

KIAULIŲ *MYF5* GENO ĮTAKA PENĖJIMOSI IR MĖSINĖMS SAVYBĖMS

Renata Indriulytė, Ilona Miceikienė

*K. Janušausko gyvūnų genetikos laboratorija, Gyvūnų veisimo ir genetikos katedra
Veterinarijos akademija, Lietuvos sveikatos mokslų universitetas
Tilžės g. 18 LT-47181 Kaunas tel.+370 37 36 36 64; el. paštas: genetikalab@lva.lt*

Santrauka. *MYF5* geno biologinis vaidmuo yra raumenų diferenciacija kontroliuojant miofibrilių susidarymą. Galvijų, kiaulių ir kitų gyvulių organizmo liesos mėsos svoris priklauso nuo miofibrilių skaičiaus. Kiaulės, turinčios daugiau raumeninių skaidulų, greičiau auga ir turi didesnę raumeninę masę.

Šio darbo tikslas buvo ištirti kiaulių *MYF5* geno įvairovę ir nustatyti polimorfizmo įtaką kiaulių penėjimosi ir mėsinėms savybėms. Tyrimui atrinkta 112 negiminingų kiaulių. Kiaulių *MYF5* geno AA genotipas buvo rastas 0,531 dažniu, AB genotipas – 0,435, o BB genotipas pasireiškė 0,034 dažniu. A alelis pasireiškė 0,748 dažniu, o B – 0,252 dažniu. AA genotipo gyvulių lašiniai buvo plonesni ir raumeningesni už AB ir BB genotipo gyvulių. AA genotipo kiaulės 100 kg masę pasiekė greičiau, bet skerdimo metu buvo jaunesnės, o jų priesvoris per parą buvo didžiausias. Šio genotipo kiaulės penėjimo metu suėdė mažiau pašarų.

Raktažodžiai: *MYF5* genas, restrikcinių fragmentų ilgio polimorfizmas (RFIP), kiaulės.

MYF5 GENE INFLUENCE ON FATTENING AND MEAT TRAITS IN PIGS

Renata Indriulytė, Ilona Miceikienė

*K. Janušauskas Laboratory of Animal Genetics
Veterinary Academy, Lithuanian University of Health Sciences
Tilžės 18, LT-47181 Kaunas, Lithuania. Tel.+370 37 36 36 64; e-mail: genetikalab@lva.lt*

Summary. Biological role of *MYF5* gene is skeletal muscle differentiation and controlling formation of myofibril. The lean meat weight of cattle, pig and other livestock depends on amount of myofibril. Pigs, who have more muscular fibre than remaining livestock, grow rapidly and have higher muscular weight. The objective of this study was to investigate *MYF5* gene polymorphism and its influence on pig productive traits. 112 unrelated pigs were investigated. Porcine *MYF5* gene AA genotype was found with frequency 0.531, AB genotype – 0.435 and BB genotype with frequency 0.034. In investigated pigs A allele was found with 0.748 frequency, B allele – 0.252 frequency, respectively. Animals with AA genotype had significantly lower body fat amount, higher muscularity percent and highest growth rate compared to animals with AB and BB genotypes. In addition, pigs with genotype AA had lowest feed consumption to reach 100 kg body weight than animals with AB and BB genotypes.

Keywords: *MYF5* gene, restriction fragment length polymorphism (RFLP), pigs.

Įvadas. Pastarąjį dešimtmetį pasaulyje susidomėta kiaulių genetikos kiekybinių požymių lokusais bei jų įtaka skerdenos kiekybiniais ir kokybiniais pokyčiams – riebalų šalinimui ir liesos mėsos gausinimui – svarbiausioms skerdenos charakteristikoms, veikiančios vartotojų poreikį (McPherron, Lee, 1997; Switonski, 2002; Stasio et al., 2003).

Žinoma nemažai genų, darančių įtaką kiaulienos produkcijos kiekiui ir kokybei. Tai miostatino, leptino, augimo hormono, augimo hormono receptoriaus, *MYOD* genų grupė, halotano ir kiti genai (Switonski, 2002).

