

## НОВЫЙ AluI-ПОЛИМОРФИЗМ В ЧЕТВЕРТОМ ИНТРОНЕ ГЕНА ГОРМОНА РОСТА КУР

Р.А. КУЛИБАБА, Ю.В. ЛЯШЕНКО, П.С. ЮРКО

Институт животноводства НАН Украины, Харьков  
E-mail: romankx@rambler.ru

*Показан новый AluI-полиморфизм в четвертом интроне гена гормона роста кур. Выявлена транзигция цитозина в тимин в сайте рестрикции для AluI. Подобраны праймеры, фланкирующие фрагмент четвертого интрона гена размером 460 п.н., который содержит полиморфный сайт рестрикции для AluI. Определены нуклеотидные последовательности полиморфных вариантов амплифицированных фрагментов. С использованием разработанных праймеров проведен анализ генетической структуры популяций кур пород плимутрок белый, полтавская глинистая, Род-айленд красный и борковская барвистая. Показано, что по AluI-полиморфизму в четвертом интроне ген гормона роста является полиморфным во всех изученных популяциях. В популяции кур породы плимутрок белый частота аллелей С и Т составила 0,14 и 0,86; Род-айленд красный – 0,3 и 0,7; полтавская глинистая – 0,04 и 0,96; борковская барвистая – 0,08 и 0,92 соответственно. Отмечена тенденция к увеличению показателей яичной продуктивности и массы яиц кур с генотипом С/С, а также мясных качеств (живая масса, масса тушки, масса грудных мышц) кур с генотипом Т/Т породы Род-айленд красный.*

**Ключевые слова:** куры, полиморфизм, аллель, рестрикция, ген гормона роста, популяция.

**Введение.** Ген гормона роста (*GH*) относится к одному из наиболее популярных объектов исследований в современной генетике птицы, направленной на максимальное раскрытие продуктивного потенциала с использованием методов маркер-ассоциированной селекции [1, 2]. Для *GH* характерно достаточно большое количество мутаций, многие из которых связаны с определенными признаками, имеющими значение для селекционной работы [3–5]. Показаны различные типы мутаций (однонуклеотидный полиморфизм, делеции) в разных участках гена [6–8], при этом одним из наиболее перспективных объектов в данном контексте является четвертый интрон гена гормона роста кур, который достаточно хорошо изу-

чен (в том числе и авторами настоящей статьи) [9, 10]. Так, например, показано наличие MspI- и SacI-полиморфизмов в популяциях кур различных пород разных направлений продуктивности, выявлена связь аллельных вариантов по SacI-полиморфизму с показателями яичной продуктивности кур пород полтавская глинистая и борковская барвистая [11]. Однако наряду с уже известными аллельными вариантами *GH* определенный интерес представляет поиск новых мутаций, что позволяет существенно расширить инструментарий для изучения генетико-популяционных характеристик опытных групп птицы, поиска ассоциативных связей различных аллелей с продуктивными признаками и т.д.

На данный момент к одному из самых распространенных методов изучения полиморфизма относится ПЦР-ПДРФ [12]. Проведение ПЦР с последующим рестрикционным анализом позволяет детектировать однонуклеотидный полиморфизм (SNP) в сайтах рестрикции для конкретных ферментов. Несмотря на имеющуюся вследствие данного факта ограниченность, метод широко используется в самых различных аспектах генетики благодаря относительной простоте, низким трудозатратам и общей эффективности методики. Анализ нуклеотидных последовательностей позволяет выявить полиморфные сайты, что в случае совпадения (полиморфизм в сайте рестрикции) дает возможность подбора соответствующей эндонуклеазы рестрикции с целью проведения дальнейших исследований в направлении изучения генетической структуры популяций и т.д.

