

42. № 12. С. 1731-1734.

4. Pashaei S., Azari M.A., Hasani S., Khanahmadi A., Rostamzadeh J. Genetic diversity in Mazandaranian native cattle: A comparison with Holstein cattle using ISSR marker // Pakistan J. Biol. Sci. 2009. V. 12. № 9. P. 717-721.

5. Rogstad S.H., Pelikan S. GELSTATS: a computer program for population genetics analyses using VNTR multilocus probe data // Biotechniques. 1996. V. 21. № 6. P. 1128-31.

6. Stephens J.C., Gilbert D.A., Yuhki N., O'Brien S.J. Estimation of heterozygosity for single-probe multilocus DNA fingerprints // Mol. Biol. Evol. 1992. V. 9. № 4. P. 729-743.

7. Nei M. F-statistics and analysis of gene diversity in subdivided populations // Ann. Hum. Genet. 1977. V. 41. P. 225-233.

УДК 575.174.015.3:636.271

## ДНК-МАРКЕРЫ МОЛОЧНОЙ ПРОДУКТИВНОСТИ У КОСТРОМСКОЙ ПОРОДЫ КРС

*Лазебная И.В.<sup>1</sup>, Лазебный О.Е.<sup>2</sup>,  
Сулимова Г.Е.<sup>1</sup>*

*Lazebnaya I.V.<sup>1</sup>, Lazebny O.E.<sup>2</sup>, Sulimova G.E.<sup>1</sup>*

*<sup>1</sup>Учреждение Российской академии наук Институт общей генетики  
им. Н.И. Вавилова РАН*

*<sup>2</sup>Учреждение Российской академии наук Институт  
биологии развития им. Н.К. Кольцова РАН*

*Vavilov institute of general genetics  
Kol'tsov institute of developmental biology*

*Polimorphisms of the GH and PRL genes were investigated in three thoroughbred herds of Kostroma breed.*

Признаки молочной продуктивности являются количественными и определяются целым рядом факторов, среди которых как генетические, так и факторы внешней среды. Поскольку проявляются названные признаки только во взрослом состоянии, в период лактации, то актуальной задачей является выявление генетической составляющей параметров молочной продуктивности и поиск способов ранней оценки молочных качеств животных. Наиболее подходящими для этой задачи является анализ полиморфизма генов, потенциально способных быть маркерами молочной продуктивности в силу участия их продуктов в обменных процессах, росте и развитии организма. С этой целью уже в течение нескольких десятилетий проводятся исследования полиморфизма генов гормона роста *bGH* и пролактина *bPRL* для выявления ассоциаций с признаками молочной продуктивности.

Имеются обширные данные о разнообразных, локализованных в этих генах, однонуклеотидных заменах SNP (Single Nucleotide Polymorphism), ассоциированных с признаками качества молока. Так, известно о связи

трансверсии С-Г в третьем экзоне гена гормона роста *bGH* (2141 нуклеотидная позиция) с параметрами молочной продуктивности у КРС. Данный SNP сопровождается исчезновением сайта рестрикции *AluI*-эндонуклеазы и заменой в белковом продукте гена *bGH* аминокислоты лейцин на аминокислоту валин (*Leu* на *Val*) в позиции 127. Установлено, что аминокислота  $Leu_{127}$  локализована в конце третьей  $\alpha$ -спирали [1] и находится в районе соматотропина (с 120 по 140 аминокислоту), проявляющем лактогенную и соматотропиновую активность [2]. Хотя данный район не участвует в связывании гормона роста с его рецептором, взаимодействие между четырьмя  $\alpha$ -спиралями может влиять на структуру соматотропина [2], что в свою очередь и позволяет объяснить ассоциации полиморфизма гена *bGH* по данному сайту рестрикции с признаками молочной продуктивности. Действительно, ряд авторов указывает на большую положительную зависимость удою от *LL* генотипа по сравнению с *LV* генотипом у коров черно-пестрой и голштино-фризской пород [3, 4]. Однако, другие авторы [5, 6] отмечали положительную зависимость удою, молочного жира и белка от *V* аллеля у коров голштинской и польской черно-пестрой пород.

Для гена *bPRL* описана синонимичная А-Г транзигция (103 кодон аминокислоты), локализованная в третьем экзоне гена, приводящая к появлению полиморфного *RsaI*-сайта [7]. Ряд авторов указывают на положительную связь *AA* и *AB* генотипов с удоем и молочным белком у польской черно-пестрой, голштино-фризской и бурой швицкой пород [8-10]. Иные зависимости установлены для коров красно-пестрой породы (*red-pied breed*) КРС [11].

Задачей настоящего исследования являлось изучение полиморфизма генов гормона роста *bGH* и пролактина *bPRL* у костромской породы крупного рогатого скота.