MYOD genų grupė susideda iš keturių struktūriškai artimų genų – *MYOD1*, *MYOG*, *MYF5* ir *MYF6*. Jie koduoja pagrindinius spiralė-kilpa-spiralė (bHLH) baltymus ir yra susiję su raumeninių ląstelių diferenciacija tiek *in vitro*, tiek ir *in vivo*. *MYOD1*, *MYOG*, *MYF5* genai dalyvauja prenataliniuose procesuose, o *MYF6* genas – postnataliniame raumenų augimo procese (Fausto et al., 2005).

Kiaulių *MYF5* genas yra penktoje chromosomoje. Tai pirmas atrastas genas, veikiantis raumenų ląstelėse, embrioniniame raumenų vystymosi procese ir atliekantis svarbų vaidmenį reguliuojant skeleto raumenų pirmtakų diferenciaciją. Liesos mėsos svoris galvijų, kiaulių ir kitų

gyvulių organizme priklauso nuo miofibrilių skaičiaus. Kiaulės, turinčios tam tikrus *MYF5* geno alelius, turi daugiau raumeninių skaidulų, greičiau auga ir yra raumeningesnės (Pas et al., 1999; Guimaraes et al., 2007). Taigi *MYF5* genas gali būti panaudotas kaip genetinis žymuo selekcionuojant raumeningumo didinimo kryptimi. Šio darbo tikslas buvo ištirti *MYF5* geno įvairovę Lietuvoje veisiamų kiaulių ir nustatyti polimorfizmo įtaką kiaulių produktyvumo savybėms.

Medžiagos ir metodika. Tyrimui atrinkta 112 negiminingų šių veislių kiaulių: Lietuvos baltųjų (26), didžiųjų baltųjų (21), landrasų (25), Lietuvos vietinių (20), Jorkšyrų (20), augintų Valstybinėje kiaulių veislininkystės stotyje, Baisogaloje. Tyrimai atlikti Lietuvos veterinarijos akademijoje, K. Janušausko gyvūnų genetikos laboratorijoje. DNR išskirta iš šerių su DTT (1M), „Chelex 100“, „Protenase K“ (20mg/ml) reagentais. *MYF5* genas tirtas PGR–RFLP metodu (Pas et al., 1999), naudojant *MYF5* pirminį CTCCGAATTAGTGTGGCTTC ir *MYF5* atvirkštinį GTTCTTTCCGGACCAGACAGGCCTC oligonukleotidų pradmenis (10 pmol), 0,2 mM dNTP, 25 mM MgCl₂, 10x Taq Buffer (NH₄)SO₄, 2U Taq DNR polimerazę, BSA (20 mg/ml). Polimerazės grandininė reakcija