Для проведения секвенирования при изучении полиморфизма в целевых участках как правило используют образцы, полиморфный характер которых уже определен в предшествующих исследованиях. Для выявления новых мутаций в различных генах (таргетных фрагментах генома) широко используют метод SSCP [13]. Данный подход применяют при анализе

© Р.А. КУЛИБАБА, Ю.В. ЛЯШЕНКО, П.С. ЮРКО, 2017

различных генов у самых разных видов животных [14–16]. Выявленные полиморфные варианты затем секвенируют, что уже непосредственно дает информацию о нуклеотидных заменах в выбранном участке генома [17]. Далее с использованием соответствующего программного обеспечения строят карты рестрикции для широкого спектра ферментов. В случае, если нуклеотидная замена (мутация) расположена в сайте рестрикции для конкретной рестриктазы, разрабатывают метод ПЦР-ПДРФ для дальнейшего изучения выявленного полиморфизма в популяциях опытных животных. Таким образом, для поиска новых мутаций комбинируют использование различных методик.

Предыдущие наши исследования были посвящены анализу причин возникновения дополнительного паттерна в сайте рестрикции для MspI в четвертом интроне гена гормона роста кур украинской селекции [10]. Для подтверждения гипотезы о гетеродуплексной природе дополнительного фрагмента провели секвенирование целевого участка *GH*. Полученные данные и послужили исходным материалом для дальнейших исследований нуклеотидного полиморфизма. Учитывая отсутствие информации о механизме связи различных типов SNP в интронных участках гена гормона роста с его экспрессией, выявление новых мутаций представляет научный и практический интерес. Таким образом, цель настоящего исследования – анализ нуклеотидных последовательностей четвертого интрона гена гормона роста с целью выявления различных полиморфных вариантов в сайтах рестрикции.

**Материалы и методы.** Исследования проводили в лаборатории профилактики заболеваний птицы и молекулярной диагностики Государственной опытной станции птицеводства Национальной академии аграрных наук Украины.

Для проведения исследований использовали популяции кур следующих пород: куры яичного направления продуктивности – борковская барвистая линия А ( $n = 99$ ); куры мясо-яичного направления продуктивности – плимутрок белый линия Г-2 ( $n = 28$ ); куры яично-мясного направления продуктивности – полтавская глинистая линия 14 ( $n = 45$ ) и Род-айленд красный линия 38 ( $n = 100$ ).

ДНК из опытных образцов выделяли с помощью коммерческого набора реагентов «ДНК-сорб-В» («АмплиСенс», РФ).

Аmplификацию четвертого интрона гена гормона роста проводили с использованием следующих олигонуклеотидов:

F: 5'-СТАААГГАССТГГААГААГГГ-3';  
R: 5'-ААСТТГТСТГТАГГТГГГТСТГ-3' [18].

Аmplификацию осуществляли с использованием реагентов DreamTaq PCR Master Mix (Thermo Scientific) с помощью программируемого термоциклера «Терцик» («ДНК-технология», РФ) по соответствующей программе: 1 цикл – денатурация 94 °С 5 мин; 35 циклов – денатурация 94 °С 1 мин, отжиг 56 °С 1 мин, элонгация 72 °С 1 мин; 1 цикл – финальная элонгация 72 °С 10 мин. Объем конечной смеси составил 20 мкл, концентрация праймеров – 0,2 мкМ.

Для поиска полиморфных вариантов использовали нуклеотидные последовательности четвертого интрона гена гормона роста кур линий 14 и 38.

Генотипирование по каждому из локусов проводили посредством анализа полученных электрофореграмм. Секвенирование осуществляли на автоматическом анализаторе ABI Prism 3130. Обработку результатов секвенирования, построение рестрикционных карт и подбор праймеров выполняли с помощью соответствующего программного обеспечения (BioEdit version 7.1.9; Unipro UGENE version 1.14.0, DNA Baser 4 version 4.16.0.25 и FastPCR 6.5).

