

2001. – № 34. – P. 223-228.

16. Zhang, W. Halotane Gene and Swine Performance / W. Zhang, D. Kuhlers, W. Rempel // J. of Anim. Sci. – 1992. – Vol. 70. – P. 1307-1313.

УДК 636.4.082.12

ГЕНЕТИЧЕСКАЯ СТРУКТУРА РАЗЛИЧНЫХ ПОРОД И ПОПУЛЯЦИЙ СВИНЕЙ ПО ГЕНУ H-FABP

М.А. КОВАЛЬЧУК

РУП «Институт животноводства НАН Беларуси»

Резюме. Изучен полиморфизм гена H-FABP у различных пород, популяций и половозрастных групп свиней. Установлены различия частот встречаемости аллелей H и d гена H-FABP на межпородном и межпопуляционном уровне и в зависимости от половозрастной группы животных. Выявлена тенденция преимуществ встречаемости генотипов H-FABP^{HH} и H-FABP^{dd} и высокая концентрация аллеля H и d у животных пород мясного направления продуктивности, что может быть связано с различным направлением селекции и интенсивностью отбора на увеличение количества мяса и уменьшение толщины шпика.

Ключевые слова: генетический полиморфизм, ген H-FABP, аллельные системы, мясная продуктивность, нежность мяса, качество мяса, внутримышечный жир, породы свиней.

Введение. Важнейшими селекционными признаками свиней являются мясная продуктивность и качество мяса. При производстве постной свинины, высоком среднесуточном приросте и низких затратах корма практически исчезли такие показатели, как ароматность, сочность и нежность мяса. Одна из причин ухудшения технологических качеств свинины – резкое снижение содержания в ней внутримышечного жира [4].

В качестве маркера содержания внутримышечного жира рассматривается ген, кодирующий белок, связывающий жирные кислоты (H-FABP) [5, 8, 13, 14], который локализован на 6-ой хромосоме (SSC6) [6, 7, 9, 10, 16, 17, 15, 12] и характеризуется тремя типами аллельного полиморфизма: A, a, D, d, H, h. Gerbens F., Pang-WeiJun и др. установили, что предпочтительными для селекции являются животные с генотипом HHdd [18, 19, 20]. Были исследованы животные, у которых содержание внутримышечного жира достоверно ($P < 0,05$) превосходило аналогичный показатель у животных других генотипов.

По данным Зиновьевой Н.А., частота встречаемости предпочтительного генотипа H-FABP^{dd} варьировала у свиней крупной белой породы от 7,9 до 34,8 %. Размах частот встречаемости генотипов H-FABP^{DD} и аллеля D в разных популяциях крупной белой породы со-

ставил от 13,0 % и 0,39 до 63,2 % и 0,78 соответственно. Частота встречаемости генотипа H-FABP^{HH} составила 71,4-100 % [1].

Исследования, проведённые Лобаном Н.А. и др. [2], выявили частоту встречаемости генотипа H-FABP^{dd} у свиней крупной белой породы, равную 49,3 %, белорусской мясной – 34,8 %, и генотипа H-FABP^{HH} соответственно 80,3 и 71,4 %. Установлена тенденция положительного влияния аллелей H-FABP^H и H-FABP^d на откормочные и мясные качества свиней крупной белой и белорусской мясной пород. Отмечено достоверное снижение ($P < 0.05$) толщины шпика на 4,1 и 8,0% у животных с генотипами H-FABP^{dd} и H-FABP^{HH} по сравнению с генотипами H-FABP^{DD} и H-FABP^{hh}.

Целью нашего исследования было изучение генетической полиморфизм гена H-FABP у различных пород, популяций и половозрастных групп свиней, разводимых в Беларуси.

Материал и методика исследований. Для изучения генетической структуры пород и популяций, разводимых в РСУП «СГЦ «Заднепровский» Витебской, РСУП «Заречье» Минской, СПК «Снов» Минской, РСУП «СГЦ «Василишки» Гродненской, РСУП «СГЦ «Заречье» Гомельской областей, по локусу гена H-FABP в РУП «Институт животноводства НАН Беларуси» была проведена ДНК-диагностика чистопородных свиноматок, хряков-производителей и молодняка на откорме следующих пород: белорусской мясной (БМ), крупной белой (КБ), белорусской чёрно-пёстрой (БЧП), ландрас (Л), дюрок (Д).

