



# Kent Academic Repository

Trukhina, A V, Romanov, Michael N., Smirnov, Alexandr F and Narushin, Valeriy G. (2021) *[Prospects for producing individuals of predominantly a certain sex in birds]* Перспективы получения особей преимущественно определенного пола у птиц. In: Materials of the 3rd International Scientific and Practical Conference / Материалы 3-й Международной научно-практической конференции "Молекулярные технологии для анализа экспрессии генов продуктивности и устойчивости к заболеваниям животных". . pp. 80-94. Sel'skokhozyaistvennyye tekhnologii / Сельскохозяйственные технологии, Moscow, Russia / Москва, Россия  
Downloaded from

<https://kar.kent.ac.uk/90626/> The University of Kent's Academic Repository KAR

## The version of record is available from

<https://doi.org/10.18720/SPBPU/2/z21-43>

## This document version

Publisher pdf

## DOI for this version

## Licence for this version

UNSPECIFIED

## Additional information

In Russian; English abstract

## Versions of research works

### Versions of Record

If this version is the version of record, it is the same as the published version available on the publisher's web site. Cite as the published version.

### Author Accepted Manuscripts

If this document is identified as the Author Accepted Manuscript it is the version after peer review but before type setting, copy editing or publisher branding. Cite as Surname, Initial. (Year) 'Title of article'. To be published in **Title of Journal** , Volume and issue numbers [peer-reviewed accepted version]. Available at: DOI or URL (Accessed: date).

## Enquiries

If you have questions about this document contact [ResearchSupport@kent.ac.uk](mailto:ResearchSupport@kent.ac.uk). Please include the URL of the record in KAR. If you believe that your, or a third party's rights have been compromised through this document please see our [Take Down policy](https://www.kent.ac.uk/guides/kar-the-kent-academic-repository#policies) (available from <https://www.kent.ac.uk/guides/kar-the-kent-academic-repository#policies>).

# ПЕРСПЕКТИВЫ ПОЛУЧЕНИЯ ОСОБЕЙ ПРЕИМУЩЕСТВЕННО ОПРЕДЕЛЕННОГО ПОЛА У ПТИЦ

Трухина А.В.,<sup>1</sup> Романов М.Н.,<sup>2,3</sup> Смирнов А.Ф.,<sup>1</sup> Нарушин В.Г.<sup>4</sup>

<sup>1</sup>ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный университет», Санкт-Петербург, Россия

<sup>2</sup>ФГБОУ ВО «Московская государственная академия ветеринарной медицины и биотехнологии – МВА имени К. И. Скрябина», Москва, Россия;

<sup>3</sup>Университет Кента, Кентербери, Великобритания;

<sup>4</sup>ООО «Вита-Маркет», Запорожье, Украина

E-mail: trukhina\_ant@mail.ru

## Аннотация

Пол – признак, имеющий важнейшее значение для существования всего живого и являющийся основой полового размножения. В последние годы достигнуты определенные успехи в изучении проблем пола: расшифрованы в первом приближении принципы его детерминации у ряда таксонов, описаны группы полоопределяющих генов. Существуют разнообразные варианты детерминации и регуляции пола. В биологии принято говорить о наличии двух основных систем его определения – генетической (GSD) и средовой (ESD). Накопленные сведения в этой области постепенно позволяют в полной мере представить четкую картину этого феномена. Имеются общие представления о взаимосвязи гаметного и гонадного пола и закономерностях вхождения в мейоз. В связи с имеющимися сложностями и ограничениями желательно использовать в исследованиях подобных явлений удобные, подходящие объекты. Птицы и, в первую очередь, курица особенно удобны для таких работ ввиду возможности оперировать с ранними эмбрионами и первичными половыми клетками, а также благодаря имеющимся данным по генетике пола у птиц. Кроме того, имеется и практический аспект этих исследований – необходимость определения пола эмбриона до завершения инкубации, например, при получении бройлеров, обладающих существенными половыми различиями

на стадии их промышленного выращивания. Предлагаемый обзор охватывает информацию, накопленную в этой области. Описаны также возможные подходы к получению особей одного определенного пола птиц с помощью трансгенных методик на молекулярно-клеточном уровне, а также неразрушающих технологий применительно к сортировке оплодотворенных инкубационных яиц по полу.