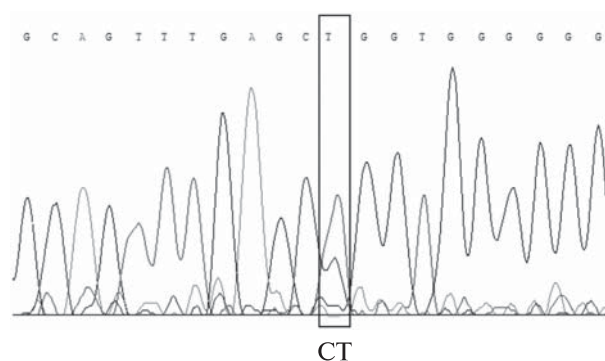
Частоту аллелей полиморфных локусов определяли по формулам максимального правдоподобия [19]. На основе полученных данных рассчитывали фактическое и теоретическое распределение генотипов, соответствие генетическому равновесию популяции по Харди-Вайнбергу методом  $\chi^2$ , фактическую ( $H_o$ ) и ожидаемую ( $H_e$ ) гетерозиготность, эффективное число аллелей ( $n_e$ ), индекс фиксации Райта ( $F_{is}$ ) по общепринятым методикам с использованием компьютерной программы Popgen32. Связь аллельных вариантов *GH* с продуктивными признаками кур оценивали сравнением средних значений генотипов с использованием t-критерия Стьюдента.

**Результаты исследований и их обсуждение.** В работе по изучению *MspI*-полиморфизма *GH* в популяциях кур различных пород получены нуклеотидные последовательности четвертого интрона гена, которые послужили материалом для исследований в настоящей публикации [10]. Детальный анализ, проведенный с использованием соответствующего программного обеспечения, позволил выявить несколько ранее не описанных в научной литературе мутаций в четвертом интроне гена гормона роста кур. При этом были определены различные типы мутаций – транзиции, трансверсии и т.д. Однако принимая во внимание тот факт, что целью исследований служила необходимость изучения генетической структуры различных популяций кур, то в дальнейшем мы анализировали только те мутации, которые находятся в сайтах рестрикции, что в свою очередь позволило бы разработать метод ПЦР-ПДРФ для проведения генотипирования особей. В таком случае список подходящих для разработки метода ПЦР-ПДРФ мутаций сильно ограничен, так как полиморфные варианты должны различаться по своей структуре именно уникальных для каждого фермента сайтов рестрикции. Таким образом, анализируемый фрагмент может содержать весьма существенное количество различных мутаций и при этом не соответствовать упомянутым требованиям.

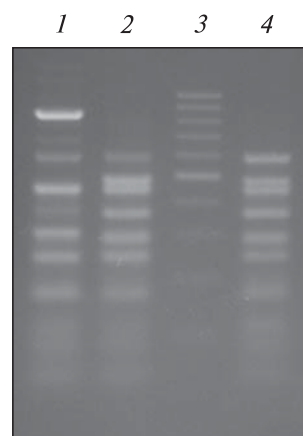
С использованием анализа нуклеотидных последовательностей четвертого интрона гена гормона роста кур был определен полиморфизм в сайте рестрикции для *AluI*.

На рис. 1 приведена нуклеотидная последовательность фрагмента четвертого интрона *GH* кур. Наличие перекрывающихся пиков указывает на точечную мутацию (транзицию цитозина в тимин в положении 1788455), что приводит к образованию сайта рестрикции для *AluI* AGCT. Исходя из этого, наличие цитозина соответствует аллелю *AluI*<sup>-</sup>, тимина – аллелю *AluI*<sup>+</sup>.

На основании полученных данных провели обработку нескольких образцов (популяция кур породы Род-айленд красный) соответствующей эндонуклеазой рестрикции *AluI*, которая полностью подтвердила сделанные на основании анализа нуклеотидных последовательностей выводы о наличии *AluI*-полиморфизма в опытной популяции (рис. 2).

