

Г. Н. Сердюк, И. А. Погорельский, Л. В. Карпова, Ю. В. Иванов, М. В. Позовникова

Полиморфизм гена H-FABP и его влияние на откормочные и мясные качества свиней

Аннотация. Изучен полиморфизм 2-х типов D и H гена H-FABP и установлено влияние генотипов этих систем на откормочные и мясные качества свиней, полученные от 2-х вариантов 3-х породного скрещивания (Йоркшир х ландрас х дюрок и йоркшир х ландрас х МАХGRO). Для свиней обеих групп характерна высокая частота встречаемости гетерозиготных генотипов Dd (система D) и Hh (система H). Более высоким уровнем откормочной продуктивности обладают животные с гетерозиготным комплексным генотипом DdHh, а мясными признаками – с комплексным гомозиготным генотипом ddHH гена H-FABP.

Ключевые слова: свиньи, система D, система H, ген, аллель, скрещивание, порода, откормочные и мясные качества, продуктивность.

Авторы:

Сердюк Григорий Николаевич – доктор биологических наук, профессор, зав. лабораторией иммуногенетики ФГБНУ ВНИИГРЖ, Санкт-Петербург - Пушкин, Московское шоссе, 55а, 196601, e-mail: labimmgen@mail.ru .

Погорельский Иван Андреевич — старший научный сотрудник ФГБНУ ВНИИГРЖ, Санкт-Петербург-Пушкин, Московское шоссе, 55а, 196601, e-mail: pogia@mail.ru;

Карпова Лада Валерьевна — старший научный сотрудник ФГБНУ ВНИИГРЖ, Санкт-Петербург-Пушкин, Московское шоссе, 55а, 196601, e-mail: labimmgen@mail.ru;

Иванов Юрий Витальевич — соискатель ФГБНУ ВНИИГРЖ, Санкт-Петербург-Пушкин, Московское шоссе, 55а, 196601;

Позовникова Марина Владимировна — младший научный сотрудник, ФГБНУ ВНИИГРЖ, Санкт-Петербург-Пушкин, Московское шоссе, 55а, 196601, e-mail: marina.qpr@gmail.com.

Введение. Конъюнктура современного рынка диктует новые условия для современного животноводства, прежде всего, требует более высоких качественных показателей мяса и его питательной ценности. Одним из основных показателей, с ориентиром на который должна вестись селекция, является повышение мясности, уменьшение толщины шпика. Нахождение в мясе жировых прожилок, так называемое «мраморное мясо» является одним из лучших качественных показателей. На отложение внутримышечного жира у свиней влияет такой ген, как H-FABP — ген белка, связывающего жирные кислоты [1, 2, 3].

Ген H-FABP у свиней локализован на 6 хромосоме. Полиморфизм по типу H (5'UTR) выявлен с помощью энзиматического гидролиза эндонуклеазой HinfI с последовательностью узнавания G ANTC (генный банк № X98558, позиции 1321-1325). Наличие рестрикционного сайта соответствует аллелю H, а его отсутствие — аллелю h. Наличие рестрикционного сайта эндонуклеазы или BsuRI (HaeIII) с последовательностью узнавания GG CC во 2 интроне гена H-FABP (генный банк № Y16180, позиции 1810–1813)

свидетельствует о наличии аллеля d, а его отсутствие — аллеля D [4, с. 42].

Цель исследования. Изучить полиморфизм и установить влияние аллельных вариантов гена белка, связывающего жирные кислоты (H-FABP) на откормочные и мясные качества молодняка свиней, полученного при 2-х вариантах 3-х породного промышленного скрещивания свиней, на котором в основном специализируются современные свиноккомплексы не только в России, но и за рубежом.

Материалы и методы исследования. Объектом исследования при изучении полиморфизма гена H-FABP служило помесное поголовье свиней от 2-х вариантов 3-х породного скрещивания (Йоркшир х ландрас х дюрок и йоркшир х ландрас х МАХGRO), принадлежащее ООО «Русбелго» Ленинградской области. У всего поголовья свиней, используемого в опыте был изучен полиморфизм гена H-FABP по 2-м аллельным системам (D и H). В общей сложности было исследовано 120 помесных свинок (55 голов были получены в результате скрещивания 3-х пород (Йоркшир х ландрас х дюрок) и 65 голов — получены в результате

скрещивания также 3-х пород: йоркшир х ланд-рас х МАХGRO.