Ключевые слова: птицы, детерминация пола, GSD, половые хромосомы, регуляция пола, неразрушающие технологии, сортировка яиц по полу

### **Введение**

Признак пола имеет важнейшее значение для существования живых организмов: он лежит в основе полового размножения. Это обуславливает фундаментальную значимость наиболее полного изучения особенностей организации и функционирования половых хромосом, а так же генетической регуляции процессов детерминации и дифференцировки пола. Известно, что исключительно генетический механизм детерминации пола встречается только у млекопитающих и птиц (у всех их видов). При этом система детерминации пола у птиц отлична от таковой у млекопитающих и характеризуется гетерогаметностью самок, т.е. наличием у них половых хромосом  $Z$  и  $W$ .

Курица (*Gallus gallus*) и птицы в целом, с одной стороны, выступают как важные объекты фундаментальной биологии и генетики, особенно эмбриогенетики, а с другой – имеют крайне существенное практическое значение для человека [20]. Разведение высокопродуктивных линий и кроссов сельскохозяйственной птицы и их эффективное использование предполагают раздельное по полу выращивание бройлеров в мясном птицеводстве и предпочтительное получение самок при производстве яиц [1–3,6,13].

В связи с этим и несмотря на наличие методик по ПЦР-диагностике пола у птиц [33], остро необходимо разработать новые методы раннего определения пола и усовершенствовать старые, которые способствовали бы смещению полового соотношения у сельскохозяйственных птиц в пользу самок или сам-

цов [4]. Решение этой задачи требует накопления конкретных знаний по генетике пола птиц при использовании примордиальных половых клеток и трансгенных животных. Разработка биотехнологических подходов позволит перейти к управлению детерминацией пола у птиц и дальнейшей интенсификации птицеводческой промышленности.

### **Проблемы детерминации пола**

В последние годы в направлении изучения детерминации пола достигнуты определенные успехи. В частности, расшифрованы в первом приближении принципы детерминации пола у ряда таксонов и описаны различные системы детерминации пола у рыб, амфибий, рептилий, птиц и млекопитающих [23], а также группы полоопределяющих генов [25]. При этом выделяют два главных механизма детерминации пола: 1) средовой, под воздействием факторов окружающей среды, – ESD (environmental sex determination) и 2) генетический – GSD (genetic sex determination), которые часто встречаются одновременно в пределах одной систематической группы.

Для групп теплокровных животных – млекопитающих и птиц – характерен только GSD-механизм в двух противоположных формах – с гетерогаметными самцами или самками, причем этот механизм принципиально отличается у этих групп животных. Млекопитающие обладают самцовым XY-гетерогаметным полом. Появление самцов связано с последовательной экспрессией Y-хромосомного гена *SRY* и аутомных генов *SOX9*, *AMH* и *FGF9*. Развитие яичников характеризуется активностью цепочки генов *WNT4-RSPO1*– $\beta$ -катенин [26,45].

Для птиц характерна гетерогаметность самок (ZW). При этом практически отсутствуют данные о роли в этом процессе W-хромосомы, в связи с чем функциональная значимость W-хромосомы и связанных с ней генов остается дискуссионной [12]. В настоящее время накоплена некоторая информация о частичном влиянии стероидных гормонов на первичное определение пола, а также о наличии Z-хромосомного полоопределяющего гена с гипотетическим эпигенетическим контролем его выключения у самок, на фоне отсутствия SRY-подобного гена

млекопитающих. В качестве такого полоопределяющего фактора у птиц рассматривают ген *DMRT1*, который имеет два Z-хромосомных аллеля у самцов и только один у самок. При этом предполагают, что в детерминации пола у птиц основную роль играет доза этого гена.