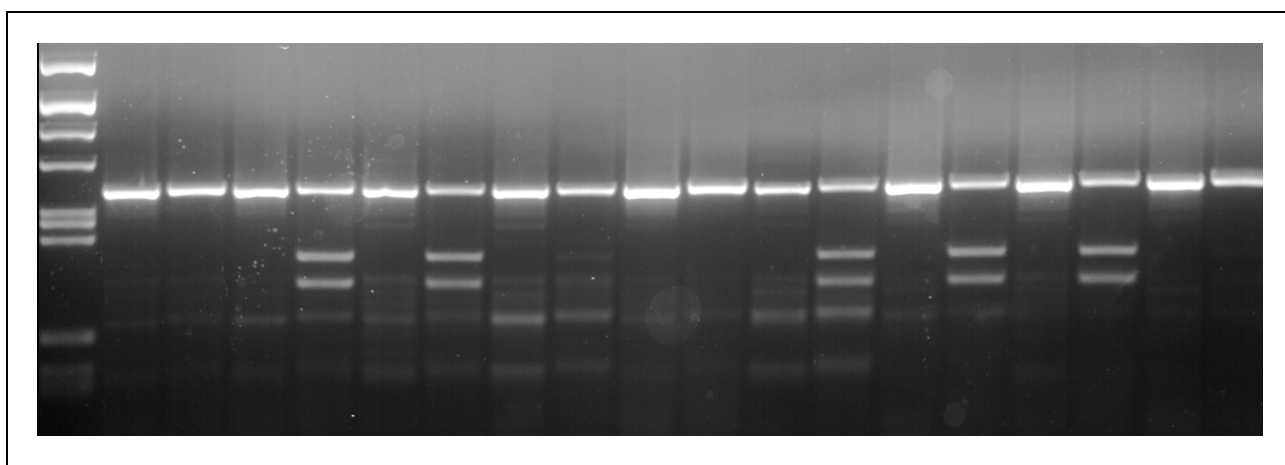
(PGR) atlikta automatiniam amplifikatoriuje šiomis sąlygomis: 95°C 5 min, 35 ciklai; 94°C 45 s, 60°C 1 min, 72°C 1 min; sintezės užbaigimas – 72°C 10 min. Gautas PGR produktas buvo skaldomas 12 valandų 37°C temperatūroje *Hinf I* restrikciniu fermentu. Po karpymo DNR fragmentai buvo analizuojami 3 proc. agarozės gelyje, UV šviesoje. Norint įvertinti *MYF5* geno įtaką mėsinėms savybėms, suformuota šių fenotipinių požymių duomenų bazė: šiltos skerdenos masė, skerdenos puselės ilgis, bekonos puselės ilgis, nugaros raumens plotas, kūno masė, lašinių storis ties 6–7 šonkauliu, lašinių storis ties 10 šonkauliu, lašinių storis už paskutinio šonkaulio, lašinių storis Fat₂ taške, raumens storis Fat₂ taške. Norint įvertinti *MYF5* geno įtaką penėjimosi rodikliams, suformuota šių fenotipinių požymių duomenų bazė: amžius skerdimo

metu, amžius esant 100 kg masės, priesvoris per parą, suėsta pašarų per penėjimosi laikotarpį, pašarų sąnaudos 1 kg priesvorio. Fenotipiniai duomenys gauti iš Valstybinės kiaulių veislininkystės stoties Kauno skyriaus.

Statistinė duomenų analizė. Statistinė duomenų analizė atlikta R statistiniu paketu. (<http://www.r-project.org/>).

Atliekant duomenų analizę, apskaičiuoti šie rodikliai: geno ir genotipų dažniai, faktinis ir prognozuojamas heterozigotiškumas, geno įtaka kiekvienam rodikliui.

Tyrimų rezultatai. Ištyrus 112 kiaulių nustatyta, kad *MYF5* genas yra polimorfiškas tirtose kiaulių grupėse, tai yra rasti du jo aleliai – A ir B. Tiriant PGR–RFIP metodu gautas 322 bp PGR produktas. Po karpymo A alelis buvo 322 bp, o alelis B – 170 bp ir 143 bp dydžio (pav.).



Pav. **Kiaulių miostatino geno (*MYF 5*) polimorfizmo tyrimai:** 1 – žymuo (pBR322 DNA/AluI Marker, 20); 2, 4, 6, 8, 10, 12, 14, 16, 18 – PGR; 3, 9, 11, 19 – AA genotipas; 5, 7, 13, 15, 17 – AB genotipas.

AA genotipas rastas 0,531 dažniu, AB genotipas – 0,435, o BB genotipas pasireiškė 0,034 dažniu. A alelis pasireiškė 0,748 dažniu, o B – 0,252 dažniu (1 lentelė). Nustatyti genotipų skirtumai tarp atskirų kiaulių veislių. BB genotipas buvo rastas tik Lietuvos baltųjų ir didžiųjų baltųjų veislių kiaulėse. AA genotipas didžiausiu dažniu (0,600) rastas Jorkšyrų veislės kiaulėse, o mažiausiu (0,022) – Lietuvos vietinių veislių kiaulėse. BB genotipas

didžiausiu dažniu rastas Lietuvos baltųjų veislės kiaulėse (0,422) ir visai nerastas landrasuose (0,00).