Выделение ДНК из пробы ткани уха свиней проводили перхлоратным методом по стандартной методике с модификациями. Электрофоретическим методом с последующей визуализацией определяли концентрацию и степень очистки ДНК в 1,8%-ном агарозном геле при помощи компьютерной программы VITran посредством трансиллюминатора в проходящем ультрафиолетовом свете с длиной волны 260 нм.

Аmplификацию фрагмента гена H-FABP аллельных систем H и D проводили методом ПЦР в реакционной смеси объёмом 25 мкл, содержащей 1x буфер, 2мМ дидоксирибонуклеотидтрифосфатов, 20 пМ каждого праймера, 1-2 ед. активности термостабильной Taq-полимеразы, 100-200 нг геномной ДНК при стандартных условиях: начальная денатурация: 95°C – 5 мин; 35 циклов: при 95°C – 1 мин, 60°C (аллель H) и 58°C (аллель D) – 1 мин, 72°C – 1 мин.; заключительный цикл при 72°C – 5 мин.

В ПЦР использовали олигонуклеотидные праймеры следующих последовательностей:

для аллельной системы H:

H-FABP1: 5' – AAG AGG ACC AAG ATG CCT ACG – 3',

H-FABP2: 5'– TGC TGT CCA CTA GCT TCC AGG – 3';

для аллельной системы D:

D-FABP1: 5' – ATT CAG CTA CTC AGC TGT TTC C – 3',

D-FABP2: 5' – AAC AAA CTC TCA GGA ATG GGA G – 3'.

Специфичность амплификата оценивали электрофоретическим методом в 2%-ном агарозном геле при напряжении 150 В в течение 35 мин. Визуализацию продуктов амплификации проводили с помощью трансиллюминатора. В качестве маркера использовали ДНК-плазмиды рBR322, расщепленную рестриктазой AluI. 10 мкл амплификата расщепляли 1-2 ед. активности соответствующих рестриктаз: HinfI (аллельная система H), HaeIII или BSU (аллельная система D) и инкубировали при температуре 37°C в течение 3-5 ч. Продукты рестрикции разделяли электрофоретическим методом в 3%-ном агарозном геле при напряжении 150 В в течение 1 ч. Частоту генотипов и аллелей гена H-FABP рассчитывали стандартными методами по Е.К. Меркурьевой [3].

Результаты эксперимента и их обсуждение. При проведении молекулярно-генетического тестирования свиней различных пород выявили полиморфизм гена H-FABP по системе H, представленный аллелями H, h и по системе D, представленный аллелями D, d. Идентифицированы генотипы: HH, Hh, hh, DD, Dd и dd (табл. 1, 2).

Анализ полученных данных по локусу гена H-FABP выявил значительные различия по частотам встречаемости полиморфных вариантов не только на межпородном, но и на межпопуляционном уровнях.

Результаты по системе H у чистопородных животных суммированы в табл. 1. Частота генотипа H-FABP^{HH} у животных в РСУП «СГЦ «Заднепровский» находится на высоком уровне. Так, у белорусской мясной породы частота встречаемости генотипа H-FABP^{HH} составляет 73,3 % у свиноматок, 75,8 % – у откормочного молодняка и 87,5 % – у хряков-производителей. Этот показатель несколько ниже у молодняка в РСУП «Заречье» Минской обл. и в РСУП «Заречье» Гомельской обл. и составляет 43,5 и 53,3 % соответственно. В среднем по белорусской мясной породе частота встречаемости генотипа H-FABP^{HH} равна 63,5%.

Анализ генетической структуры популяций крупной белой породы выявил значительные различия по частоте встречаемости генотипа H-FABP^{HH} у откормочного молодняка. Частота встречаемости гомозиготного генотипа H-FABP^{HH} колеблется от 66,1 до 80,0 %, а частота аллеля H – от 0,79 до 0,86. Высокая концентрация генотипа H-FABP^{HH} (80,0 %) наблюдается у молодняка в СПК «Снов» Минской обл. Это объясняется тем, что здесь сильное генетическое влияние на потомство оказывают хряки-производители мясных пород зарубежной селекции. В среднем по крупной белой породе процент встречаемости генотипа H-FABP^{HH} равен 68,5, а концентрация аллеля H – 0,81.

