели породы рофор в возрасте двух лет. Сбор биологического материала и фенотипических показателей проводился на базе Федерального селекционно-генетического центра рыбоводства в поселке Ропша. С каждой рыбы были сняты метрические показатели (масса тела, длина по Смиуту, длина до конца чешуйчатого покрова, длина головы, толщина и высота тела) с помощью мерной доски и весов. От каждой особи с помощью хирургических ножниц и пинцета был взят биологический материал — жировой плавник. Каждый полученный образец помещался в пробирку типа Eppendorf объемом 2 мл с этиловым спиртом.

Экстракция ДНК от полученных биологических образцов проводилась фенольно-хлороформным методом. Каждый образец перед началом выделения ДНК гомогенизировался с помощью гомогенизатора Precellys 24 («Bertin Technologies», Франция), с использованием металлических шариков диаметром 2 мм. Количество и качество полученных образцов ДНК оценивалось с помощью спектрофотометра NanoDrop 2000 («ThermoFisher», США). Для генотипирования рыб с помощью полимеразной цепной реакции в режиме реального времени по SNP гена *BMP-2* расположенного на 4 хромосоме во 2 интроне (A/G, позиция 28632407 п.н.) был осуществлен подбор праймеров и зондов. Праймеры и зонды подбирались в онлайн сервисе Integrated DNA Technologies.

В качестве негативного контроля использовался полученный раствор без добавления в него ДНК. Положительными контролями являлись

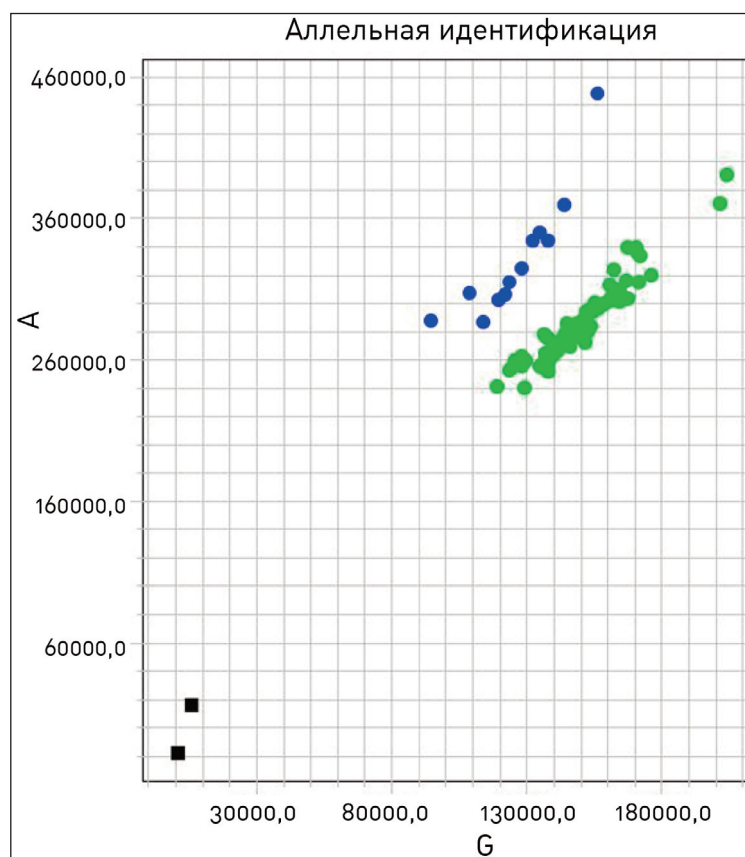


Рис. 1. График аллельной идентификации образцов. Черный квадрат — отрицательный контроль, синий круг — гетерозиготный образец, зеленый круг — гомозиготный образец GG.

образцы ДНК, которые были секвенированы нами ранее на генетическом анализаторе 3500 Applied Biosystems («ThermoFisher», США). Для постановки ПЦР в режиме реального времени использовались плашки на 96 лунок с оптически прозрачной пленкой. Амплификация проводилась на приборе QuantStudio 5 Real-Time PCR (США). Для проведения ПЦР в режиме реального времени использовался коммерческий набор «БиоМастер HS-qPCR-Спец» («Биолабмикс», Россия) согласно протоколу производителя.

