

VARIABILITY OF THE PORCINE *MYOD1* GENE

VARIABILITA GENU *MYOD1* U PRASAT

Verner J., Kuciel J.

Ústav genetiky, Agronomická fakulta, Mendelova zemědělská a lesnická univerzita v Brně,
Zemědělská 1, 613 00, Brno, Česká republika

E-mail: verjan2@post.cz

ABSTRACT

Porcine *MYOD1* gene belongs to the class of muscle specific regulatory factors, which control development of muscle cell line. In intron 1 of the *MYOD1* gene a *DdeI* polymorphic site occurs. In total, 101 pigs were involved to the test of this polymorphism. Large White (LW) and Landrace (L) breeds included 77 and 24 animals, respectively. To compare some meat characteristics between *MYOD1* genotypes, it was used the model including following effects: *MYOD1* gene, breed, sex, month of the slaughter and year of the slaughter. In LW breed, genotype *AA*, *AB* and *BB* frequencies were 0,16, 0,57 and 0,27, respectively; in L breed, frequencies were 0,38, 0,54 and 0,08, respectively. Allele frequencies were *A* 0,44, *B* 0,56 (LW) and *A* 0,65, *B* 0,35 (L). There were studying these characteristics of meat production: neck, loin and ham weights and carcass lean meat content. Significant associations between *MYOD1* gene *DdeI* polymorphism and performance traits were found out.

Keywords: *MYOD1*, pig, meat production

ABSTRAKT

Gen *MYOD1* patří ke skupině svalově specifických regulačních faktorů, které kontrolují vývoj buněčné linie svaloviny. V genu *MYOD1* se v oblasti intronu 1 nachází polymorfni štěpné místo. Celkem 101 prasat bylo testováno na *DdeI* polymorfismus. Plemena bílé ušlechtilé (BU) a landrase (L) zahrnovala 77, respektive 24 zvířat. K porovnání znaků masa mezi genotypy *MYOD1* byl použit model zahrnující pevné efekty: *MYOD1*, plemeno, pohlaví, měsíc a rok porážky. Frekvence genotypů u plemene bílé ušlechtilé byly: *AA* 0,16, *AB* 0,57 a *BB* 0,27; u plemene landrase *AA* 0,38, *AB* 0,54 a *BB* 0,08. Frekvence alel byly *A* 0,44, *B* 0,56 (BU) a *A* 0,65, *B* 0,35 (L). Sledovány byly tyto znaky masné produkce: hmotnost krkovice, kotlety, kýty a podíl hlavních masitých částí. Mezi *DdeI* polymorfismem genu *MYOD1* a znaky masné užitkovosti byly zjištěny významné asociace.

Klíčová slova: *MYOD1*, prase, produkce masa

ÚVOD

Produkce masa u hospodářských zvířat souvisí s počtem a velikostí svalových vláken, která se tvoří pouze během embryonálního vývoje, a dalším růstem. Současný výzkum naznačuje, že zvířata s větším počtem svalových vláken přiměřené velikosti produkují více masa lepší kvality. Během myogeneze důležitost znásobení počtu svalových buněk do značné míry určuje, kolik svalových vláken bude zformováno. Proto je počet svalových vláken, myofibril, determinován hlavně genetickými faktory a těmi faktory prostředí, které jsou schopny ovlivnit prenatální myogenezi (Rehfeldt *et al.*, 2000). Toto je kontrolováno geny tzv. MYOD rodiny svalově specifických regulačních faktorů, kam patří *MYF-3 (MYOD1)*, *MYF-4* (myogenin), *MYF-5* a *MYF-6*. Tyto geny mohou být uvažovány jako kandidátní geny pro masnou produkci v důsledku jejich klíčového významu v diferenciaci myofibril. *MYOD1* indukuje diferenciaci fibroblastů na myoblasty (Knoll, 2002). V oblasti intronu 1 zjistili Knoll *et al.* (1997) polymorfismus pomocí restrikčního enzymu *DdeI*. Gen *MYOD1* může mít vliv na některé znaky produkce masa, zejména svou strukturní odlišností a funkční rozdílností, nebo může sloužit jako marker asociovaný s funkčním polymorfismem v jiné oblasti genu (Te Pas a Visscher, 1994 - cit. Cieślak *et al.*, 2000). Nicméně se předpokládalo, že *DdeI* polymorfni štěpné místo v intronu 1 není přímo asociováno s vývojem svaloviny u prasat (Cieślak *et al.*, 2000).

Cílem práce bylo ověřit štěpení enzymem *DdeI* v oblasti intronu 1, zjistit frekvence genotypů *MYOD1* u plemen bílé ušlechtilé a landrase a vyhodnotit možné asociace mezi těmito genotypy a produkcí masa obou plemen.