Įvertinus heterozigotiškumą visoje tirtose gyvulių grupėje, faktinis heterozigotiškumas buvo didesnis nei teorinis, vadinasi, genetinės įvairovės kiekis tirtuose fokusuose yra pakankamas, nors skirtumas nėra statistiškai reikšmingas (2 lentelė).

1 lentelė. **Kiaulių *MYF5* geno genotipų ir alelių dažniai**

Genotipas	n	Dažnis	Alelis	Dažnis
AA	72	0,531	A	0,748
AB	36	0,435	B	0,252
BB	4	0,034		
	112	1		1

2 lentelė. **Tirtos kiaulių grupės faktinis ir teorinis heterozigotiškumas**

Heterozigotiškumas	Tirta kiaulių grupė
Faktinis	0,289
Teorinis	0,255
χ^2 – kriterijaus reikšmė	1,78 (p=0,182)
p – patikimumas	

3 lentelė. *MYF5* geno įtaka kiaulių penėjimosi savybėms

Genotipas	n	Amžius skerdimo metu, d.	Amžius esant 100 kg masės, d.	Priesvoris per parą, g	Suėsta pašarų per penėjimosi laikotarpį	Pašarų sanaudos 1 kg priesvorio
AA	72	172,8±0,174	178,4±0,191	790,4±1,38 ^a	174,9±0,085 ^a	2,7±0,002 ^a
AB	36	174,8±0,394	180,9±0,413	738,7±2,867 ^b	181,4±0,243 ^b	2,7±0,004 ^b
BB	4	174±3,981	180,5±3,888	694,1±24,219	190,9±5,259	3±0,074

a, b – vidurkiai, lentelės stulpelyje pažymėti skirtingomis raidėmis, statistiškai patikimai skiriasi tarpusavyje ($p<0,05$)

Tiriant *MYF5* geno įtaką penėjimosi savybėms nustatyta, kad mažiausias amžius esant 100 kg masės buvo kiaulių, turinčių *MYF5* geno AA genotipą (172,8 dienos), mažiausiai pašarų per penėjimosi laikotarpį suėdė AA genotipo kiaulės (174,9 kg), o mažiausios pašarų sanaudos 1 kg priesvorio buvo kiaulių su genotipu AA ir AB (2,7 kg); tuo tarpu kiaulėms, turinčioms BB genotipą, 1 kg priesvoriumi priaugti reikėjo 3 kg pašarų. Didžiausią priesvorį per parą pasiekė kiaulės, turinčios AA genotipą (790,4 g), o mažiausią – BB genotipą turinčios kiaulės (694,1 g) (3 lentelė).

Tiriant *MYF5* geno įtaką mėsinėms savybėms nustatyta, kad kiaulių *MYF5* geno B alelis didina šiltos skerdenos masę, skerdenos puselės ilgį, bekono puselės ilgį, bet didžiausias nugaros raumens plotas buvo AA genotipo – 40,7 kg, tuo tarpu AB genotipo – 39,6 kg, o BB genotipo – 39,8 kg. Ploniausiais lašiniiais išsiskyrė AA genotipo kiaulės (14,8 mm Fat₂ taške), o storiausiais – AB genotipo gyvuliai (16,4 mm). Raumeningiausi buvo AA genotipo (55,4 proc., o mažiausiai raumeningi – heterozigotiniai AB gyvuliai (53,9 proc.) (4a, 4b lentelės).