Полученные результаты были обработаны в программе Microsoft Excel при использовании t-критерия Стьюдента.

**Результаты и обсуждение.** В результате сбора биологического материала в Федеральном селекционно-генетическом центре рыбоводства всего было получено 200 образцов биологического материала рыб и фенотипических показателей к ним. После экстракции ДНК все образцы прошли оценку количества и качества ДНК и были пригодны для дальнейшей работы с ними. По результатам In Silico анализа были подобраны праймеры и зонды, которые представлены в таблице 1. В результате проведения ПЦР в режиме реального времени было генотипировано 200 образцов ДНК радужной форели породы рофор (рис. 1).

После проведения статистического анализа было выявлено, что по исследуемому SNP гена *BMP-2* особей с гетерозиготным генотипом AG было подавляющее большинство (92 %), гомозигот по аллелю G составило 8 %. Рыбы с гомозиготным генотипом AA в выборке отсутствовали. Частоты встречаемости аллелей в выборке были практически одинаковыми — 46 % и 54 %, соответственно.

Был проведен статистический анализ ассоциативных связей генотипов с фенотипическими показателями. Результат представлен в таблице 2. В результате анализа ассоциативных связей не было выявлено статистически достоверных различий генотипов с фенотипическими признаками. Данный результат может быть обусловлен выборкой, в которой отсутствовали особи с генотипом AA. Возможно, что генотип AA является минорным в исследуемой популяции. Это могло случиться по причине искусственного отбора рыб перед нерестовыми кампаниями. Как правило, родительские пары формируются из особей, чьи размеры больше средних, но не слишком крупные, поэтому генотип AA мог быть ассоциирован либо с очень крупными особями, либо с малорослыми и не попал в выборку при селекционных мероприятиях. Другая причина отсутствия ассоциативных связей статистически достоверных различий

генотипов с фенотипическими признаками может быть связана с дублированным геномом радужной форели. Геном радужной форели содержит две копии гена *BMP-2*, а значит на одной из копий аналогичный полиморфизм может отсутствовать. Это дает предпосылки к подбору тест-систем для маркер-ассоциированной селекции радужной форели с учетом двух копий исследуемых генов.

**Закключение.** Благодаря разработке инструментов, которые позволяют проводить геномную селекцию для улучшения качества выращиваемых гидробионтов, можно заметно улучшить производственные показатели аквакультуры. Для повышения эффективности селекционного разведения радужной форели необходимо пользоваться последними достижениями геномной селекции, а именно внедрять благоприятные полиморфизмы в целевые [6], каковым является полиморфизм в гене *BMP-2* [28], и разрабатывать специализированные тест-системы для генотипирования радужной форели.

Данное исследование позволило разработать и апробировать тест-систему для генотипирования по 4:28632407 A/G в гене *BMP-2* радужной форели породы Рофор. Полученные результаты могут быть использованы в геномной селекции радужной форели.

Таблица 2. Ассоциаций генотипов с показателями у самок радужной форели

| Показатель                             | Генотип |               |               |
|----------------------------------------|---------|---------------|---------------|
|                                        | AA      | AG=16         | GG=184        |
| Масса рыбы, г.                         | -       | 1200,13±19,10 | 1172,62±52,94 |
| Длина тела по Смиту, см.               | -       | 44,32±0,24    | 44,27±0,67    |
| Длина до конца чешуйчатого покрова, см | -       | 41,17±0,23    | 41,09±0,64    |
| Длина головы, см.                      | -       | 8,37±0,05     | 8,21±0,12     |
| Высота тела, см.                       | -       | 10,97±0,07    | 10,92±0,23    |
| Толщина тела, см.                      | -       | 4,79±0,03     | 4,77±0,10     |