ДНК из крови выделяли с помощью наборов для выделения ДНК «Fermentas». При изучении полиморфизма свиней по гену H-FABP были использованы следующие методы:

- метод полимеразной цепной реакции (ПЦР) для амплификации фрагментов генов;
- метод полиморфизма длин рестриционных фрагментов (ПДРФ) для определения полиморфизма генов;
- метод горизонтального электрофореза с последующей визуализацией.

Генотипирование свиней по гену H-FABP проводилось по методике Gerbens et al., (1997), усовершенствованной Р.Ю. Арсиенко (2003). Для ПЦР использовали праймеры, синтезированные ЗАО «Синтол», Россия:

H-FABP 3-5'- АТТ САГ СТА СТС АГС ТГТ ТТС С — 3'

H-FABP 4- 5'- ААС ААА СТС ТСА GGA АТG GGA G — 3'

H-FABP 5- 5'- ААG АGГ АСС ААG АТG ССТ АСГ — 3'

H-FABP 6- 5'- ТGС ТGТ ССА СТА GCT ТСС АGГ — 3'

Амплификацию фрагментов ДНК гена H-FABP проводили на термоциклере «Терцик» («ДНК-технологии», Россия). После начальной денатурации при температуре 95⁰ С в течение 5 мин. выполняли 35 циклов амплификации в следующем температурном режиме: 95⁰ С — 1 мин, 58⁰ С (D-аллель) и 60⁰ С (H-аллель) — 1 мин, 72⁰С — 1 мин.

Полученные амплификаты расщепляли рестриктазами: Hae III — для аллеля D, Hinf I — для аллеля H. Для разделения фрагментов ДНК проводили горизонтальный электрофорез при 10В/см в 1ХТВЕ буфере на 2,0% агарозной пластине, содержащей 0,1 мкг/мл этидия бромид.

Таблица 1. Характеристика фрагментов рестрикции аллелей системы D гена H-FABP (D)

Генотип	Ампликат, (п.н.)	Длина фрагментов рестрикции, п.н (HaeIII)
DD	611	611
Dd	611	611, 414, 197
dd	611	414, 197

Таблица 2. Характеристика фрагментов рестрикции аллелей системы H гена H-FABP

Генотип	Ампликат, (п.н.)	Длина фрагментов рестрикции, п.н. (HinfI)
HH	560	201, 59
Hh	560	260, 201, 59
hh	560	260

В качестве маркеров использовали ДНК плазмиды pBR322, расщепленную рестриктазой AluI, а также 50bp и 100bp DNA Ladder («Fermetas»). Результаты рестрикции визуализировали с помощью трансиллюминатора в УФ свете с длиной волны 260 нм. Фиксацию результатов осуществляли при помощи видеосистемы «Gel Imager 2» (Компания «Хеликон» Россия).

Электрофореграмма фрагментов рестрикции аллеля D гена H-FABP представлена на фото 1.

Для гомозиготного генотипа DD характерна длина фрагментов рестрикции 611 пар нуклеотидов, для гетерозиготного генотипа Dd длина фрагментов рестрикции — 611,414 и 197 п.н., для генотипа dd гена H-FABP характерна длина фрагментов рестрикции — 414 и 197 п.н.

Характеристика фрагментов рестрикции аллелей H системы гена H-FABP несколько иная (табл. 2).

Оба аллеля гена H и h имеют фрагмент рестрикции длиной 300 п.н. Для гомозиготного генотипа HH характерна длина фрагментов рестрикции 201 и 59 п.н., для гетерозиготного генотипа Hh длина фрагментов — 260, 201 и 59 п.н., для генотипа hh гена H-FABP характерна длина фрагментов рестрикции- 260 п.н. Электрофореграмма фрагментов рестрикции аллеля H гена H-FABP представлена на фото 2.