4 lentelė (a). *MYF5* geno įtaka kiaulių mėsinėms savybėms

Genotipas	n	Šiltos skerdenos masė, kg	Skerdenos puselės ilgis, cm	Bekono puselės ilgis, cm	Nugaros raumens plotas, cm ²	Kumpio masė, kg
AA	72	75,2±0,012 ^a	98,4±0,024	77,4±0,023	40,7±0,049	11,9±0,004 ^a
AB	36	75,4±0,013	98,6±0,044	77,7±0,048	39,6±0,128	11,7±0,009 ^b
BB	4	75,4±0,067	98,7±0,727	77,8±0,687	39,8±1,194	11,9±0,119

a, b – vidurkiai, lentelės stulpelyje pažymėti skirtingomis raidėmis, statistiškai patikimai skiriasi tarpusavyje ($p<0,05$)

A, B – tarp vidurkių, lentelės stulpelyje pažymėtų skirtingomis raidėmis, nustatyta statistiškai patikimo skirtumo tendencija ($0,1<p<0,05$)

4 lentelė (b). *MYF5* geno įtaka kiaulių mėsinėms savybėms

Genotipas	n	Lašinių storis ties 6–7 šonkauliu, mm	Lašinių storis ties 10 šonkauliu, mm	Lašinių storis už paskutinio šonkaulio, mm	Lašinių storis taške Fat ₂ , mm	Raumens storis taške Fat ₂ , mm	Raumeningumas, proc
AA	72	17,4±0,044 ^a	16±0,047 ^A	16,6±0,041 ^a	14,8±0,044 ^a	46,1±0,089	55,4±0,045 ^a
AB	36	19,1±0,117 ^b	17,6±0,116 ^B	18,2±0,11 ^b	16,4±0,112 ^b	45,6±0,168	53,9±0,106
BB	4	18,9±0,418	17,1±0,467	18,1±0,264	15,5±0,962	46,5±1,453	54,9±0,405 ^b

a, b – vidurkiai, lentelės stulpelyje pažymėti skirtingomis raidėmis, statistiškai patikimai skiriasi tarpusavyje ($p<0,05$)

A, B – tarp vidurkių, lentelės stulpelyje pažymėtų skirtingomis raidėmis, nustatyta statistiškai patikimo skirtumo tendencija ($0,1<p<0,05$)

Koduojanti *MYF5* seka apima 1128 bp (McPherron, 1998). Dvi šio geno iššifruotos sekos rastos kiaulių raumenyse bei pieno liaukose – 800 ir 1500 ilgio (Sonstegard et al., 1998). Šis genas sudarytas iš trijų egzonus, kurių ilgis 373, 374 ir 381 bp. Aktyvi baltymo forma apima 376 aminorūgštis (Stratil, Kopečný, 1999). Aptikti kai kurie *MYF5* geno pokyčiai, tačiau jie nelabai paplitę. Vadinasi, *MYF5* genas tarp kiaulių daug stabilesnis nei tarp galvijų

(Stratil, Kopečný, 1999). Geno stabilumą dar kartą patvirtina ir tas faktas, kad labai raumeningoms kiaulėms retai pasireiškia raumenų hiperplazija, bet joms būdinga raumenų hipertrofija, ypač Pjetreno ir Belgijos landrasų veislėms. Remiantis atliktais tyrimais teigiama, jog Jorkšyrų veislės kiaulės geba geriau sintetinti baltymus raumenyse (Ezewke and Martin, 1975), todėl jos raumeningesnės, nei to paties amžiaus ir svorio kitų veislių kiaulės. Mūsų ty-

rimai taip pat rodo, kad Jorkšyrų veislėje AA genotipas, rastas didžiausiu dažniu (0,600) palyginti su kitomis tirtomis veislėmis, lemia ir didžiausią raumeningumą (55,4 proc.). M. F. W. Pas (1999) ištyrė 1216 kiaulių *Hinf I* polimorfinę *MYF5* geno sritį ir nustatė, kad A alelis vyravo B alelio atžvilgiu. Panašius tyrimų rezultatus gavome ir mes – A alelis tirtose kiaulių grupėse pasireiškė 0,748 dažniu, o B – 0,252 dažniu. Statistinė *MYF5* geno genotipų ir atvesto jauniklio svorio, svorio skerdimo metu, augimo greičio, mėsos svorio ir nugaros lašinių storio duomenų analizė parodė, kad homozigotiniai kiaulių miostatino AA ir BB genotipai vienas nuo kito nesiskiria pagal tirtus požymius (Pas, 1999).