#### Материалы и методы.

ПЦР-ПДРФ методом исследовали *bPRL*(*RsaI*) и *bGH*(*AluI*) полиморфизм у чистокровных коров костромской породы у коров Костромской породы (n=62) из племенных хозяйств ОПХ “Минское” Костромского муниципального района (n=20) и СПК “Гридино” Красносельского района Костромской обл. (n=42). ДНК выделяли из цельной крови (200 мкл) животного с использованием набора реагентов *DIAtomTM DNA Prep* (Лаборатория Изоген, Россия). Амплификацию фрагментов генов *bPRL* (156 п.н.) и *bGH* (223 п.н.) проводили по стандартным методикам [7, 12] с применением набора “GenePak<sup>TM</sup> PCR Core” (Лаборатория Изоген, Россия) в термоциклере “Терцик” (ДНК-Технология, Россия). Использовали *RsaI*- и *AluI*-эндонуклеаз рестрикции в соответствии с условиями фирмы-производителя (MBI Fermentas, Литва).

#### Результаты и выводы.

Основные популяционные параметры для каждой выборки по обоим исследованным маркерам представлены в следующих таблицах.

**Таблица 1. Частоты генотипов и аллелей генов пролактина *bPRL* и гормона роста *bGH* в исследованной выборке костромского скота из СПК «Гридино».**

Генотипы гена <i>bPRL</i>	Частота генотипа со стандартной ошибкой ( $\pm se$ )	Генотипы гена <i>bGH</i>	Частота генотипа со стандартной ошибкой ( $\pm se$ )
---------------------------	--	--------------------------	--

<i>AA</i>	0.452±0.077	<i>V/V</i>	0.000
<i>AB</i>	0.429±0.076	<i>V/L</i>	0.262±0.068
<i>BB</i>	0.119±0.050	<i>L/L</i>	0.738±0.068
Аллели	Частота аллеля ±se	Аллели	Частота аллеля ±se
<i>A</i>	0.667±0.063	<i>V</i>	0.131±0.102
<i>B</i>	0.333±0.089	<i>L</i>	0.869±0.039

**Таблица 2. Значения ожидаемой ( $H_{Obs}$ ) и наблюдаемой гетерозиготности ( $H_{Exp}$ ) (СПК «Гридино»).**

Ген	$H_{Obs}$	$H_{Exp}$
<i>bPRL</i>	0.429±0.076	0.444±0.073
<i>GH</i>	0.262±0.068	0.228±0.173

**Таблица 3. Частоты генотипов и аллелей генов пролактина *bPRL* и гормона роста *bGH* в исследованной выборке костромского скота из ОПХ «Минское».**

Генотипы гена <i>bPRL</i>	Частота генотипа со стандартной ошибкой (±se)	Генотипы гена <i>bGH</i>	Частота генотипа со стандартной ошибкой (±se)
<i>AA</i>	0.737±0.101	<i>V/V</i>	0.000
<i>AB</i>	0.263±0.101	<i>V/L</i>	0.050±0.049
<i>BB</i>	0.000	<i>L/L</i>	0.950±0.049
Аллели	Частота аллеля ±se	Аллели	Частота аллеля ±se
<i>A</i>	0.868±0.059	<i>V</i>	0.025±0.156
<i>B</i>	0.132±0.151	<i>L</i>	0.975±0.025

**Таблица 4. Значения ожидаемой ( $H_{Exp}$ ) и наблюдаемой ( $H_{Obs}$ ) гетерозиготности (ОПХ «Минское»).**

Ген	$H_{Obs}$	$H_{Exp}$
<i>bPRL</i>	0.263±0.101	0.229±0.170
<i>GH</i>	0.050±0.049	0.049±0.060

Анализ таблиц 1-4 показывает, что в ОПХ «Минское» не выявлен генотип *BB* гена пролактина *bPRL*, а частота генотипа *AA* почти в три раза превышает частоту генотипа *AB*, в то время как в СПК «Гридино» *BB* генотип обнаружен (0.119±0.050), при этом соотношение частот двух других генотипов близко к единице. В обоих хозяйствах наблюдается доминирование аллеля *A*, причем в ОПХ «Минское» оно более значительно (0.868±0.059), чем в СПК «Гридино» (0.667±0.063).

Исследуемые выборки характеризуются отсутствием животных с генотипом *V/V* гена *bGH*, низкой долей гетерозигот и высокой частотой гомозигот *L/L*, значения которых для ОПХ «Минское» составляют 0.050±0.049 и 0.950±0.049, а для СПК «Гридино» 0.262±0.068 и 0.738±0.068, соответственно. В исследованных хозяйствах наблюдается сходное соотношение частот аллелей, а

именно, высокая частота аллеля *L*, наиболее ярко выраженная в ОПХ “Минское” ( $0.975 \pm 0.025$ ).

Проверка на соответствие Харди-Вайнбергу показала, что обе выборки находятся в равновесном состоянии: ОПХ «Минское» –  $G = 0.000$ ,  $d.f. = 1$ ,  $P = 1.000$ ; СПК «Гридино» -  $G = 1.397$ ,  $d.f. = 1$ ,  $P = 0.237$ .