## Литература

1. Salem M. Genome-Wide Association Analysis With a 50K Transcribed Gene SNP-Chip Identifies QTL Affecting Muscle Yield in Rainbow Trout / M. Salem, R. Al-Tobasei et al. // Front Genet. — 2018. — Vol. 9: 387.
2. D'Ambrosio J. Genome-wide estimates of genetic diversity, inbreeding and effective size of experimental and commercial rainbow trout lines undergoing selective breeding / J. D'Ambrosio, F. Phocas, P. Hafraÿ et al. // Genet Sel Evol. — 2019. — Vol.51. — №1: 26.
3. Al-Tobasei R. Genomic predictions for fillet yield and firmness in rainbow trout using reduced-density SNP panels / R. Al-Tobasei et al. // BMC Genomics. — 2021. — Vol. 22. — № 1: 92.
4. Leeds T. D. Response to five generations of selection for growth performance traits in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) / T. D. Leeds, R. L. Vallejo, G. M. Weber, D. Gonzalez-Pena, J. T. Silverstein // Aquaculture. — 2016. — Vol. 465. — №1. — P. 341–351.
5. Lefevre F. Selection for muscle fat content and triploidy affect flesh quality in pan-size rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* / F. Lefevre, M. Cardinal et al. // Aquaculture. — 2015. — Vol. 448. — P. 569–577.
6. Boudry P. Current status and potential of genomic selection to improve selective breeding in the main aquaculture species of International Council for the Exploration of the Sea (ICES) member countries / P. Boudry, F. Allal // Aquaculture Reports. — 2021. — Vol. 20: 100700 p.

7. Sae-Lim P. Defining desired genetic gains for rainbow trout breeding objective using analytic hierarchy process / P. Sae-Lim, H. Komen et al. // J Anim Sci. – 2012. – Vol. 90. – № 6. – P. 1766–1776.
8. Ali A. Genome-Wide Association Study Identifies Genomic Loci Affecting Fillet Firmness and Protein Content in Rainbow Trout / A. Ali, R. Al-Tobasei et al. // Front. Genet. – 2019. – Vol. 10: P. 386.
9. Gonzalez-Pena D. Genome-Wide Association Study for Identifying Loci that Affect Fillet Yield, Carcass, and Body Weight Traits in Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*) / D. Gonzalez-Pena, G. Gao et al. // Front Genet. – 2016. – Vol. 7: P. 203.
10. Никандров В. Я. Репродуктивный потенциал радужной форели *Oncorhynchus mykiss* и особенности его проявления / В. Я. Никандров, Н. И. Шиндавина, А. А. Зинченко, Ю. Н. Лукина // Вопросы рыболовства. – 2024. – Vol.25. – № 2. – P. 105–110.
11. Bernard M. Development of a High-Density 665 K SNP Array for Rainbow Trout Genome-Wide Genotyping / M. Bernard, A. Dehaullon et al. // Front Genet. – 2022. – Vol. 13: 941340 p.
12. Yoshida G. M. Genome-Wide Association Study and Cost-Efficient Genomic Predictions for Growth and Fillet Yield in Nile Tilapia (*Oreochromis niloticus*) / G. M. Yoshida, J. P. Lhorente et al. // G3 (Bethesda). – 2019. – Vol. 9. – № 8. – P. 2597–2607.
13. Grafe I. TGF- $\beta$  Family Signaling in Mesenchymal Differentiation / I. Grafe, S. Alexander // Cold Spring Harb Perspect Biol. – 2018. – Vol. 10. – №5: a022202.
14. Katagiri T. Bone Morphogenetic Proteins / T. Katagiri, T. Watabe // Cold Spring Harb Perspect Biol. – 2016. – Vol. 8. – №6: a021899.
15. Wu M. TGF- $\beta$  and BMP signaling in osteoblast, skeletal development, and bone formation, homeostasis and disease / M. Wu, G. Chen, Y. P. Li // Bone Res. – 2016. – Vol.4: 16009.
16. Zhang Y. Genome-wide identification and structural analysis of the *BMP* gene family in Triplophysa dalaica / Y. Zhang, J. Yu et al. // BMC Genomics. – 2024. – Vol. 25. – №1: 194.
17. Halloran D. Bone Morphogenetic Protein-2 in Development and Bone Homeostasis / D. Halloran, H. W. Durbano, A. Nohe // J. Dev Biol. – 2020. – Vol. 8. – №3: 19.
18. Yang L. BMP2 increases hyperplasia and hypertrophy of bovine subcutaneous preadipocytes via BMP/SMAD signaling / L. Yang, W. Hao et al. // In Vitro Cell. Dev. Biol. - Animal. – 2022. – Vol. 58. – № 3. – P. 210–219.
19. Sivagurunathan U. Effects of dietary vitamin D3 levels on survival, mineralization, and skeletal development of gilthead seabream (*Sparus aurata*) larvae / U. Sivagurunathan, D. Dominguez et al. // Aquaculture. – 2022. – Vol. 560: 738505.
20. Song I. Effects of *BMP-2* and vitamin D3 on the osteogenic differentiation of adipose stem cells / I. Song, B. S. Kim, C. S. Kim, Im G.I. // Biochem Biophys Res Commun. – 2011. – Vol. 408. – № 1. – P. 126–131.
21. Shahi M. Regulation of Bone Metabolism / M. Shahi, A. Peymani, M. Sahmani // Rep. Biochem. Mol. Biol. – 2017. – Vol. 5. – №2. – P. 73–82.
22. Paxton H. Regional variation in the microhardness and mineralization of vertebrae from brown and rainbow trout / H. Paxton, R. H. C. Bonser, K. Winwood // Journal of Fish Biology. – 2006. – Vol. 68. – P. 481–487.
23. Salazar V. S. BMP signalling in skeletal development, disease and repair / V. S. Salazar, L.W. Gamer, V. Rosen // Nat Rev Endocrinol. – 2016. – Vol. 12. – №4. – P. 203–221.
24. Щербаков Ю. С. Встречаемость аномалий у форели ропшинская золотистая / Ю. С. Щербаков, Н. В. Дементьева, В. П. Терлецкий, В. И. Тыщенко, В. М. Голод // Вестник КрасГАУ. – 2020. – № 11. – С. 145–151.
25. Berillis P. Factors that can lead to the development of skeletal deformities in fishes: A review / P. Berillis // J of Fisheries sciences. – 2015. – Vol. 9 – №3. – P. 17–23.
26. Reis Neto R.V. Genome-wide association analysis for body weight identifies candidate genes related to development and metabolism in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) / R. V. Reis Neto, G. M. Yoshida, J. P. Lhorente, J. M. Yanez // Mol Genet Genomics. – 2019. – Vol. 294. – №3. – P. 563–571.
27. Щербаков Ю. С. Анализ главных компонентов и сравнительная характеристика самок радужной форели трех разных пород / Ю. С. Щербаков, В. И. Тыщенко // Вестник КрасГАУ. – 2021. – Т. 8. – С. 113–118.
28. Terletskiy V. P. Selection of brood fish and accounting of height and weight parameters in rainbow trout of a new breeding form – Golden trout / V. P. Terletskiy, V. I. Tyshchenko, Y. S. Shcherbakov // Mezhdunarodny'j nauchno-issledovatel'skij zhurnal [International Research Journal]. – 2022. – № 8: P. 122.