Частоту встречаемости генотипов рассчитывали по формуле:

$$P=n/N,$$

где, P — частота определенного генотипа;

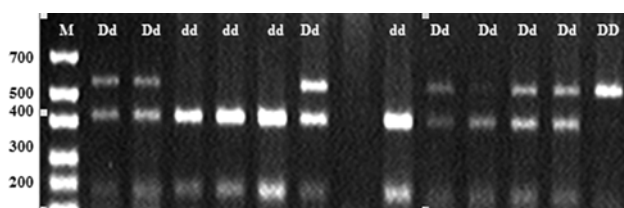


Фото 1. Электрофореграмма фрагментов рестрикции аллелей системы D гена H-FABP

n — количество животных, имеющих определенный генотип;

N — общее число животных.

Частоту отдельных аллелей определяли по формуле Е. К. Меркурьевой (1977):

$$P_A = (2n_{AA} + n_{AB}) / 2N,$$

$$Q_B = (2n_{BB} + n_{AB}) / 2N,$$

Где P_A — частота аллеля A ;

Q_B — частота аллеля B .

Ожидаемую частоту встречаемости генотипов определяли по закону Харди-Вайнберга: $p^2 + 2pq + q^2 = 1$, где p^2 — доля гомозигот по одному из аллелей; p — частота этого аллеля; q^2 — доля гомозигот по альтернативному аллелю; q — частота соответствующего аллеля; $2pq$ — доля гетерозигот.

Сравнение наблюдаемых частот аллелей с теоретически ожидаемыми значениями проводили по критерию χ^2 Пирсона:

$$\chi^2 = \sum \frac{(O-E)^2}{E}$$

где O — наблюдаемое число,

E — теоретически ожидаемая частота гомозигот AA , BB и гетерозигот AB .

Статистическая обработка данных была выполнена с помощью пакета анализа данных компьютерной программы Microsoft Excel. Достоверность различий определяли по t — критерию Стьюдента.

Результаты исследования. В таблице 3 представлены данные по частоте встречаемости генотипов и аллелей типа D гена $H-FABP$ у свиней обоих вариантов скрещивания.

Для свиней обеих групп характерна высокая частота встречаемости гетерозиготного генотипа Dd : 0,600 в I варианте скрещивания (йоркшир х

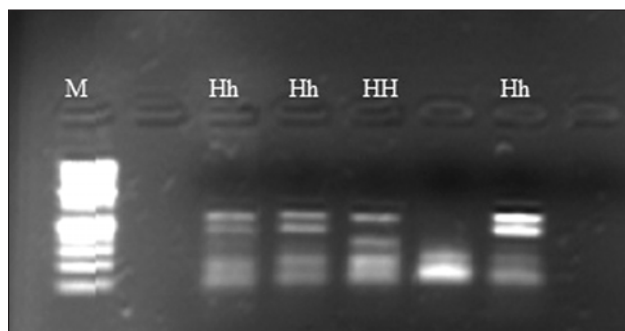


Фото 2. Электрофореграмма фрагментов рестрикции аллелей системы D гена $H-FABP$

ландрас х дюрок) и 0,800 во II варианте скрещивания (йоркшир х ландрас х MAXGRO).

Частота встречаемости гомозиготного генотипа dd несколько ниже у молодняка, полученного от скрещивания свиней пород: йоркшир х ландрас х MAXGRO и составляет 0,200, что на 0,127 ниже, чем в I варианте скрещивания (йоркшир х ландрас х дюрок). Что касается гомозиготного генотипа DD , то его частота встречаемости в I варианте скрещивания составила 0,073, в то время как у поместного поголовья во II варианте скрещивания этот генотип отсутствует. Фактическая частота встречаемости аллеля d в I варианте скрещивания оказалась близкой к теоретической (по сравнению с таковой для аллеля D у свиней обеих групп (0,633 и 0,600 соответственно) против 0,367 и 0,400. В выборке свиней I варианта скрещивания отклонение фактического распределения частот генотипов типа D гена $H-FABP$ близко к теоретическому ($\chi^2 = 5,80$, $p \geq 0,02$), но имеется тенденция к преобладанию аллеля d . Во II варианте скрещивания фактическое распределение генотипов типа D значительно отличается от теоретического ($\chi^2 = 29,26$, $p \geq 0,001$) и наблюдается преобладание аллеля d . Такое распределение аллеля d в обоих вариантах скрещивания указывает

Таблица 3. Частота встречаемости генотипов и аллелей у свиней I и II вариантов скрещивания типа D гена $H-FABP$