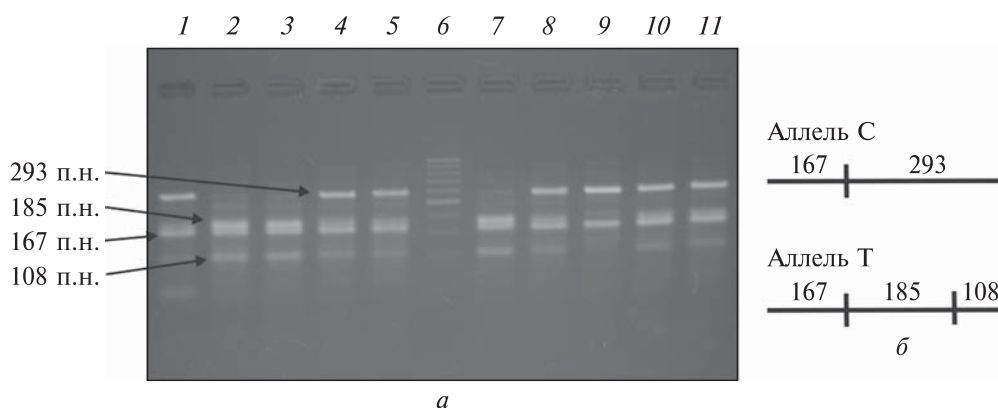


**Рис. 1.** Нуклеотидная последовательность фрагмента четвертого интрона гена гормона роста кур, гетерозиготный генотип. Прямоугольником выделен полиморфный сайт



**Рис. 2.** Электрофореграмма продуктов рестрикции четвертого интрона гена гормона роста с использованием *AluI*: 1 – *AluI*<sup>+</sup>; 2, 4 – *AluI*<sup>-</sup>; 3 – маркер молекулярных масс М-100

В результате исследований были определены полиморфные варианты *GH*. Однако в случае проведения достаточно масштабных исследований генетико-популяционной структуры опытных линий кур использование исходного амплифицированного фрагмента (~1200 п.н.) для изучения *AluI*-полиморфизма нецелесообразно, так как в результате рестрикции образуется большое количество фрагментов, что существенно затрудняет анализ электрофореграмм. Область применения метода ПЦР-ПДРФ – это проведение рутинных исследований генетико-популяционной структуры, поэтому целесообразно подбирать такие условия проведения рестрикции (паттерны рестрикции), которые да-



**Рис. 3.** Электрофореграмма продуктов рестрикции фрагмента четвертого интрона гена гормона роста кур (а) и схема паттернов рестрикции и соответствующие аллели (б). Стрелками обозначены рестрикционные фрагменты: 1, 4, 5, 8, 10, 11 – генотип С/Т; 2, 3, 7 – Т/Т; 9 – С/С; 6 – маркер молекулярных масс М-50

вали бы возможность использования для генотипирования в первую очередь агарозных гелей (что существенно упрощает процесс исследований). Для этого должны быть достаточно выражены различия в размере рестрикционных фрагментов, т.е. различия в длине «порезанных» фрагментов ДНК должны легко определяться. Отсутствие выраженных различий в размерах фрагментов может приводить к затруднениям при генотипировании особей и к необходимости использования полиакриламидных гелей, которые обладают большей по сравнению с агарозными разрешающей способностью, но работа с которыми более трудоемкая.

Так, например, в исходном амплифицированном фрагменте содержатся 8–9 мономорфных сайтов рестрикции для *AluI*, что приводит к образованию значительного количества фрагментов на электрофореграмме и, соответственно, затрудняет эффективность генотипирования (рис. 2). Поэтому возникает необходимость в подборе праймеров к участку гена, содержащему полиморфный сайт рестрикции, таким образом, чтобы количество образующихся рестрикционных фрагментов не затрудняло анализ. С нашей точки зрения оптимальным является подбор фрагмента, содержащего один мономорфный сайт рестрикции и один полиморфный. Наличие мономорфного сайта в данном контексте позволит избежать технической возможности частичной активности фермента, т.е. наличие на электрофореграмме фрагмента, соответствующего по раз-

мерам исходному амплифицированному фрагменту, не будет служить препятствием для эффективного генотипирования (можно успешно генотипировать особей при неполной активности эндонуклеазы рестрикции).

С использованием соответствующего программного обеспечения подобрали праймеры, которые фланкируют участок четвертого интрона, содержащий один мономорфный сайт рестрикции для *AluI* и один полиморфный сайт:

F: 5'-GAGGGACGTGGTTATGGGCAC-3';  
R: 5'-GACCTCAAGGATTGCAGGGCT-3'.