В группах исследованных животных значения наблюдаемой ( $H_{Obs}$ ) и ожидаемой гетерозиготности ( $H_{Exp}$ ) (табл. 2 и 4) по каждому из маркеров не отличаются друг от друга, что свидетельствует об отсутствии нарушений панмиксии в анализируемых популяциях скота по изучаемым генам. В целом для гена пролактина *bPRL* значения гетерозиготности выше, чем для гена гормона роста *bGH*. Стоит отметить, что данные показатели для выборки из ОПХ “Минское” ниже, чем для СПК “Гридино”. Полученные данные свидетельствуют о значительно более низком уровне изменчивости популяции ОПХ “Минское” по сравнению с СПК “Гридино”, что может являться следствием недостаточного объема выборки.

Установленные тенденции в различиях между двумя исследованными выборками нашли отражение в результатах проверки на достоверность различий между ними, о чем свидетельствуют значения вероятности (*G*-тест) (табл.5). Из таблицы видно, что между двумя исследуемыми выборками наблюдается достоверное различие по обоим использованным маркерам, в то время как ни одна из анализируемых выборок не отличается от ранее исследованной нами выборки коров костромской породы из ГОУП ПЗ «Лужки».

**Таблица 5. Достоверность различий в распределении частот генотипов генов *bPRL* и *bGH* в выборках.**

Выборки	Гридино	Минское	Лужки
Гридино		0.047	0.174
Минское	0.035		0.387
Лужки	0.219	0.180	

Значения вероятности (*G*-тест) для генотипов гена *bPRL* расположены в таблице выше диагонали, а генотипов гена *bGH* – ниже диагонали.

Известно, что у ряда пород крупного рогатого скота *LL* генотип гена *bGH* ассоциирован с высокими удоями, содержанием жира и белка в молоке (Dybus A., 2002), а *AA* генотип гена *bPRL* – с высокими содержанием жира и белка. В исследованной выборке КРС костромской породы из двух выявленных генотипов гена *bGH* генотип *LL* представлен с наибольшей частотой ( $0.806 \pm 0.050$ ), частота *AA* генотипа гена *bPRL* также высока ( $0.541 \pm 0.064$ ), что характеризует хороший генетический потенциал коров костромской породы по изученным маркерам.

#### Литература:

1. Abdel-Meguid S.S., Shieh H.S., Smith W. et al. Three-dimensional structure of a genetically engineered variant of porcine growth hormone // Proceedings of the National Academy of Sciences, USA. 1987. V. 84. P. 6434-6437.
2. Chou K.C., Zheng C. Strong electrostatic loop-helix interaction in bundle motif protein structures // Biophysical Journal. 1992. V. 63. P. 682-688.

3. Lucy M.C., Hauser S.D., Eppard P.J. et al. Variants of somatotropin in cattle: Gene frequencies in major dairy breeds and associated milk production // Domestic Animal Endocrinology. 1993. V. 10. P. 325-333.

4. Lee B.K., Lin G.F., Crooker B.A., et al. – Association of somatotropin (bST) gene polymorphism at the 5th exon with selection for milk yield in Holstein cows // Domestic Animal Endocrinology. 1996. V. 13. P. 373-381.

5. Sabour, M. P., Lin, C. Y., Smith, C. Association of genetic variants of bovine growth hormone with milk production traits in Holstein cattle // Journal of Animal Breeding and Genetics. 1997. V. 114. P. 435-442.

6. Zwierzchowski L., Krzyzewski J., Strzalkowska N. et al. Effect of polymorphism of growth hormone (GH), Pit-1, and leptin (LEP) genes, cow's age, lactation stage and somatic cell count on milk yield and composition of Polish Black-and-White cows // Animal Science Papers and Reports. 2002. V. 20. N. 4. p. 213-227.

7. Mitra A., Schlee P., Balakrishnan C.R. et al. Polymorphisms at growth hormone and prolactin loci in Indian cattle and buffalo // Journal of Animal Breeding and genetics. 1995. V. 112. P. 71-74.

УДК 502/Н-24

САНИТАРНО-ГИГИЕНИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ ОБЪЕКТОВ  
ВОДОСНАБЖЕНИЯ РАСПОЛОЖЕННЫХ ВБЛИЗИ  
СВАЛОК ТВЕРДЫХ БЫТОВЫХ ОТХОДОВ  
THE SANITARY-AND-HYGIENIC ANALYSIS OF  
OBJECTS OF WATER SUPPLY OF THE FIRM  
HOUSEHOLD WASTE LOCATED NEAR TO DUMPS

**В.В. Романов, В.Н. Любомирова**  
**V.V. Romanov, V. N. Lyubomirova**  
**Ульяновская ГСХА**  
**Ulyanovsk State Academy of agriculture**

*The activity is dedicated to research of quality of waters of economic potable assigning in affected area of dumps of a firm domestic waste. Dan the characteristic of quality of waters on microbiologic and chemical parameters (indexes). The figure of merits of waters for the expired fifth anniversary are parsed. Are detected and the terrains with most often by meeting natural dumps of a firm domestic economic waste are mapped.*

Одним из главных путей распространения загрязнений с территории складирования отходов являются поверхностные воды, стекающие с территории во время сильных дождей и особенно фильтрат, жидкая фаза, выделяющаяся из отходов при прохождении через их толщу атмосферных осадков. Состав концентрации неорганических и органических загрязнений вод зависят от состава отходов, способа эксплуатации, места складирования, интенсивности и