METODIKA

Prasečí genomová DNA byla izolována z krve ošetřené EDTA a uchována při -20°C. Pomocí technologie PCR-RFLP byla DNA amplifikována a naštěpena. Cyklování bylo následující: úvodní denaturace 95°C/2min., denaturace 95°C/1min., annealing 62°C/1min., elongace 72°C/90s a závěrečná elongace 72°C/7min. K syntéze nových řetězců byly použity primery navržené Knollem *et al.* (1997). PCR produkty očekávané délky (998 bp) byly ověřeny na 1,4 % agarózovém gelu. Štěpení 5 µl každého produktu bylo provedeno použitím restrikční endonukleázy *DdeI* a ověřeno na 3 % agarózovém gelu. Statistická analýza byla provedena pomocí GLM modelu SAS/STAT, verze 8.02.

VÝSLEDKY A DISKUZE

Amplifikovaný úsek o délce 998 bp měl celkem tři restrikční místa a byl štěpen na čtyři fragmenty (477, 317, 114 a 90 bp). Alela *A* byla naštěpena do čtyř fragmentů o délkách 477, 317, 114 a 90 bp, zatímco alela *B* obsahovala polymorfní štěpné místo, a úsek 477 bp tak byl naštěpen do fragmentů o délkách 385 a 92 bp (Obr. č.1). Frekvence genotypů byly: *AA* 0,16, *AB* 0,57 a *BB* 0,27 u BU; *AA* 0,38, *AB* 0,54 a *BB* 0,08 u L (Tab. č.1). Frekvence alel u bílého ušlechtilého byly *A* 0,44 a *B* 0,56, u landrase *A* 0,65 a *B* 0,35 (Tab. č.2)..

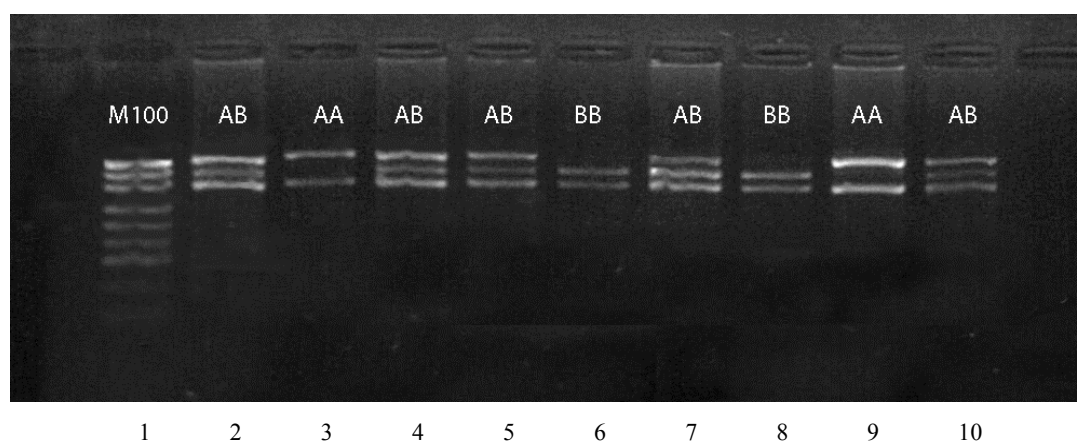
Knoll *et al.* (1997) zjistili u plemen BU a L frekvence alel *A* 0,41 a *B* 0,59, respektive *A* 0,64 a *B* 0,36. U plemene LW zjistili Cieślak *et al.* (2000) frekvence *A* 0,54 a *B* 0,46.

U plemene BU byl zjištěn průkazný rozdíl mezi genotypy *AB* a *BB* u hmotnosti krkovice a mezi genotypy *AA* a *BB* u kotlety, zatímco plemeno L vykazovalo průkazný rozdíl pouze u hmot. kýty, a to mezi *AA* a *AB* (Tab č.3). Mezi plemeny byl průkazný rozdíl pouze u hmot. krkovice, a to mezi *BB* (BU) a *AA* (L). Vysoce průkazný rozdíl byl zjištěn u hmot. kotlety mezi genotypy *AB* (L) a *AB* (BU) a *AB* (L) a *BB* (BU). Podíl hlavních masitých částí nevykazoval žádné statisticky významné rozdíly u obou plemen. U krkovice a kotlety byla zjištěna největší hmotnost u genotypu *AA*, zatímco u kýty a HMČ byla největší hmotnost a podíl u genotypu *AB*.

Cieślak *et al.* (2000) testovali celkem 229 zvířat různých plemen (Pietrain, Zlotnicka Spotted, Polská landrase, [Pi x ZS], Polský LW, [LW x Pi]). Pozorovali asociace u hmotnosti kýty, kotlety, půlky jatečného těla, plochy zádového svalu a podílu hlavních masitých částí a u všech těchto ukazatelů zjistili statisticky významné rozdíly. Největší hmot. masa u kýty byla u zvířat s genotypem *AB* (podle Cieślak *et al.* *AC*), u kotlety *AA* (*CC*) a u HMČ *AA* (*CC*).