Температура отжига составила 63 °С, размер амплифицированного фрагмента – 460 п.н.

Обработку амплифицированных фрагментов проводили с использованием *AluI* по прилагаемой производителем методике.

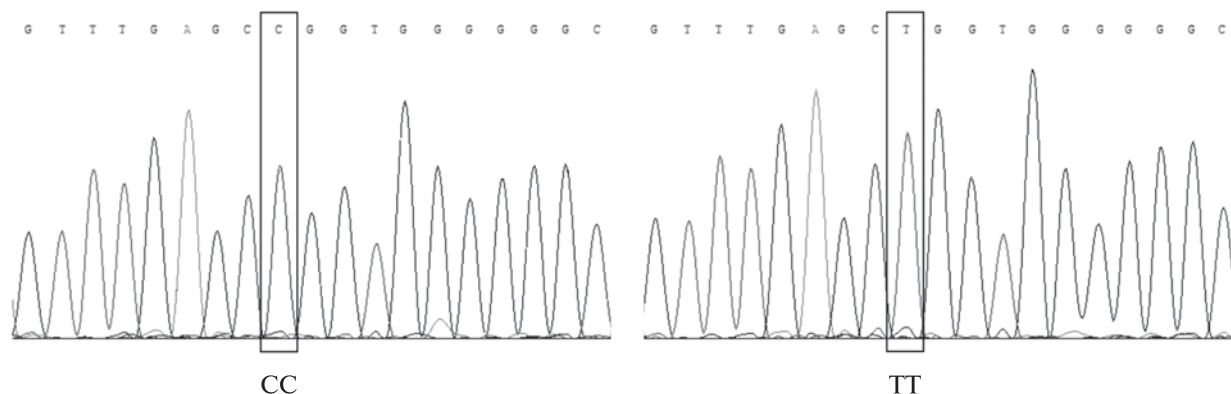
Паттерны рестрикции для каждого аллеля и фотография электрофореграммы представлены на рис. 3.

Как следует из результатов исследований, полученные «спектры» фрагментов ДНК на электрофореграмме соответствуют рассчитанным паттернам рестрикции (на основе анализа нуклеотидных последовательностей). Генотип С/С представлен на электрофореграмме двумя фрагментами размером 167 и 293 п.н.; Т/Т – 108, 185 и 167 п.н.; С/Т – 108, 185, 167 и 293 п.н. соответственно.

Секвенирование участка гена, фланкированного разработанными праймерами, подтверждает результаты, полученные при секвениро-



*Новый AluI-полиморфизм в четвертом интроне гена гормона роста кур*



**Рис. 4.** Нуклеотидные последовательности фрагмента четвертого интрона гена гормона роста кур разных генотипов. Прямоугольником выделен полиморфный сайт

вании исходного фрагмента. На рис. 4 представлены нуклеотидные последовательности амплифицированного фрагмента особей разных генотипов.

Как следует из представленных последовательностей, аллелю AluI<sup>-</sup> соответствует аллель С; AluI<sup>+</sup> – аллель Т. Соответственно кодировку аллелей проводили соотносительно типу азотистого основания в полиморфном сайте (цитозин/тимин).

Результаты исследований (предложенная структура праймеров) позволяют проанализировать генетическую структуру опытных популяций кур по данному полиморфизму в четвертом интроне гена гормона роста.

Так, в результате проведенных исследований показано, что ген гормона роста (по AluI-полиморфизму в четвертом интроне) является полиморфным во всех изученных популяциях кур (таблица).