### **Генетическая детерминация пола птиц**

Механизм GSD у птиц чрезвычайно своеобразен и остается не до конца выясненным. Детальное понимание этого механизма приблизит к разработке эффективных методов прижизненного определения пола эмбрионов и к возможности контроля и смещения полового соотношения.

Ранее предложен W-хромосомный фактор (гипотетический фактор F) – спусковой механизм детерминации пола у птиц [7,32,35].

Для птиц, так же, как и для сумчатых, но не плацентарных млекопитающих, характерен эстрогенный контроль образования яичников [7]. Несмотря на наличие половых хромосом, полоопределяющие гены у этих систематических групп разные. Постулируется параллельное развитие специализированных органов соматической природы (гонад) и образующихся в них половых клеток. Недостаточно известно о влиянии первичных половых клеток на соматические клетки гонад и наоборот, а на молекулярном и цитогенетическом уровнях – о генах, контролирующих эти процессы. Птицы и в первую очередь *Gallus gallus* особенно удобны для таких работ ввиду возможности оперировать с ранними эмбрионами и первичными половыми клетками. Накоплены и определенные сведения по генетике пола курицы.

В настоящий момент существует общее представление о детерминации пола у птиц и прежде всего у курицы, а именно: предложены основные гены — кандидаты на роль в определении пола и схема их взаимодействия [38], постулируется ключевая роль стероидов, и прежде всего эстрогена, в формировании эмбриональных гонад у этой систематической группы [7], рассматривается возможность самостоятельной регуляции самками пола потомков [31].

Из литературы известно о наличии в Z-хромосоме курицы МНМ-сегмента, с которого у самки синтезируется lncРНК (длинная некодирующая РНК), накапливающаяся в области МНМ-района и инактивирующая его, а также распространяющаяся на некоторое расстояние от него вдоль хромосомы [15,50]. Высказывается мнение о том, что эта lncРНК влияет на транскрипцию соседних с МНМ-участком генов. Существуют предположения (на основе косвенных данных) о связи этого влияния с возможными межполовыми различиями в уровне экспрессии аллелей гена *DMRT1* в двух Z-хромосомах самцов и одной Z-хромосоме самок. Возможно, такой механизм реализуется очень рано в эмбриональном развитии. Проверка высказанной гипотезы требует использования деметилирующего ДНК-агента (например, 5-азациитидина) для изучения контроля метилированием/деметилированием МНМ-района за появлением самцов и самок, оценки транскрипции МНМ-сегмента и гена *DMRT1*, контроля за метилированием упомянутых участков. Желательна оценка транскрипции ряда других генов, связанных с определением пола (*AMH*, *SOX9*, *PGDS*, *CYP19A1* и др.), и различий вхождения в мейоз половых клеток самцов и самок после воздействия тем же агентом.

В 2014–2015 годах Trukhina et al. [47,48] показали, что 5-азациитидин не влияет на инверсию пола у самцов, как предполагалось, но приводит к преждевременному вхождению в мейоз гоноцитов в семенниках. Влияет ли 5-азациитидин на этот процесс самостоятельно (посредством деметилирования ДНК в МНМ-районе и других участках генома курицы) или через посредников, пока не известно. Данная работа требует дальнейшего продолжения. Кроме того, хорошо было бы изучить и влияние других участков половых хромосом на детерминацию и дифференциацию пола у птиц (например, влияние гетерохроматинизации целой W-хромосомы и части Z-хромосомы и их генов на определение пола), а также аутосомных генов, которые имеют полоопределяющую функцию у млекопитающих и располагаются в их половых хромосомах.