Mūsų tyrimų rezultatais, kiaulių *MYF5* genas veikė tiek mėsines, tiek penėjimosi savybes. Panašius duomenis gavo ir kiti mokslininkai (Cieslak et al., 2003; Fausto, 2005).

Apibendrinami galime teigti, kad AA genotipo gyvuliai buvo plonesnių lašinių ir didžiausio raumeningumo. AA genotipo kiaulės 100 kg masę pasiekė greičiau, tad skerdimo metu buvo jaunesnės, jų priesvoris per parą buvo didžiausias, šio genotipo kiaulės penėjimo metu suėdė mažiau pašarų.

Literatūra

1. Ezekwe M. O. and Martin R. J. Cellular characteristics of skeletal muscle in selected strains of pigs and mice and the unselected controls. *Growth*. 1975. V. 39. P. 95–99.
2. Cieslak D., Blicharski T., Kapelanski W., Pierzchala M. Investigation of polymorphisms in the porcine myostatin (GDF8; MSTN) gene. *Czech Journal of Animal Sciences*. 2003. V. 48. P. 69–75.
3. Fausto M., Guimaraes S., Facioni E., Lopes P., Pires A., Guimaraes M., Barbosa S., Schierholt A., Silva K., Gomide L. Association of MYF5 gene allelic variants with production traits in pigs. *Genetic and Molecular Biology*. 2005. V. 28 (3). P. 363–369.
4. Guimaraes S., Stahl C., Lonergan S., Geiger B., Rothschild M. Myostatin promoter analysis and expression pattern in pigs. *Livestock Science*. 2007. V. 112. P. 143–150.
5. McPherron A.C., Lee S. Double muscling in cattle due to mutations in the myostatin gene. *Proceedings of National Academy of Sciences USA*. 1997. V. 94. P. 12457–12461.
6. McPherron A.C., Lee S. Double muscling in cattle due to mutations in the myostatin gene. 1998. *Proceedings of National Academy of Sciences USA*. V. 94. P. 12457–12461.
7. Pas M. F. W., Harders F. L., Soumillion A., Born L., Buist W., Meuwissen T. H. E. Genetic variation at the porcine MYF-5 gene locus. Lack of association with meat production traits. 1999. *Mammalian Genome*. V. 10. P. 123–127.
8. Pas M. F. W., Soumillion A., Harders F. L., Verburg F. J., Bosch, Galesloot P., The Meuwissen Influ-

ences of Myogenin Genotypes on Birth Weight, Growth Rate, Carcass Weight, Backfat Thickness, and Lean Weight of Pigs. 1999. *Journal of Animal Sciences*. V. 77. P. 67–71.

9. Sonstegard T. S., Rohrer G. A., Smith T. P. L. Myostatin maps to porcine chromosome 15 by linkage and physical analyses. 1998. *Animal Genetics*. V. 29. P. 19–22.

10. Stasio L. Di., Brugiapaglia A., Destefanis G., Albera A., Sartore S. GH1 as candidate gene for variability of meat production traits. *Journal of Animal Breeding and Genetics*. 2003. V. 120. P. 358–361.

11. Stratil A., Kopečný M. Genomic organization, sequence and polymorphism of the porcine myostatin (GDF8; MSTN) gene. 1999. *Animal Genetics*. V. 30. P. 468–470.

12. Switonski M. Molecular genetics in beef cattle breeding a review. *Animal Science Papers and Reports*. 2002. V. 20. Supplement 1. P. 7–18.

13. The R Project for Statistical Computing – [žiūrėta 2009 m.-vasario mėn. 15 d.] – Internetė: <http://www.r-project.org>

Gauta 2009 09 01

Priimta publikuoti 2010 10 29