Показатель	всего	Частота встречаемости					χ^2	Уровень достоверности
		Генотипы			Аллели			
		DD	Dd	dd	D	d		
<i>I йоркшир х ландрас х дюрок</i>								
n	55	4	33	18				
Частота встречаемости фактическая		0,073	0,600	0,327	0,367	0,633	5,80	$p \geq 0,02$
Ожидаемая		0,135	0,465	0,400				
<i>II йоркшир х ландрас х MAXGRO</i>								
n	65	0	52	13				
Частота встречаемости фактическая		0	0,800	0,200	0,400	0,600	29,26	$p \geq 0,001$
Ожидаемая		0,160	0,480	0,360				
\pm к I варианту скрещивания		0,072	+0,200	-0,127	+0,003	-0,033		

на влияние этого аллеля на признак, значимый в процессе селекции.

В таблице 4 представлены результаты генотипирования исследуемого поголовья свиней по аллелю Н гена Н-FABP.

Из таблицы 4 следует, что в первом варианте скрещивания свиней у всего помесного поголовья содержится только гетерозиготный генотип Нh (частота встречаемости 1,0). Во втором варианте скрещивания только 3 головы содержат гомозиготный генотип НН (частота встречаемости 0,046), а остальные 62 головы содержат гетерозиготный генотип Нh (частота встречаемости 0,953). Животных с гомозиготным генотипом hh в обеих откормочных группах не было обнаружено. Частота встречаемости аллелей Н и h у свиней I группы составило 0,500 и 0,500, а во II группе молодняка она варьирует между 2-мя аллелями незначительно (0,523 и 0,477 соответственно). Фактическое распределение частот генотипов типа Н гена Н-FABP в I и II вариантах скрещивания значительно отличалось от теоретически ожидаемого ($\chi^2 = 57,03$ и $40,62$ соответственно, $p \geq 0,001$). Такое распределение генотипов в пользу гетерозигот Нh указывает на то, что в изученных популяциях в силу естественного или искусственного

отбора преобладают только гомозиготы Н-типа гена Н-FABP.

В таблице 5 представлены данные по частоте встречаемости животных в исследуемых группах с наиболее часто встречающимися комплексными генотипами типов D и Н гена Н-FABP, поэтому в дальнейших исследованиях было задействовано 62 гол. свиней II варианта скрещивания вместо 65. В обоих исследованных вариантах скрещивания свиней большинство животных содержат комплексный гетерозиготный генотип DdHh (частота встречаемости 0,600 в I варианте скрещивания и 0,838 — во II). Значительно меньше животных содержат генотип ddHh (частота встречаемости 0,327 в I варианте и 0,162 во II). Генотип DDHh встречается у небольшого количества животных (4 головы только в I варианте скрещивания), а во II варианте отсутствует.

Полученные данные свидетельствуют как о внутривидовом, так и межвидовом генетическом разнообразии аллельных вариантов гена белка Н-FABP, связывающего жирные кислоты в организме.

В табл. 6 и 7 приведены откормочные и мясные показатели продуктивности помесных свиней 2-х типов скрещивания по комплексным генотипам типов D и Н гена Н-FABP.

Таблица 4. Частота встречаемости генотипов и аллелей у свиней 2-х вариантов скрещивания по аллелю Н гена Н-FABP

Показатель	всего	Частота встречаемости					χ^2	Уровень достоверности
		Генотипы			Аллели			
		НН	Нh	hh	Н	h		
<i>I йоркшир x ландрас x дюрок</i>								
n	55	0	55	0				
Частота встречаемости фактическая		0	1,000	0	0,500	0,633	57,03	$p \geq 0,001$
Ожидаемая		0,250	0,500	0,250				
<i>II йоркшир x ландрас x MAXGRO</i>								
n	65	3	62	0				
Частота встречаемости фактическая		0,046	0,953	0	0,523	0,477	40,62	$p \geq 0,001$
Ожидаемая		0,273	0,409	0,228				
		+0,046	-0,047	+0,076				

Таблица 5. Частота встречаемости животных с различными комплексными генотипами систем D и Н гена Н-FABP