Остается неясным и вопрос о роли половых гормонов (андрогенов, эстрогенов и прогестерона) в определении пола у птиц и

возможности полной его инверсии при подобной предобработке [19]. Trukhina et al. [47,48] усовершенствовали методику введения в яйцо различных веществ, влияющих на стероидогенез (летрозол) и рецепцию стероидных гормонов (тамоксифен), и получили предварительные результаты с минимальной эмбриональной смертностью и почти 100%-м влиянием этих веществ на развитие гонад у эмбрионов курицы. Полученные результаты в экспериментах с ингибированием ароматазы показали, что эстрогены влияют на развитие эмбриона на более ранних сроках развития эмбриона, чем предполагалось, а именно на стадии бластодиска до начала инкубации яйца. Предполагается, что необходимые для развития гонад эмбриона половые гормоны уже есть в желтке до инкубации. Это предположение требует дальнейшей проверки современными методами (антителами, ПЦР-РВ, цифровой ПЦР и др.).

### **Перспективы регуляции пола и трансгенеза**

Проблемы детерминации и регуляции пола имеют важный практический аспект: они связаны с необходимостью на ранних этапах инкубации определять пол эмбриона при производстве бройлеров (в виду их существенных половых различий) или кур-несушек [49]. При этом представляется крайне актуальным более детальное исследование роли половых хромосом и их сегментов в генетической детерминации пола у курицы с помощью современных молекулярно-цитогенетических и геномных методов, что станет основой для выработки способов контроля и ранней диагностики пола в птицеводстве.

Изучение роли половых хромосом (в целом виде и частично) и полоопределяющих генов, а также половых гормонов в детерминации и дифференциации пола, позволит совместно с трансгенезом получить самоопределяющуюся по полу породу кур. Использование трансгенных животных позволит понять взаимодействие между стероидогенным этапом становления пола у кур и последующим генетическим этапом. Практическое значение для птицеводческой отрасли будут иметь данные экспериментальной проверки возможности контролирования пола у курицы

и апробации способа определения пола у ранних эмбрионов (на 8–9-й день) при получении бройлеров.

Построена гипотетическая схема предполагаемой цепочки полоопределяющих генов [38]. Эта схема становления пола у самцов птиц включает цепочку генов *DMRT1–SOX9–AMH*, которые конкурентно взаимодействуют с генами самок, практически с теми же, что и у млекопитающих (*RSPO1*, *WNT4*,  $\beta$ -катенин, *FOXL2*, ген ароматазы) [16,37,46]. Существует также предположение о наличии у птиц механизма клеточно-автономной идентификации пола (CASI), отсутствующего у большинства позвоночных и устанавливаемого при оплодотворении [9,17].

В отличие от млекопитающих, где пол жестко определяется их генотипом, у птиц, как и у других групп позвоночных, наблюдается его частичная или полная обратимость при воздействии экзогенных гормональных агентов [11,21]. У рыб и амфибий обычным является чувствительность развивающихся гонад к андрогенам и эстрогенам, а у рептилий, птиц и сумчатых – только к эстрогенам. У плацентарных млекопитающих дифференциация гонад не зависит от половых стероидов и может происходить без их участия. Возможно, такая тенденция связана со стабильностью условий вынашивания потомства или инкубации яиц [7]. Не исключено, что в раннем эмбриогенезе некий гипотетический W-хромосомный ген индуцирует появление ароматазы или фермента  $17\beta$ -HSD (17-бета-гидроксистероиддегидрогеназы), связанного с ее синтезом. К сожалению, практически отсутствуют работы по генетике этой хромосомы и ее генов, связанных с полом [35].

Имеются экспериментальные указания на возможность индукции инверсии пола у птиц ингибитором ароматазы еще до начала инкубации [14]. Среди позвоночных животных птицы возможно обладают способностью контролировать пол потомства благодаря своей гетерогаметности, а также периферическому расположению мейотической пластинки в ооците и времени первого деления мейоза перед овуляцией. Возможные механизмы такой регуляции и роль половых гормонов в этом процессе и, прежде всего прогестерона, обсуждается [18]. В то



же время в основных эволюционных линиях (стратах) птиц происходило уменьшение гомологичной псевдоаутосомной области, в которой осуществляется рекомбинация между Z- и W-хромосомами, что особенно выражено в стратах новонебных птиц [52]. Выполнены первые работы по использованию трансгенных птиц для изучения детерминации пола, которые дали неоднозначные результаты [7,16,22,28,29,37,40].

