



INSTYTUT ZOOTECHNIKI
Państwowy Instytut Badawczy



Magdalena Szyndler-Nędza
Katarzyna Ropka-Molik
Katarzyna Piórkowska
Maja Oczkowicz
Karolina Szulc
Ewa Skrzypczak

**ZESTAW WYBRANYCH MARKERÓW
GENETYCZNYCH CHARAKTERYZUJĄCYCH
AKTUALNĄ POPULACJĘ ŚWIŃ RASY
ZŁOTNICKIEJ BIAŁEJ**



b - 6/2017

Instytut - praktyce





INSTYTUT ZOOTECHNIKI
PAŃSTWOWY INSTYTUT BADAWCZY
NATIONAL RESEARCH INSTITUTE OF ANIMAL PRODUCTION

**Magdalena Szyndler-Nędza
Katarzyna Ropka-Molik
Katarzyna Piórkowska
Maja Oczkowicz
Karolina Szulc
Ewa Skrzypczak**

**Zestaw wybranych markerów
genetycznych charakteryzujących
aktualną populację świń
rasy złotnickiej białej**

Kraków 2017

Broszura upowszechnieniowa
Nr b-6/2017

DYREKTOR INSTYTUTU ZOOTECHNIKI PIB
prof. dr hab. inż. Maciej Pompa-Roborzyski

Opracowano:
w Dziale Genetyki i Hodowli Zwierząt IZ PIB
Kierownik: *prof. dr hab. Robert Eckert*

Recenzent:
prof. dr hab. Paweł Bielański

Fotografia na okładce
dr hab. Magdalena Szyndler-Nęcza

Opracowanie redakcyjne:
mgr Bogusława Krawiec

Opracowanie graficzne i skład komputerowy:
Maria Makarewicz

ISBN 978-83-7607-231-9

Drukowano w Zespole Wydawnictw i Poligrafii IZ PIB.

Zestaw wybranych markerów genetycznych charakteryzujących aktualną populację świń rasy złotnickiej białej

**Magdalena Szyndler-Nędza¹, Katarzyna Ropka-Molik²,
Katarzyna Piórkowska², Maja Oczkowicz², Karolina Szulc³,
Ewa Skrzypczak³**

¹ *Instytut Zootechniki PIB, Dział Genetyki i Hodowli Zwierząt,
ul. Krakowska 1, 32-083 Balice*

² *Instytut Zootechniki PIB, Dział Genomiki i Biologii Molekularnej Zwierząt,
ul. Krakowska 1, 32-083 Balice*

³ *Uniwersytet Przyrodniczy w Poznaniu, Katedra Hodowli Zwierząt i Oceny
Surowców, ul. Słoneczna 1, 62-002 Suchy Las*

Wstęp

Świnie rasy złotnickiej białej na tle sytuacji polskiej hodowli ras czystych (wielkiej białej polskiej, polskiej białej zwisłouchej) stanowią unikatowy genotyp w populacji świń występujących w Polsce. W rasie tej, mimo uzyskanego postępu hodowlanego w cechach produkcyjnych (zwiększenie mięsności i zmniejszenie otłuszczenia), zostały zachowane pierwotne geny przodków tej rasy. Powoduje to, że zwierzęta te posiadają szereg cennych cech i stanowią bardzo wartościowy element bioróżnorodności w rolnictwie. Zwierzęta tej rasy cechują się przede wszystkim bardzo dobrą jakością mięsa. Odpowiednia zawartość tłuszczu śródmięśniowego i specyficzny układ włókien mięśniowych decydują o kruchości i smakowitości tego mięsa. Ponadto mięso to charakteryzuje się kwasowością na poziomie $\text{pH}_{45} = 6,438$ i $\text{pH}_{24} = 5,53$ (Grzeškowiak i in., 2009), co świadczy o braku wad w tym mięsie (nie jest ani wodniste, ani suche) i jego doskonałej przydatności do przetwórstwa. Kolejną istotną cechą tej rasy jest jej odporność na choroby (stwierdzona na podstawie obserwacji w terenie), żywotność oraz długowieczność, a także przystosowanie do zmieniających się warunków środowiskowych. Należy zaznaczyć, że lochy rasy złotnickiej białej charakteryzują się dobrym poziomem cech użytkowości rozplodowej,

w tym dużą troskliwością macierzyńską. Rasa ta ze względu na powyższe cenne z gospodarczego i hodowlanego punktu widzenia cechy oraz niewielką liczebność (709 loch w 2015 r. Szyndler-Nędzka i in., 2016) objęta jest programem ochrony zasobów genetycznych świń. Jednym z celów programu ochrony jest zachowanie istniejącej odrębności genetycznej rasy i jej zmienności wewnątrz rasowej. W związku z powyższym zalecane jest monitorowanie zmian w strukturze genetycznej populacji na podstawie wskaźników polimorfizmu alleli loci markerowych.