Показатель	всего	DDHh	DdHh	ddHh
<i>I - йоркшир x ландрас x дюрок</i>				
n	55	4	33	18
частота встречаемости		0,072	0,600	0,327
<i>II - йоркшир x ландрас x MAXGRO</i>				
n	62	—	52	10
частота встречаемости		—	0,838	0,162
\pm к I варианту скрещивания		-0,072	+0,238	-0,165

Таблица 6. Откормочные качества помесных свиней 2-х типов скрещивания в зависимости от комплексных генотипов систем D и H гена H-FABP

Показатели	DDHh	DdHh	ddHH
<i>I йоркшир х ландрас х дюрок</i>			
n	4	33	18
Возраст достижения массы 100 кг., дн.	211,01 ± 2,90	208,21 ± 1,10 ^a	209,0 ± 3,4
Среднесуточный прирост, г.	590,12 ± 2,90	608,17 ± 2,92 ^c	602 ± 2,83 ^e
Затраты корма на 1 кг. прироста, к.ед.	3,70 ± 0,17	3,49 ± 0,21	3,62 ± 0,22
<i>II йоркшир х ландрас х MAXGRO</i>			
n	0	52	13
Возраст достижения массы 100 кг., дн.	—	202,20 ± 1,32 ^b	207,0 ± 2,8
Среднесуточный прирост, г.	—	628,21 ± 1,85 ^d	621 ± 1,97 ^f
Затраты корма на 1 кг. прироста, к.ед.	—	3,56 ± 0,33	3,96 ± 0,25

a,b; c,d; e,f p<0,001;

По всем откормочным показателям наиболее высокие откормочные качества наблюдаются у животных обеих вариантов скрещивания с комплексным гетерозиготным генотипом DdHh гена H-FABP. Так, возраст достижения массы 100 кг у животных с данным генотипом оказался меньше на 1–3 дня при I варианте скрещивания и на 5 дней при II варианте скрещивания, по сравнению с генотипами DDHh и ddHh. Среднесуточный привес по сравнению с животными-носителями генотипов DDHh и ddHh у них также оказался выше на 6-18 г. при I варианте скрещивания и на 7 г. — при II варианте скрещивания. Что касается затрат корма, то у животных обоих вариантов скрещивания с генотипом DdHh они оказались меньше по сравнению с 2-мя другими генотипами (DDHh и ddHh) соответственно на 0,21 и 0,13 кормовых единицы при I варианте скрещивания и на 0,40 кормовых единиц при II варианте скрещивания.

В табл. 7 представлены показатели мясной продуктивности у помесных свиней 2-х типов скрещивания.

Анализ мясных показателей продуктивности, полученных в результате убоя, свидетельствует о превосходстве по мясным качествам животных с комплексным генотипом ddHh по сравнению с генотипом DDHh и DdHh. По длине туши свињи с генотипом ddHh превосходили животных с другими комплексными генотипами в I варианте скрещивания на 2,1 и 2,8 см, а во II варианте — на 1,8 см. По площади «мышечного глазка» в I варианте скрещивания на 2,0 и 1,3 см², а во II варианте скрещивания — на 1,3 см². При этом у свиней с генотипом ddHH в I варианте скрещивания оказалась самая низкая толщина шпика (на 0,3 мм меньше по сравнению с генотипом DdHh и на 1,2 мм меньше, чем у свиней с генотипом DDHh).

Заключение. Получены новые данные, отображающие особенности частот встречаемости маркерных аллелей гена белка, связывающего жирные кислоты (H-FABP) у помесного молодняка свиней при различных вариантах скрещивания и установлено влияние генотипов данного гена на их откормочные и мясные качества. У молодняка свиней обоих вариантов скрещивания пород наблюдается

Таблица 7. Мясные качества помесных свиней 2-х типов скрещивания в зависимости от генотипов системы D гена H-FABP

Показатели	DDHh	DdHh	ddHH
n	4	33	18
<i>I йоркшир х ландрас х дюрок</i>			
Длина туши, см.	96,6 ± 1,09	97,3 ± 1,43	99,4 ± 2,66
Толщина шпика, мм.	23,3 ± 1,91	22,4 ± 1,21	22,1 ± 0,91
Площадь «мышечного глазка», см ² .	34,9 ± 1,43	35,6 ± 1,40	36,9 ± 1,53
<i>II йоркшир х ландрас х MAXGRO</i>			
n	0	52	13
Длина туши, см.	-	96,4 ± 1,24	98,2 ± 1,23
Толщина шпика, мм.	-	22,4 ± 1,36	23,9 ± 2,05
Площадь «мышечного глазка», см ² .	-	36,8 ± 1,01	38,1 ± 2,31