В 2001 году у *Gallus gallus* в рамках изучения компенсации дозы генов описан МНМ-район в Z-хромосоме, состоящий из 210 tandemных повторов, где у самок синтезируется lncРНК – молекула размером около 2 т. п. н., которая накапливается в этой же области и распространяется на соседние участки, инактивируя ближайшие гены. Оказалось, что подобный процесс характерен только для самок с гетерогаметностью. Для гомогаметного пола (самцов) характерно гиперметилирование МНМ-района и отсутствие высокомолекулярной РНК [44].

Исследование индукции инверсии пола у кур с помощью ингибиторов ароматазы подтвердило, что самый низкий уровень метилирования с МНМ-ампликона характерен для яичников самок, а самый высокий – в семенниках самцов. Метилирование было более выражено в левой гонаде у значительно инвертированных по полу самок, чем в левом овотестисе у слабо инвертированных самок [51]. В недавней работе бразильских генетиков с использованием ПЦР в реальном времени (ПЦР-РВ) продемонстрирована наибольшая транскрипционная активность МНМ-сегмента на 8-й и 14-й день. Показано, что отсутствие транскрипции этого участка совпадает с повышенной активностью DMRT1 [15,50]. Вместе с тем существуют экспериментальные данные, свидетельствующие о существенно более раннем появлении такой некодирующей РНК [38]. Существует предположение о том, что работу МНМ-участка контролирует находящийся в W-хромосоме ген – гипотетический F-фактора [7,36,39].

В настоящее время появляются публикации, обращающие внимание на эпигенетические механизмы контроля детерминации пола у млекопитающих, птиц и других объектов исследований [8,43]. Имеется также работа, в которой продемонстрирован подобный эпигенетический контроль активности промотора ге-

на *CYP19A1* (ароматазы) после инъекции эстрогена на 3-й день инкубации [22].

Актуальность подобных исследований подтверждается поиском научных решений, могущих привести к значительному сокращению в птицеводстве неоправданного уничтожения особей ненужного пола после инкубации, количество которых сейчас насчитывает миллионы голов ежегодно только в странах Евросоюза [10,24,27]. На настоящий момент тестируется ряд принципиально пригодных подходов для решения этой проблемы с использованием спектрометрии Фурье [41,42] или антител к половым гормонам [49].

### **Неразрушающие технологии определения пола**

Поиск способов определения пола будущего цыпленка в яйце ведется и с помощью других подходов. Исследования по определению пола куриного эмбриона и манипуляциям с ним осуществлялись в свое время в бывшем СССР; при этом ставились задачи как обнаружения половых различий в яйцах [30], так сдвига полового соотношения выведенных цыплят [33]. Однако практического применения подобные методы не нашли.

Одним из заслуживающих внимания подходов может быть разработка неразрушающих методов предынкубационного прогнозирования пола эмбриона в куриных яйцах на основе взаимосвязи между морфологическими параметрами яйца и полом цыпленка.

Насколько обнадеживающим может быть это направление исследования, можно судить по работе Нарушина и др. [5,31]. В этом исследовании проверили возможность предынкубационного определения пола яиц при сохранении их целостности и оценили корреляцию между полом будущего куриного эмбриона и плотностью содержимого яйца. Используя обычные физические измерения 160 яиц кур-несушек, были получены несколько параметров и обнаружена корреляция между плотностью содержимого яйца и комплексом таких характеристик, как масса, объем и длина яйца. Регрессионная модель показала высокую корреляцию на уровне 0,82.

После измерения 643 яиц этих же несушек их инкубировали и определяли пол выведенных цыплят. Даже без современной технологии для точного измерения яиц удалось сместить соотношение полов 50:50 до 70:30, отбраковав до начала инкубации около 20% «мужских яиц» ( $p < 0,05$ ) [5,31]. В будущих исследованиях необходимо провести гораздо более точное определение внутренних параметров яйца, включая плотность содержимого, которая может иметь решающее значение для эффективной предынкубационной сортировки самцов и самок *in ovo*.