Полученные результаты свидетельствуют о значительной изменчивости частоты встречаемости различных генотипов в популяциях кур

разных пород. При этом следует отметить, что достоверные различия в частотах аллелей наблюдались между популяцией кур породы Род-айленд красный и всеми остальными. В то же время между популяциями остальных пород достоверных различий не обнаружено. Особи, гомозиготные по аллелю С, обнаружены только в популяциях кур пород Род-айленд красный (8 %) и борковская барвистая (2 %). В свою очередь наибольшее количество особей, гомозиготных по аллелю Т, обнаружено в популяции кур породы полтавская глинистая (91,1 %), наименьшее – в породе Род-айленд красный (48 %). Наиболее выраженный эксцесс гетерозигот наблюдался в породе плимутрок белый, наименьший – в породе борковская барвистая. Порода Род-айленд красный характеризовалась наибольшим уровнем полиморфизма по показателю эффективного числа аллелей, полтавская глинистая – наименьшим. Все изученные популяции кур находились в состоянии генетического равновесия.

**Генетическая структура опытных популяций кур по AluI-полиморфизму в четвертом интроне гена гормона роста**

Порода кур	Генотипы			Аллели		$\chi^2$	H <sub>o</sub>	H <sub>e</sub>	n <sub>e</sub>	F <sub>is</sub>
	С/С	С/Т	Т/Т	С	Т					
Плимутрок белый	0	8	20	0,14	0,86	1,020	0,29	0,24	1,32	-0,21
Род-айленд красный	8	44	48	0,30	0,70	0,220	0,44	0,42	1,72	-0,05
Полтавская глинистая	0	4	41	0,04	0,96	0,157	0,09	0,08	1,09	-0,13
Борковская барвистая	2	12	85	0,08	0,92	3,370	0,12	0,15	1,18	0,20

Из всех изученных популяций кур единственной породой, на которой оказалось возможным изучить связь аллельных вариантов *GH* с продуктивными признаками, оказалась Род-айленд красный. Этот факт непосредственно связан с особенностями генетической структуры по данному полиморфизму, т.е. с отсутствием достаточного для анализа количества особей разных генотипов (в первую очередь гомозигот С/С и Т/Т) в популяциях других пород кур. Поэтому наши последующие исследования были проведены на птице породы Род-айленд красный.

При анализе яичной продуктивности птицы за 12 и 40 недель продуктивного периода достоверных различий между особями различных генотипов не выявлено. Однако за 40 недель продуктивность особей с генотипом С/С несколько больше, чем особей с генотипом Т/Т, и составила она соответственно  $218,9 \pm 6,6$  против  $209,5 \pm 3,7$  шт. яиц. Гетерозиготные особи занимают промежуточное положение ( $215,4 \pm 3,9$  шт. яиц). Особи с генотипом С/С характеризуются также несколько большими значениями массы яиц на 30-й неделе жизни ( $58,2 \pm 2,2$  против  $56,2 \pm 0,6$  г). В свою очередь для особей с генотипом Т/Т характерны большие значения показателей мясных качеств – живой массы ( $1,83 \pm 0,04$  против  $1,68 \pm 0,08$  кг), массы потрошенной тушки ( $1,32 \pm 0,03$  против  $1,21 \pm 0,05$  кг) и массы грудных мышц ( $100,6 \pm 2,3$  против  $90,3 \pm 5,8$  г). Такие показатели у гетерозиготных особей также занимают промежуточное значение. Следует заметить, что отсутствие достоверных различий может быть связано с различным количеством особей разных генотипов (С/С и Т/Т) (таблица).

**Выводы.** В результате анализа нуклеотидных последовательностей четвертого интрона гена гормона роста кур определен новый полиморфизм в сайте рестрикции для *AluI* (транзиция С→Т в положении Chr27:1788455). Подобраны праймеры, фланкирующие фрагмент четвертого интрона гена размером 460 п.н., который содержит полиморфный сайт рестрикции для *AluI*. Показано, что ген гормона роста (по *AluI*-полиморфизму в положении 1788455) является полиморфным во всех изученных отечественных популяциях кур. Частота аллеля