избыток встречаемости в гене H-FABP гетерозиготных генотипов Dd и Hh и недостаток гомозиготных генотипов dd и HH, которые оказались наиболее продуктивными по мясным показате-

лям продуктивности. Откормочные же показатели продуктивности самыми высокими оказались у животных с комплексным гетерозиготным генотипом DdHh гена H-FABP.

Литература

1. Гладырь Е. А. Использование маркерных генов в свиноводстве / Е. А. Гладырь, Р. Ю. Арсиенко, В. П. Мичурин и др. // ДНК-технологии в клеточной инженерии маркировании признаков сельскохозяйственных животных: Мат. междуна. науч. конф. (Дубровицы, 12 ноября 2001 г.) / ВИЖ. — Дубровицы, 2001. — с. 65.
2. Гончаренко Г. М. Генетическая структура популяций сельскохозяйственных животных Западной Сибири и использование маркеров в селекции / Автор. докт. дисс. / Г. М. Гончаренко. — Новосибирск, 2009 — 37 с.
3. Лобан Н. А. Влияние типа полиморфизма гена H-FABP на откормочные и мясные качества свиней крупной белой породы / Н. А. Лобан, О. Я. Василюк, Е. А. Гладырь, Н. А. Зиновьева // Прошлое, настоящее и будущее зоотехнической науки: Мат. междуна. науч.-практ. конф. (Дубровицы, 7–10 сентября, 2004 / ВИЖ. — Дубровица, 2004. — вып. 62, т. 2 — с. 104–110.
4. Арсиенко Р. Ю. Полиморфизм гена белка, связывающего жирные кислоты (H-FABP) и его влияние на хозяйственно-полезные признаки свиней / Дисс. канд. наук. / Р. Ю. Арсиенко. — Дубровицы, 2003 — 97 с.

Serdjuk G. N., Pogorelskiy I. A., Karpova L. V., Pozovnikova M. V., Ivanov Y. V.

The polymorfizm of H-FABP gene and its influence on fattening and meat quality of pigs

Abstract. *In the article is shown the polymorphism of H-FABP gene alleles D & H in two groups of pigs. Was established the influence of genotypes of these systems on fattening and meat quality of pigs received from 2 options of 3 breed crosses (Yorkshire x Landrace x Duroc and Yorkshire x Landrace x MAXGRO. For both groups of pigs characterized by high frequency of heterozygous genotype Dd (System D) and Hh (H system). Higher levels of productivity have fattening animals with complex heterozygous genotype Dd Hh and meat traits — with complex homozygous genotype ddHH gene H-FABP.*

Key words: pigs, system D, system H, gene, allele, crossing, breed, fattening and meat quality.

Authors:

Serdjuk Grigory Nikolaevich — Dr. Habil (Biology), Professor, Head of Laboratory of Immunogenetics for RRIFAGB; St. Petersburg, Pushkin, Moskovskoe shosse, 55a, 196601; e-mail: labimmgen@mail.ru;

Pogorelskiy Ivan Andreevich — Senior Research Scientist of Laboratory of Immunogenetics for RRIFAGB; St. Petersburg, Pushkin, Moskovskoe shosse, 55a, 196601; e-mail: pogia@mail.ru;

Karpova Lada Valer'evna — Senior Research Scientist of Laboratory of Immunogenetics for RRIFAGB; St. Petersburg, Pushkin, Moskovskoe shosse, 55a, 196601; e-mail: labimmgen@mail.ru;

Ivanov Yuriy Vital'evich — Scientist of Laboratory of Immunogenetics for RRIFAGB; St. Petersburg, Pushkin, Moskovskoe shosse, 55a, 196601;

Pozovnikova Marina Vladimirovna — Scientist of Laboratory of Immunogenetics for RRIFAGB; St. Petersburg, Pushkin, Moskovskoe shosse, 55a, 196601; e-mail: marina.qpr@gmail.com.