### **Заключение**

Таким образом, в настоящий момент имеется достаточно много информации о детерминации пола у кур и птиц в целом, однако по ряду моментов нет четких представлений. В частности, нет окончательных представлений о роли W-хромосомных детерминант в определении пола, а также роли и времени воздействия эстрадиола. Нет последовательной схемы действия полоопределяющих генов и полной ясности относительно роли транскрипции в МНМ-участке. Предполагается лишь существование непосредственного контроля соотношения полов в потомстве самками. Не решена практически проблема определения пола эмбрионов и их сортировки на ранних стадиях инкубации. Все эти проблемы требуют дальнейших специальных и детализированных исследований, включая как молекулярно-клеточные подходы и трансгенез, так и разработку неразрушающих технологий для сортировки яиц по полу.

### **Список литературы**

1. Бондаренко Ю.В., Сергеева В.Д., Куранова Э.Н., Романов М.Н. и др. Аутосексная материнская форма мясных кур. Птицеводство, 1987а, 40: 6–11.
2. Бондаренко Ю.В., Романов М.Н. Маркирующие пол скрещивания и аутосексные породы домашней птицы. Интенсивные технологии производства и переработки мяса птицы и яиц, 1987б, с. 51–55.
3. Бондаренко Ю.В., Рожковский А.В., Романов М.Н. и др. Использование генетических систем при выведении аутосексных кроссов яичных кур. Птицеводство, 1989, 42, с. 11–14.

4. Бондаренко Ю.В., Терещенко О.В., Ткачик Т.Е., Захарченко О.П., Гадючко О.Т. Рекомендації з використання сучасних методів визначення статі молодяку сільськогосподарської птиці (теорія та практика). Харків, 2007.

5. Нарушин В.Г., Романов М.Н., Богатырь В.П. К вопросу о взаимосвязи морфологических параметров куриных яиц с полом цыплят. II Украинская конференция по птицеводству, 1996, с. 92–93.

6. Романов М.Н. Создание исходного материала для селекции, дающего колорсексное гибридное потомство. Проблемы на промышленного производства на яйца, Варна, 1988, с. 21.

7. Тагиров М.Т. Механизмы контроля и детерминации пола у птиц. *Biotechnol Acta*, 2013, 6: 62–72.

8. Трухина А.В. и др. Эпигенетическая регуляция и инверсия пола у позвоночных. *Генетика*, 2015, 51: 290–297.

9. Arnold A.P., Itoh Y. Factors causing sex differences in birds. *Avian Biol Res*, 2011, 4: 44–51.

10. Austrian National Council. *Bundesgesetz über den Schutz der Tiere: TSchG*, 2004.

11. Ayers K.L. et al. The molecular genetics of avian sex determination and its manipulation. *Genesis*, 2013a, 51: 325–336.

12. Ayers K.L. et al. RNA sequencing reveals sexually dimorphic gene expression before gonadal differentiation in chicken and allows comprehensive annotation of the W-chromosome. *Genome Biol*, 2013b, 14: R26.

13. Bondarenko Yu.V., Romanov M.N. Genetic principles of the synthesis of autosexing forms and combinations in poultry. 8th International Symposium on Current Problems in Avian Genetics, 1989, pp. 16–18.

14. Burke W.H., Henry M.H. Gonadal development and growth of chick-ens and turkeys hatched from eggs injected with an aromatase inhibitor. *Poult Sci*, 1999, 78: 1019–1033.

15. Caetano L.C. et al. Differential expression of the MHM region and of sex-determining-related genes during gonadal development in chicken embryos. *Genet Mol Res*, 2014, 13, 838–849.

16. Chue J., Smith C.A. Sex determination and sexual differentiation in the avian model. *FEBS J*, 2011, 278: 1027–1034.

17. Clinton M. et al. Evidence for avian cell autonomous sex identity (CASI) and implications for the sex-determination process? *Chromosome Res*, 2012, 20: 177–190.