Nikolaeva O., Azovtseva A., Ryabova A.

## Test system customization for genotyping the *BMP-2* gene 4:28632407 A/G polymorphism in aquacultured rainbow trout

### Abstract.

*The application of genomic selection in rainbow trout breeding is becoming more feasible with the advent of recent advances in molecular genetics. However, there are significant challenges in the field of aquaculture, as genomic and marker-assisted selection programmes for aquaculture are considerably behind those for terrestrial farm animals. Currently, there is an actual task to develop test systems for genotyping rainbow trout and for efficient enrichment of target populations with favourable polymorphisms. The objective of this study is to develop a test system based on the promising BMP-2 gene and to establish genomic associations between single nucleotide polymorphism (SNP) and the size-weight characteristics of fish.*

**Materials and methods.** *The material for the study was comprised of Rofor rainbow trout specimens (n=200), which were evaluated for the following size-weight parameters: fish weight, body length to the end of the caudal fin, length to the end of the scales, head length, height, and body thickness.*

**Results.** *The results of the study revealed that the overwhelming majority of fish (98 %) exhibited a heterozygous genotype (AG) while homozygous genotype AA was entirely absent from the sample. The analysis did not identify any notable correlations between size-weight parameters but a potential explanation for this could be the absence of the AA genotype within the population. Nevertheless, the test system was successfully developed and validated. The study of the influence of this polymorphism contributed to the knowledge of rainbow trout genetics. Further application of the developed test system in rainbow trout breeding programs is possible after conducting additional studies to identify economically useful genetic associations in larger samples of individuals.*

**Key words:** *BMP-2; trout; aquaculture; genotyping; polymorphism.*

Authors:

Nikolaeva O. — e-mail: trantoburito@mail.ru;

Azovtseva A. — e-mail: ase4ica15@mail.ru;

Ryabova A. — e-mail: aniuta.riabova2016@yandex.ru.