С (отсутствие сайта рестрикции) в исследуемых популяциях кур изменялась в пределах от 4 % (полтавская глинистая) до 30 % (Род-айленд красный). Наличие транзиции С→Т было характерно для преимущественного количества особей и составляло 70–96 %. При анализе связи различных генотипов с яичной и мясной продуктивностью кур породы Род-айленд красный отмечено отсутствие достоверных различий, что может быть связано с выраженными различиями в количестве особей (низкий процент гомозигот С/С – 8 %). Однако следует отметить определенные тенденции к увеличению яичной продуктивности и средней массы яиц кур с генотипом С/С породы Род-айленд красный, а также мясных качеств (живая масса, масса тушки и грудных мышц) кур с генотипом Т/Т (транзиция). На фоне преобладания особей, имеющих транзицию С→Т, во всех исследованных популяциях кур отмеченные отличия в распределении частот аллелей и генотипов в большей мере носят индивидуальный характер, что свидетельствует о необходимости учета влияния породных особенностей при изучении аллельного полиморфизма в пределах одного направления продуктивности.

#### A NOVEL *AluI*-POLYMORPHISM IN THE FOURTH INTRON OF THE CHICKEN GROWTH HORMONE GENE

*R.A. Kulibaba, Y.V. Liashenko, P.S. Yurko*

Institute of Animal Science,  
NAAS of Ukraine, Kharkov  
E-mail: romankx@rambler.ru

A novel *AluI*-polymorphism in the fourth intron of chicken growth hormone gene was shown. It was detected the cytosine to thymine transition in the restriction site for *AluI*. Primers, that flanking the 460 bp fragment of the fourth intron, containing a polymorphic restriction site for *AluI*, was designed. The nucleotide sequence fragments amplified polymorphic variants was determined. Using designed primers was analyzed the genetic structure of populations of White Plymouth Rock, Poltava Clay, Rhode Island Red and Borkovskaya Barvistaya chicken breeds. It was found that growth hormone gene (by *AluI*-polymorphism in the fourth intron) was polymorphic in all experimental populations. Frequencies of alleles C and T in chicken population of White Plymouth Rock breed were 0,14 and 0,86; Rhode Island Red – 0,3 and 0,7; Poltava Clay – 0,04 and 0,96;