18. Correa S.M. et al. High progesterone during avian meiosis biases sex ratios toward females. *Biol Lett*, 2005, 1: 215–218.

19. Ditewig A.C., Yao H.H. Organogenesis of the ovary: a comparative review on vertebrate ovary formation. *Organogenesis*, 2005, 2: 36–41.
20. Dodgson J.B., Romanov M.N. Use of chicken models for the analysis of human disease. *Curr Protoc Hum Genet*, 2004, 40: 15.5.1–15.5.11.
21. Elbrecht A., Smith R.G. Aromatase enzyme activity and sex determination in chickens. *Science*, 1992, 255: 467–470.
22. Ellis H.L. et al. Masculine epigenetic sex marks of the CYP19A1/aromatase promoter in genetically male chicken embryonic gonads are resistant to estrogen-induced phenotypic sex conversion. *Biol Reprod*, 2012, 87: 23, 1–12.
23. Gamble T., Zarkower D. Sex determination. *Curr Biol*, 2012, 8: R251–261.
24. German Federal Parliament. *Tierschutzgesetz: TierSchG*, 2006.
25. Graves J.A. How to evolve new vertebrate sex determining genes. *Dev Dyn*, 2013, 242: 354–359.
26. Jiang T. et al. The SOX gene family: function and regulation in testis determination and male fertility maintenance. *Mol Biol Rep*, 2013, 40, 2187–2194.
27. Klein S. et al. Management of newly hatched male layer chicks - current knowledge on sex determination and sex diagnosis in chicken : potential solutions. *Worlds Poult Sci J*, 2003, 59: 62–64.
28. Lambeth L.S. et al. Overexpression of aromatase alone is sufficient for ovarian development in genetically male chicken embryos. *PLoS One*, 2013, 8: e68362.
29. Lambeth L.S. et al. Transgenic chickens overexpressing aromatase have high estrogen levels but maintain a predominantly male phenotype. *Endocrinology*, 2016, 157: 83–90.
30. Narushin V.G., Romanov M.N., Bondarenko Yu.V. Studies on chick embryo sex determination and manipulation in the countries of the former USSR – a review. 1. Sex differences in eggs. 9th European Poultry Conference, 1994, 1: 320–321.
31. Narushin V.G., Romanov M.N., Bogatyr V.P. Method for preincubational prediction of embryo sex in chicken eggs. *World Conference on Animal Production*, 1998, 1: 832–833.
32. Navara K.J. The role of steroid hormones in the adjustment of primary sex ratio in birds: compiling the pieces of the puzzle. *Integr Comp Biol*, 2013, 53: 923–937.
33. Romanov M.N., Narushin V.G., Sakhatsky N.I. Studies on chick embryo sex determination and manipulation in the countries of the former USSR – a review. 2. Shifting of sex ratio. 9th European Poultry Conference, 1994, 1: 324–326.