Pro další analýzu by bylo vhodné otestovat rozsáhlejší soubor zvířat, zahrnující také hybridní populace, ke zjištění možného, statisticky významného rozdílu v podílu hlavních masitých částí a jednotlivých složek jatečného těla.

Obr. 1: Výsledek štěpení enzymem DdeI



1. pUC19 DNA / *MspI* marker o délkách 501/489, 404, 331, 242, 190, 147, 111/110 a 67 bp;
2 - 10 naštěpené PCR produkty

Tab. 1: Frekvence genotypů genu *MYOD1*

Genotyp	Bílé ušlechtilé	počet	Landrase	počet
<i>AA</i>	0,16	12	0,38	9
<i>AB</i>	0,57	44	0,54	13
<i>BB</i>	0,27	21	0,08	2

Tab. 2: Frekvence alel genu *MYOD1*

Plemeno	Počet zvířat	Alela <i>A</i>	Alela <i>B</i>
Bílé ušlechtilé	77	0,44	0,56
Landrase	24	0,65	0,35

Tab. 3: Asociační vztahy u vybraných ukazatelů masné produkce mezi jednotlivými genotypy a plemeny

	Bílé ušlechtilé			Landrase		
	<i>AA</i>	<i>AB</i>	<i>BB</i>	<i>AA</i>	<i>AB</i>	<i>BB</i>
krkovice (kg)	3,61 ± 0,09	3,72 ± 0,05 ^a	3,53 ± 0,06 ^{ab}	3,84 ± 0,10 ^{ab}	3,63 ± 0,08 ^a	3,94 ± 0,21
kotleta (kg)	4,78 ± 0,11 ^a	4,59 ± 0,06 ^A	4,49 ± 0,08 ^{aBb}	4,79 ± 0,13 ^b	4,92 ± 0,11 ^{AB}	4,77 ± 0,26
kýta (kg)	8,36 ± 0,17 ^b	8,30 ± 0,10 ^c	8,30 ± 0,12 ^d	7,89 ± 0,20 ^{abcd}	8,47 ± 0,16 ^a	8,64 ± 0,40 ^a
HMČ (%)	53,67 ± 1,18	53,32 ± 0,69	53,20 ± 0,88	53,23 ± 1,42	53,97 ± 1,14	55,17 ± 2,82

- hodnoty se stejným exponentem vykazují signifikantní rozdíly v řádcích

^{A, B} $P = \leq 0,01$; ^{a, b} $P = \leq 0,05$; ^{a, b, c, d} $P = \leq 0,1$

Tab. 4: Podíl vybraných ukazatelů masné produkce ve vztahu ke genotypům

	krkovice (kg)	kotleta (kg)	kýta (kg)	HMC (%)
<i>AA</i>	3,73	4,79	8,12	53,14
<i>AB</i>	3,73	4,72	8,31	53,24
<i>BB</i>	3,61	4,60	8,30	53,23

ZÁVĚR

Analýza souboru 101 prasat plemen bílé ušlechtilé a landrase odhalila statisticky významné rozdíly mezi polymorfismem genu *MYOD1* a ukazateli masné produkce. Genotyp *AA* vykazoval největší hodnoty, co se týče hmotnosti krkovice a kotlety, zatímco hmotnost kýty a podíl hlavních masitých částí byly největší v genotypu *AB*. Vysoce průkazné rozdíly byly zjištěny u hmotnosti kotlety mezi oběma plemeny. U hmotnosti kýty měly hodnoty tendenci přiblížit se průkaznému rozdílu, zatímco žádná statistická významnost nebyla zjištěna u podílu hlavních masitých částí.

Práce byla vypracována jako část výzkumného záměru MSM 432100001 Ministerstva školství, mládeže a tělovýchovy ČR a v rámci Grantové agentury ČR jako projekt č. 523/03/H076.

SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY

- Cieślak *et al.*, 2000: Restriction fragment length polymorphism in myogenin and *MYF-3* genes and their influence on lean meat content in pigs. *Journal of Animal Breeding and Genetics*, 117 (1): 43-55.
- Knoll *et al.*, 1997: Detection of a *DdeI* PCR_RFLP within intron 1 of the porcine *MYOD1* locus. *Animal Genetics*, 28: 321.
- Knoll, 2002: Importance of the *MYOD* family genes in pigs. In *Current Problems of Breeding, Health and Production of Pigs*. Proceedings of the 11th International Symposium, February 19-29, 26.
- Rehfeldt *et al.*, 2000: Myogenesis and postnatal skeletal muscle cell growth as influenced by selection. *Livestock Production Science*, 66 (2): 177-188.