Таблица 1

Полиморфизм гена H-FABP по аллельной системе H у различных пород
и популяций свиней

Хозяйство	половозрастная группа	N	Частота генотипов, %			Частота аллелей	
			Частота генотипов, %	Частота аллелей	Частота генотипов, %	Частота аллелей	Частота генотипов, %
БМ							
РСУП «СГЦ «Заднепровский»	свиноматки	75	73,3	25,3	1,3	0,86	0,14
РСУП «СГЦ «Заднепровский»	хряки-производители	16	87,5	12,5	-	0,94	0,06
РСУП «СГЦ «Заднепровский»	молодняк	33	75,8	24,2	-	0,88	0,12
РСУП «Заречье» ¹	молодняк	69	43,5	43,5	13,0	0,65	0,35
РСУП «Заречье» ²	молодняк	15	53,3	40,0	6,7	0,73	0,27
В среднем по породе		208	63,5	31,3	5,3	0,79	0,21
КБ							
РСУП «СГЦ «Заднепровский»	молодняк	36	75,0	22,2	2,8	0,86	0,14
СПК «Снов»	молодняк	10	80,0	10,0	10,0	0,85	0,15
РСУП «СГЦ «Василишки»	молодняк	127	66,1	25,9	7,9	0,79	0,21
РСУП «Заречье» ²	молодняк	24	66,7	25,0	8,3	0,79	0,21
В среднем по породе		197	68,5	25,4	7,1	0,81	0,19
БЧП							
РСУП «Заречье» ²	молодняк	13	69,2	30,8	-	0,85	0,15
Л							
РСУП «Заречье» ²	молодняк	24	62,5	33,3	4,2	0,79	0,21
Д							
РСУП СГЦ «Заднепровский»	молодняк	10	10,0	80,0	10,0	0,50	0,50

РСУП «Заречье»¹ Минской обл., РСУП «Заречье»² Гомельской обл.

По остальным породам (белорусской чёрно-пёстрой, ландрас и дюрок) частота встречаемости гомозиготного генотипа H-FABP^{HH} составила 69,2 %, 62,5 и 10,0 %, с концентрацией аллеля H – 0,85, 0,79 и 0,50 соответственно. У молодняка породы дюрок частота встречаемости гетерозиготного генотипа H-FABP^{Hh} составила 80,0 %. Возможно, сказывается влияние адаптационного преимущества гетерозиготной

формы у породы дюрок.

Результаты анализа генетической структуры различных популяций чистопородных животных по аллельной системе D суммированы в табл. 2. Был выявлен значительный размах изменчивости частот генотипа H-FABP^{dd} в различных половозрастных группах и популяциях белорусской мясной породы от 25,0 до 68,7 %, с концентрацией аллеля d от 0,5 до 0,87. Высокая частота встречаемости генотипа H-FABP^{dd} наблюдается у хряков-производителей (68,7 %). Здесь оказывает влияние мясное направление продуктивности хряков-производителей белорусской мясной породы. Откормочный молодняк и свиноматки характеризуются почти одинаковым уровнем частоты встречаемости генотипа H-FABP^{dd}, который составляет 48,5-50,0 %, с концентрацией аллеля d – 0,70-0,68 соответственно. В популяциях молодняка в РСУП «Заречье» Минской и в РСУП «Заречье» Гомельской областей частота встречаемости генотипа H-FABP^{dd} колебалась от 34,7 до 25,0 %, концентрация аллеля d составила 0,57-0,5, а частота встречаемости гетерозиготной формы H-FABP^{Dd} в этих хозяйствах была 44,4-50,0 % соответственно.