Celem przeprowadzonych badań było określenie aktualnej struktury genetycznej w populacji aktywnej świń rasy złotnickiej białej. Do badań wytypowano geny uznawane za potencjalne markery cech tucznych, rzeźnych będących jednocześnie markerami jakości mięsa, cech rozplodowych oraz odporności na stres i choroby, czyli cech w których rasy rodzime odróżniają się od ras popularnie hodowanych.

Przeprowadzone badania i uzyskane wyniki

Material i metody

Badaniami objęto 127 loch rasy złotnickiej białej utrzymywanych w 10 stadach. Stanowiło to 15,6% populacji uczestniczącej w 2015 r. w programie ochrony zasobów genetycznych świń tej rasy. Od loch pobrano materiał biologiczny (cebulki włosowe). Z cebulek wyizolowano DNA oraz przeprowadzono optymalizację metody PCR-RFLP umożliwiającą oznaczenie frekwencji alleli i genotypów genów kodujących produkty uczestniczące procesach:

- rozrodu:
OPN (osteopontyna; 8q2.5-q2.7) wg Knoll i in. (1999)
ESR (estrogene; 1p2.5-p2.4), wg Short i in. (1997)
PRL (prolactine), wg Babicz i in. (2008), rs789846153 DELETION
FST (follistatin; 16q14), wg Shimasaki i in. (1988)
LIF3 (leukemia inhibitory factor; 14 q2.1–q2.2), wg Spötter i in. (2005)
GH (growth hormone; 12p1.2-p1.5), wg de Faria i in. (2006)
LEP (leptine; 18p13-q21), wg Stratil i in. (1997)

- wzrostu i rozwoju:
MYF4 (myogenic factor 4; 9q2.1-q2.6), wg Soumillion i in. (1997)
MC4R (melanocortin-4 receptor, 1q22–q27), wg Burgos i in. (2006)
DGAT1 (diacylglycerol acyltransferase 1, rs45434075), wg Nonneman and Rohrer (2002)
H-FABP (heart fatty acid binding protein), wg Gerbens i in. (1997)
SKI (proto-oncogene), wg Stratil i in. (2002)
- oraz warunkujące odporność organizmu na stres i choroby:
COX2 (*cyclooxygenase-2*), wg Sironen i in. (2010)
CRP (*C-reactive protein gene*, Sscr 4q13), wg Chomdej i in. (2004)
FUT1 (alfa (1,2)-fukozylotransferaza, 6q11), wg Kreucer i in. (2013)

W analizowanej populacji określono proporcje genotypów (stosunek pomiędzy frekwencją alleli a częstością genotypów), zgodnie z prawem Hardy’ego-Weinberga.

Wyniki badań

Analiza frekwencji alleli zgodnie z prawem Hardy’ego-Weinberga u 127 loch rasy złotnickiej białej (tabela 1) wykazała, że wśród analizowanych genów brak równowagi genetycznej wystąpił we frekwencji alleli trzech genów związanych z rozrodem [*OPN* ($P \leq 0,05$), *LIF3* ($P \leq 0,01$) i *LEP* ($P \leq 0,01$)], dwóch genów uczestniczących w procesach wzrostu i rozwoju [*HAFABP* *HinfI* ($P \leq 0,01$), *HAFABP* *HpaII* ($P \leq 0,01$)] i jednego genu związanego z odpornością na choroby *COX2* ($P \leq 0,05$). Frekwencja alleli pozostałych genów była zgodna z oczekiwaną. Brak równowagi genetycznej w populacji we frekwencji wspomnianych genów oznacza, że na tą populację oddziaływały trudne do dokładnego określenia czynniki. Najprawdopodobniej jednym z czynników był dobór do kojarzeń, który w latach 80-tych, 90-tych ubiegłego wieku, był wymuszony gwałtownym spadkiem liczebności populacji. Szybkość z jaką stada ulegały likwidacji spowodowała, że pomimo wysiłków podejmowanych przez zespół pracowników ówczesnej Akademii Rolniczej w Poznaniu,

kierowanych kolejno przez prof. M. Ratajszczaka i prof. J. Buczyńskiego nie udało się zachować wszystkich linii knurów i rodów loch.