Borkovskaya Barvistaya – 0,08 and 0,92 respectively. The tendency to increase egg production and egg weight of chicken with C/C genotype, as well as meat quality (live weight, carcass weight, weight of pectoral muscles) of chickens with genotype T/T of Rhode Island Red chicken breed was shown.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Su, Y.J., Shu, J.T., Zhang, M., Zhang, X.Y., Shan, Y.J., Li, G.H., Yin, J.M., Song, W.T., Li, H.F., and Zhao, G.P., Association of chicken growth hormone polymorphisms with egg production, *Genet. Mol. Res.*, 2014, vol. 13, no. 3, pp. 4893–4903.
- Jafari, A., Pakdel, A., and Esmailkhanian, S., Growth hormone gene polymorphism in two Iranian native fowls, *Poultry Sci. J.*, 2015, vol. 3, no. 1, pp. 99–104.
- Zhang, X.L., Jiang, X., Liu, Y.P., Du, H.R., and Zhu, Q., Identification of *AvaI* polymorphisms in the third intron of GH gene and their associations with abdominal fat in chickens, *Poultry Sci.*, 2007, vol. 86, no. 6, pp. 1079–1083.
- Lei, M., Luo, C., Peng, X., Fang, M., Nie, Q., Zhang, D., Yang, G., and Zhang, X., Polymorphism of growth-correlated genes associated with fatness and muscle fiber traits in chickens, *Poultry Sci.*, 2007, vol. 86, no. 5, pp. 835–842.
- Vu, C.T., and Ngu, N.T., Single nucleotide polymorphisms in candidate genes associated with egg production traits in native Noi chicken of Vietnam, *Int. J. Plant, Anim. Environ. Sci.*, 2016, vol. 6, no. 1, pp. 162–169.
- Nie, Q., Sun, B., Zhang, D., Luo, C., Ishag, N.A., Lei, M., Yang, G., and Zhang, X., High diversity of the chicken growth hormone gene and effects on growth and carcass traits, *J. Hered.*, 2005, vol. 96, no. 6, pp. 698–703.
- Nie, Q., Lei, M., Ouyang, J., Zeng, H., Yang, G., and Zhang, X., Identification and characterization of single nucleotide polymorphisms in 12 chicken growth-correlated genes by denaturing high performance liquid chromatography, *Genet. Sel. Evol.*, 2005, vol. 37, no. 3, pp. 339–360.
- Anh, N.T., Kunhareang, S., and Duangjinda, M., Association of chicken growth hormones and insulin-like growth factor gene polymorphisms with growth performance and carcass traits in thai broilers, *Asian-Austral. J. Anim. Sci.*, 2015, vol. 28, no. 12, pp. 1686–1695.
- Makhsous, S., Mirhoseini, S., Zamiri, M., and Ni-azi, A., Polymorphisms of growth hormone gene in a native chicken population: association with egg production, *Bull. Vet. Inst. Pulawy*, 2013, vol. 57, pp. 73–77.
- Kulibaba, R.A., Yurko, P.S., and Liashenko, Y.V., *MspI*-polymorphism in fourth intron of the growth hormone gene in chicken populations of different breeds. Analysis of the causes of additional restriction pattern origin, *Cytol. Genet.*, 2015, vol. 49, no. 6, pp. 372–377.
- Kulibaba, R.A., Polymorphism of growth hormone, growth hormone receptor, prolactin and prolactin receptor genes in connection with egg production in Poltava clay chicken, *Sel'skokhozyaistvennaya Biologiya [Agricultural Biology]*, 2015, vol. 50, no. 2, pp. 198–207.
- Ota, M., Fukushima, H., Kulski, J.K., and Inoko, H., Single nucleotide polymorphism detection by polymerase chain reaction-restriction fragment length polymorphism, *Nat. Protoc.*, 2007, vol. 2, no. 11, pp. 2857–2864.
- Gasser, R.B., Hu, M., Chilton, N.B., Campbell, B.E., Jex, A.J., Otranto, D., Cafarchia, C., Beveridge, I., and Zhu, X., Single-strand conformation polymorphism (SSCP) for the analysis of genetic variation, *Nat. Protoc.*, 2006, vol. 1, no. 6, pp. 3121–3128.
- Niraj, D.K., Kumar, P., Mishra, C., Narayan, R., Bhattacharya, T.K., Shrivastava, K., Bhushan, B., Tiwari, A.K., Saxena, V., Sahoo, N.R., and Sharma, D., Single nucleotide polymorphism mining and nucleotide sequence analysis of *Mx1* gene in exonic regions of Japanese quail, *Vet. World*, 2015, vol. 8, no. 12, pp. 1435–1443.
- Muhaghegh, M.D., Goswami, S.L., and De, S., Single strand conformation polymorphism (SSCP) in 3' region of growth hormone gene in five breeds of Indian buffalo, *Anim. Sci. Papers Rep.*, 2006, vol. 24, no. 2, pp. 159–162.
- Farag, I.M., Darwish, A.M., Darwish, H.R., AbdelAziz, K.B., Ramadan, W.A., and Mohamed, M.I., and Ohtman, O.E., Polymorphism of growth hormone gene and its association with wool traits in Egyptian sheep breeds, *Afr. J. Biotechnol.*, 2016, vol. 15, no. 14, pp. 549–556.
- Wu, X., Yan, M.J., Lian, S.Y., Liu, X.T., and Li, A., *GH* gene polymorphisms and expression associated with egg laying in Muscovy ducks (*Cairina moschata*), *Hereditas*, 2014, vol. 151, no. 1, pp. 14–19.
- Nie, Q., Ip, S.C., Zang, X., Leung, F.C., and Yang, G., New variations in intron 4 of growth hormone gene in Chinese native chickens, *J. Hered.*, 2002, vol. 93, no. 4, pp. 277–279.
- Merkur'eva, E.K., *Geneticheskie osnovy selektsii v skotovodstve (Genetic Bases of Breeding in Ranching)*, Moscow, Kolos, 1977, 240 p.

Поступила 02.06.16