Таблица 2

Полиморфизм гена H-FABP по аллельной системе D у различных пород и популяций свиней

Хозяйство	Половозрастная группа	N	Частота генотипов, %			Частота аллелей	
			DD	Dd	dd	D	d
БМ							
РСУП «СГЦ «Заднепровский».	свиноматки	76	13,2	36,8	50,0	0,32	0,68
-//-	хряки-производители	16	6,3	25,0	68,7	0,13	0,87
-//-	молодняк	33	9,1	42,4	48,5	0,30	0,70
РСУП «Заречье» ¹	молодняк	72	20,8	44,4	34,7	0,43	0,57
РСУП «Заречье» ²	молодняк	16	25,0	50,0	25,0	0,5	0,5
В среднем по породе		213	15,5	39,4	44,1	0,35	0,65
КБ							
РСУП «СГЦ «Заднепровский»	молодняк	36	19,4	61,1	19,4	0,5	0,5
СПК «Снов»	молодняк	9	11,1	33,3	55,6	0,28	0,72
РСУП «СГЦ «Василишки»	молодняк	112	22,3	48,2	29,5	0,46	0,54
РСУП «Заречье» ²	молодняк	24	20,8	54,2	25,0	0,48	0,52
В среднем по породе		181	20,9	50,8	28,2	0,46	0,54
БЧП							
РСУП «Заречье» ²	молодняк	13	76,9	23,1	-	0,88	0,12
Л							
РСУП «Заречье» ²	молодняк	25	8,0	56,0	36,0	0,36	0,64
Д							
РСУП «СГЦ «Заднепровский»	молодняк	10	90,0	10,0	-	0,95	0,05

РСУП «Заречье»¹ Минской обл., РСУП «Заречье»² Гомельской обл.

Анализ генетической структуры популяций крупной белой породы выявил значительный размах частот встречаемости генотипа Н-FABP^{dd} от 19,4 до 55,6 % с концентрацией аллеля d 0,5-0,72. Самый высокий уровень частот встречаемости генотипа Н-FABP^{dd} (55,6 %) наблюдается у откормочного молодняка в СПК «Снов» Минской обл. Частота встречаемости гетерозигот Н-FABP^{Dd} составляет 33,3-61,1 %, а в среднем по породе – 50,8 %. Это говорит о том, что животные с гетерозиготным генотипом Н-FABP^{Dd} более адаптированы к промышленным условиям.

По другим породам (белорусской чёрно-пёстрой, ландрас и дюрок) частота встречаемости генотипа Н-FABP^{dd} составила от 0 до 36,0 %. Не выявлены животные с генотипом Н-FABP^{dd} у белорусской чёрно-пёстрой породы РСУП «Заречье» Минской и породы дюрок РСУП «СГЦ «Заднепровский» Витебской областей. Здесь в большей степени у животных присутствовал генотип Н-FABP^{DD} и составил у белорусской чёрно-пёстрой породы 76,9 %, у породы дюрок – 90,0 %. Это связано с различными селекционными подходами при разведении.

Выводы. Полученные данные свидетельствуют о значительной вариативности частот встречаемости аллелей гена Н-FABP по аллельным системам Н и D у белорусской мясной, крупной белой, белорусской чёрно-пёстрой, ландрас, дюрок пород в разных популяциях свиней и в зависимости от половозрастных групп. Возможно, это связано с различным направлением селекции и интенсивностью отбора на увеличение количества мяса, и соответственно, уменьшение толщины шпика. Можно предположить, что у животных мясного направления продуктивности прослеживается преимущество встречаемости генотипов Н-FABP^{HH} и Н-FABP^{dd}, о чём свидетельствует высокая концентрация аллеля Н-FABP^H и Н-FABP^d в исследуемых популяциях свиней.

Литература.