Russian Research Institute of Farm Animal Genetics and Breeding — Branch of the L.K. Ernst Federal Research Center for Animal Husbandry; 196625, Russia, St. Petersburg, Tyarlevo, Moskovskoe shosse, 55a.

### References

1. Salem M. Genome-Wide Association Analysis With a 50K Transcribed Gene SNP-Chip Identifies QTL Affecting Muscle Yield in Rainbow Trout / M. Salem, R. Al-Tobasei, A. Ali, D. Lourenco, G. Gao, Y. Palti, B. Kenney, T. D. Leeds // *Front Genet.* — 2018. — Vol. 9: 387. DOI: 10.3389/fgene.2018.00387.
2. D'Ambrosio J. Genome-wide estimates of genetic diversity, inbreeding and effective size of experimental and commercial rainbow trout lines undergoing selective breeding / J. D'Ambrosio, F. Phocas, P. Haf-ray et al. // *Genet Sel Evol.* — 2019. — Vol. 51. — №1: 26.
3. Al-Tobasei R. Genomic predictions for fillet yield and firmness in rainbow trout using reduced-density SNP panels / R. Al-Tobasei, A. Ali, A. L. S. Garcia, D. Lourenco, T. Leeds, M. Salem // *BMC Genomics.* — 2021. — Vol. 22. — № 1: 92.
4. Leeds T. D. Response to five generations of selection for growth performance traits in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) / T. D. Leeds, R. L. Vallejo, G. M. Weber, D. Gonzalez-Pena, J. T. Silverstein // *Aquaculture.* — 2016. — Vol. 465. — №1. — P. 341–351.
5. Lefevre F. Selection for muscle fat content and triploidy affect flesh quality in pan-size rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* / F. Lefevre, M. Cardinal et al. // *Aquaculture.* — 2015. — Vol. 448. — P. 569–577.
6. Boudry P. Current status and potential of genomic selection to improve selective breeding in the main aquaculture species of International Council for the Exploration of the Sea (ICES) member countries / P. Boudry, F. Allal // *Aquaculture Reports.* — 2021. — Vol. 20: 100700 p.
7. Sae-Lim P. Defining desired genetic gains for rainbow trout breeding objective using analytic hierarchy process / P. Sae-Lim, H. Komen et al. // *J Anim Sci.* — 2012. — Vol. 90. — № 6. — P. 1766–1776.