34. Romanov M.N., Betuel A.M., Chemnick L.G., Ryder O.A., Kulibaba R.O., Tereshchenko O.V. et al. Widely applicable PCR markers for sex identification in birds. *Russ J Genet*, 2019, 55: 220–231.
35. Smeds L. et al. Evolutionary analysis of the female-specific avian W chromosome. *Nat Commun*, 2015, 6: 7330.
36. Smirnov A.F., Trukhina A.V. Sex determination in birds. *Birds: Evolution and Behavior, Breeding Strategies, Migration and Spread of Disease*, Nova Science Publishers, 2013, pp. 1–23.
37. Smith C.A. Sex determination in birds: a review. *Emu*, 2010, 110: 364–377.
38. Smith C.A. An update on chicken sex determination and gonadal sex differentiation. *Cytogenet Genome Res*, 2015, 145: 114–118.
39. Smith C.A., Sinclair A.H. Sex determination: insights from the chicken. *Bioessays*, 2004, 26: 120–132.
40. Smith C.A. et al. The avian Z-linked gene DMRT1 is required for male sex determination in the chicken. *Nature*, 2009, 461: 267–271.
41. Steiner G. et al. Gender determination of fertilized unincubated chicken eggs by infrared spectroscopic imaging. *Anal Bioanal Chem*, 2011, 400: 2775–2782.
42. Steiner G. et al. Label free molecular sexing of monomorphic birds using infrared spectroscopic imaging. *Talanta*, 2016, 150: 155–161.
43. Tachibana M. Epigenetic regulation of mammalian sex determination. *J Med Invest*, 2015, 62: 19–23.
44. Teranishi M. et al. Transcripts of the MHM region on the chicken Z chromosome accumulate as non-coding RNA in the nucleus of female cells adjacent to the DMRT1 locus. *Chromosome Res*, 2001, 9: 147–165.
45. Tevosian S.G. Genetic control of ovarian development. *Sex Dev*, 2013, 7: 33–45.
46. Trukhina A.V. et al. The variety of vertebrate mechanisms of sex determination. *Biomed Res Int*, 2013, 2013: 587460.
47. Trukhina A.V. et al. Sex inversion in domestic chicken (*Gallus gallus domesticus*) by letrozole and tamoxifen. *Cell Tiss Biol*, 2014, 8: 244–252.
48. Trukhina A.V. et al. Control of entry into meiosis of germ cells precursors in chickens. *Global J Sci Front Res C: Biol Sci*, 2015, 15, 1–7.
49. Weissmann A. et al. Sexing domestic chicken before hatch: a new method for in ovo gender identification. *Theriogenology*, 2013, 10: 199–205.
50. Wright A.E. et al. Conservation of regional variation in sex-specific sex chromosome regulation. *Genetics*, 2015, 201: 587–598.

51. Yang X. et al. Methylation status of cMHM and expression of sex-specific genes in adult sex-reversed female chickens. *Sex Dev*, 2011, 5: 147–154.

52. Zhou Q. et al. Complex evolutionary trajectories of sex chromosomes across bird taxa. *Science*, 2014, 346: 1246338.

### **Prospects for producing individuals of predominantly a certain sex in birds**

*Trukhina A.V.,<sup>1</sup> Romanov M.N.<sup>2,3</sup>,  
Smirnov A.F.,<sup>1</sup> Narushin V.G.<sup>4</sup>*

<sup>1</sup>St. Petersburg State University, St. Petersburg, Russia

<sup>2</sup>K. I. Skryabin Moscow State Academy of Veterinary Medicine and Biotechnology, Moscow, Russia;

<sup>3</sup>University of Kent, Canterbury, UK;

<sup>4</sup>Vita-Market Ltd, Zaporozhye, Ukraine

#### **Abstract**

Sex is a trait that is essential for the existence of all living organisms and is the basis of sexual reproduction. In recent years, certain successes have been achieved in the study of sex problems: the principles of its determination in a number of taxa have been deciphered in a first approximation, and groups of sex-determining genes have been described. There are various options for sex determination and regulation. In biology, it is customary to talk about the presence of two main systems for its determination - genetic (GSD) and environmental (ESD). The accumulated information in this area gradually makes it possible to fully present a clear picture of this phenomenon. There are general ideas about the relationship between the gamete and gonadal sex and the patterns of entry into meiosis. Due to the existing difficulties and limitations, it is desirable to use convenient, suitable objects in the study of such phenomena. Birds and, first of all, the chicken are especially convenient for such work due to the possibility of operating with early embryos and primary reproductive cells, as well as due to the available data on the genetics of sex in birds. In addition, there is a practical aspect of these studies, i.e., the need to determine the sex of the embryo before the end of incubation, for example, when obtaining broilers with significant sex differences at the stage of their commercial rearing. This review covers the information accumulated in this area. Possible approaches to obtaining individuals of one specific sex of birds using transgenic techniques at the mo-

lecular cellular level as well as non-destructive technologies as applied to sorting fertilized hatching eggs by sex are also described.

**Key words:** birds, sex determination, GSD, sex chromosomes, sex regulation, non-destructive technologies, sorting eggs by sex