1. Зиновьева, Н. А. Введение в молекулярную диагностику сельскохозяйственных животных / Н. А. Зиновьева [и др.]. – Дубровицы, 2002. – 112 с.
2. Лобан, Н. Влияние типа полиморфизма гена Н-FABP на некоторые продуктивные качества свиней / Н. Лобан, О. Василюк, А. Чернов // Свиноводство. – 2004. – № 5. – С. 8-9.
3. Меркурьева, Е. К. Биометрия в селекции и генетике сельскохозяйственных животных : учеб. пособие / Е. К. Меркурьева. – М., 1970. – 230 с.
4. Самков, С. А. Содержание внутримышечного жира в длиннейшей мышце спины / С. А. Самков // Зоотехния. – 1999. – № 12. – С. 24-25.
5. Chang, K. W. Development of microsatellite markers using BAC clone sequencing on porcine chromosome 6q28-6q32 / K. W. Chang // Journal of Animal Science and Technology. – 2004. – Vol. 46(3). – P. 301-306.
6. Characterization, chromosomal localization and genetic variation of the porcine heart fatty acid-binding protein gene / Gerbens, F. G. [et al.] // Mamm. Genome. - 1997. – Vol. 8. – P. 328-332.
7. Gerbens, F. Associations of heart and adipocyte fatty acid-binding protein gene

expression with intramuscular fat content in pigs / F. Gerbens // *Journal of Animal Science*. – 2001. – Vol. 79. – N 2. – P. 347-354.

8. Gerbens, F. Effect of genetic variants of the heart fatty acid-binding protein gene on intramuscular fat and performance traits in pigs / F. Gerbens // *J. anim. sci.* – 1999. – Vol. 77(4). – P. 846-852.

9. Grindflek, E. A search for major genes affecting meat quality in pigs / E. Grindflek ; Institutt for Husdyrfag Norges Landbrukshogskole (Department of Animal Science, Agricultural University of Norway). – Norway, 2000. – 91 p.

10. Grindflek, E. Detection of quantitative trait loci for meat quality in a commercial slaughter pig cross / E. Grindflek // *Mammalian Genome*. – 2001. – Vol. 12. – N 4. – P. 299-304.

11. Detection of QTL for intramuscular fat on porcine chromosome / E. Grindflek [et al.] // *Proceedings of the 7th World Congress on Genetics Applied to Livestock Production*. – Montpellier, 2002. – Session 3. – P. 1-4.

12. Kim, J. H. Detection of quantitative trait loci affecting fat deposition traits in pigs. / J. H. Kim // *Proceedings of the 7th World Congress on Genetics Applied to Livestock Production*. – Montpellier, 2002. – Session 11. – P. 1-4.

13. Kim, J. H. Detection of novel mutations in the FABP3 promoter region and association analysis with intramuscular fat content in pigs / J. H. Kim // *Journal of Animal Science and Technology*. – 2005. – Vol. 47(1). – P. 1-10.

14. Lin, Wan Hua. The porcine H-FABP gene and its relationship with intramuscular fat content / W. H. Lin. // *Proceedings of the 7th National Symposium on Animal Genetic Markers (Nanchang, 21-24 Oct. 2000) : Animal Biotechnology Bulletin*. – P. 7: 1, 51-55.

15. A QTL for intramuscular fat and backfat thickness is located on porcine Chromosome 6 / C. Ovilo [et. al.] // *Mammalian Genome*. – 2000. – Vol. 11. – N 4. – P. 344-346.

16. Ovilo, C. Quantitative trait locus mapping for meat quality traits in an Iberian X Landrace F2 pig population / C. Ovilo // *J. anim. sci.* – 2002. – Vol. 80(11). – P. 2801-2808.

17. Discrimination between linked and pleiotropic QTL on pig chromosome 6 by multitrait least squares analysis / C. Ovilo [et. al.] // *Proceedings of the 7th World Congress on Genetics Applied to Livestock Production*. – Montpellier, 2002. – Session 3. – P. 1-4.

18. Relationship between molecular marker of western main pig H-FABP gene and intramuscular fat content / W. J. Pang [et al.] // *Hereditas Beijing*. – 2005. – Vol. 27(3). – P. 351-356.

19. Genetic variation at 5'-upstream region and the second intron of H-FABP gene in four Chinese pig breeds / G. X. Zhang [et. al.] // *Proceedings of the 7th National Symposium on Animal Genetic Markers*. – Nanchang, 2000. – Vol. 7. – P. 87-91.

20. Genetic variation of H-FABP gene and association with intramuscular fat content in Laiwu Black and four western pig breeds / Y. Q. Zeng [et. al.] // *Asian Australasian journal of animal sciences*. – 2005. – Vol. 18, no. 1. – P. 13-16.