8. Ali A. Genome-Wide Association Study Identifies Genomic Loci Affecting Filet Firmness and Protein Content in Rainbow Trout / A. Ali, R. Al-Tobasei et al. // Front. Genet. – 2019. – Vol. 10: P. 386.
9. Gonzalez-Pena D. Genome-Wide Association Study for Identifying Loci that Affect Fillet Yield, Carcass, and Body Weight Traits in Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*) / D. Gonzalez-Pena, G. Gao et al. // Front Genet. – 2016. – Vol. 7: P. 203.
10. Nikandrov V. Ya. Reproductive potential of rainbow trout *Oncorhynchus mykiss* and features of its manifestation / V. Ya. Nikandrov, N. I. Shindavina, A. A. Zinchenko, Yu. N. Lukina // Fishery Issues. – 2024. – Vol. 25. – No. 2. – P. 105–110.
11. Bernard M. Development of a High-Density 665 K SNP Array for Rainbow Trout Genome-Wide Genotyping / M. Bernard, A. Dehaullon et al. // Front Genet. – 2022. – Vol. 13: 941340 p.
12. Yoshida G. M. Genome-Wide Association Study and Cost-Efficient Genomic Predictions for Growth and Fillet Yield in Nile Tilapia (*Oreochromis niloticus*) / G. M. Yoshida, J. P. Lhorente et al. // G3 (Bethesda). – 2019. – Vol. 9. – № 8. – P. 2597–2607.
13. Grafe I. TGF- $\beta$  Family Signaling in Mesenchymal Differentiation / I. Grafe, S. Alexander // Cold Spring Harb Perspect Biol. – 2018. – Vol. 10. – №5: a022202.
14. Katagiri T. Bone Morphogenetic Proteins / T. Katagiri, T. Watabe // Cold Spring Harb Perspect Biol. – 2016. – Vol. 8. – №6: a021899.
15. Wu M. TGF- $\beta$  and BMP signaling in osteoblast, skeletal development, and bone formation, homeostasis and disease / M. Wu, G. Chen, Y. P. Li // Bone Res. – 2016. – Vol.4: 16009.
16. Zhang Y. Genome-wide identification and structural analysis of the *BMP* gene family in *Triplophysa dalaica* / Y. Zhang, J. Yu et al. // BMC Genomics. – 2024. – Vol. 25. – №1: 194.
17. Halloran D. Bone Morphogenetic Protein-2 in Development and Bone Homeostasis / D. Halloran, H. W. Durbano, A. Nohe // J. Dev Biol. – 2020. – Vol. 8. – №3: 19.
18. Yang L. BMP2 increases hyperplasia and hypertrophy of bovine subcutaneous preadipocytes via BMP/SMAD signaling / L. Yang, W. Hao et al. // In Vitro Cell. Dev. Biol. - Animal. – 2022. – Vol. 58. – № 3. – P. 210–219.
19. Sivagurunathan U. Effects of dietary vitamin D3 levels on survival, mineralization, and skeletal development of gilthead seabream (*Sparus aurata*) larvae / U. Sivagurunathan, D. Dominguez et al. // Aquaculture. – 2022. – Vol. 560: 738505.
20. Song I. Effects of *BMP-2* and vitamin D3 on the osteogenic differentiation of adipose stem cells / I. Song, B. S. Kim, C. S. Kim, Im G.I. // Biochem Biophys Res Commun. – 2011. – Vol. 408. – № 1. – P. 126–131.
21. Shahi M. Regulation of Bone Metabolism / M. Shahi, A. Peymani, M. Sahmani // Rep. Biochem. Mol. Biol. – 2017. – Vol. 5. – № 2. – P. 73–82.
22. Paxton H. Regional variation in the microhardness and mineralization of vertebrae from brown and rainbow trout / H. Paxton, R. H. C. Bonser, K. Winwood // Journal of Fish Biology. – 2006. – Vol. 68. – P. 481–487.
23. Salazar V. S. BMP signalling in skeletal development, disease and repair / V. S. Salazar, L.W. Gamer, V. Rosen // Nat Rev Endocrinol. – 2016. – Vol. 12. – №4. – P. 203–221.
24. Shcherbakov Yu. S. Occurrence of anomalies in the Ropsha golden trout / Yu. S. Shcherbakov, N. V. Dementyeva, V. P. Terletsky, V. I. Tyshchenko, V. M. Golod // Bulletin of KrasSAU. – 2020. – No. 11. – P. 145–151.
25. Berillis P. Factors that can lead to the development of skeletal deformities in fishes: A review / P. Berillis // J of Fisheries sciences. – 2015. – Vol. 9 – №3. – P. 17–23.
26. Reis Neto R.V. Genome-wide association analysis for body weight identifies candidate genes related to development and metabolism in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) / R. V. Reis Neto, G. M. Yoshida, J. P. Lhorente, J. M. Yanez // Mol Genet Genomics. – 2019. – Vol. 294. – №3. – P. 563–571.
27. Shcherbakov Yu. S. Analysis of the main components and comparative characteristics of female rainbow trout of three different breeds / Yu. S. Shcherbakov, V. I. Tyshchenko // Bulletin of KrasSAU. – 2021. – Vol. 8. – P. 113–118.
28. Terletskiy V. P. Selection of brood fish and accounting of height and weight parameters in rainbow trout of a new breeding form – Golden trout / V. P. Terletskiy, V. I. Tyshchenko, Y. S. Shcherbakov // Mezhdunarodny'j nauchno-issledovatel'skij zhurnal [International Research Journal]. – 2022. – № 8: P. 122.