Analizując 17 zmian polimorficznych w wybranych genach, wykazano brak w aktualnej populacji rasy złotnickiej białej osobników homozygotycznych o genotypie $PRL^{Ins/Ins}$ i $HAFABP^{aa}$ *HpaII*. W przypadku czterech genów: *LEP*, *MYF4*, *COX2* i *FUT1* stwierdzono, że liczba loch o homozygotycznym genotypie LEP^{CC} , $MYF4^{BB}$, COX^{11} , $FUT1^{AA}$ występuje w populacji w znikomej ilości [od 3,16% (3 szt.) do 6,52% (6szt.)], w przeciwieństwie do liczby loch o genotypie LEP^{TT} , $MYF4^{AA}$, $COX2^{22}$ i $FUT1^{GG}$, których w analizowanej populacji było odpowiednio 82,4%, 65,87%, 83,16% i 47,83%.

Analizując frekwencję alleli poszczególnych genów w badanej grupie zwierząt stwierdzono, że allel PRL^{Del} i allel $COX2^2$ były najczęściej występującymi allelami w genotypie loch tej rasy, odpowiednio 97,47% i 90,4%. Wysoką frekwencję w granicach od 70% do 89,39% stwierdzono również dla alleli genów: ESR^A , GH^G , LEP^T , $MYF4^A$, $HAFABP^H$ *HinfI*, $HAFABP^A$ *HpaII* i $FUT1^G$.

Wnioski

1. Aktualna populacja świń rasy złotnickiej białej jest zgodnie z prawem Hardy'ego-Weinberga w równowadze genetycznej w przypadku polimorfizmów genów uczestniczących w procesach rozrodu: *FST*, *PRL*, *ESR*, *GH*, procesach wzrostu i rozwoju: *MYF4*, *MC4R*, *DGAT1*, *HAFABP* *Haell*, *SKI* oraz związanych z odpornością na choroby *CRP*, *FUT1*.
2. Brak równowagi genetycznej stwierdzono w przypadku polimorfizmu w genie *OPN* ($P \leq 0,05$) i *LIF3* ($P \leq 0,01$), *LEP* ($P \leq 0,01$), *HAFABP* *HinfI* ($P \leq 0,01$), *HAFABP* *HpaII* ($P \leq 0,01$) i *COX2* ($P \leq 0,05$).
3. Najliczniej występującymi allelami w analizowanej populacji były allel PRL^{Del} (97,47%) i allel $COX2^2$ (90,4%), a także allele genów: ESR^A , GH^G , LEP^T , $MYF4^A$, $HAFABP^H$ *HinfI*, $HAFABP^A$ *HpaII* i $FUT1^G$.
4. W świetle uzyskanych wyników stwierdza się, że w praktyce hodowlanej należy monitorować polimorfizm genów przede wszystkim

kim związanych z rozrodem (*LIF3*, *ESR*), wzrostem i rozwojem (*MYF4*) i zdrowotnością (*COX2*, *FUT1*).

Podsumowanie

Podsumowując uzyskane wyniki badań należy stwierdzić, że wykazany, w aktualnej populacji świń rasy złotnickiej białej, brak równowagi genetycznej w polimorfizmie sześciu genów, w tym trzech związanych z rozrodem i jednym związanym ze zdrowotnością, może wskazywać, że na populację tą oddziałują trudne do określenia czynniki, w tym między innymi dobór do kojarzeń. W efekcie długotrwałego oddziaływania tych czynników na populację, bez kontroli zmienności w obrębie genów związanych z rozrodem i zdrowotnością, nastąpić może zubożenie populacji o osobniki cechujące się bardzo dobrą użytkowością rozplodową i zdrowotnością. **W związku z powyższym w praktyce hodowlanej tej rasy należy zwrócić szczególną uwagę na zmiany w polimorfizmie genów związanych z rozrodem i zdrowotnością, poszukując przede wszystkim osobników o genotypie *MYF4^{BB}*, *LIF3^{BB}*, *ESR^{BB}*, *COX2^{II}*, *FUT^{AA}*.**

Tabela 1. Frekwencja poszczególnych genotypów w rasie złotnickiej białej
– panel porównawczy

Gen	Genotyp	Liczba loch	Frekwencja		H-W p-value
			genotyp	allel	
<i>OPN</i>	<i>AA</i>	35	27,78	A 47,75	0,0455
	<i>AB</i>	50	39,68		
	<i>BB</i>	41	32,54	B 52,55	
<i>FST</i>	<i>AA</i>	31	31,63	A 54,59	0,4649
	<i>AB</i>	45	45,92		
	<i>BB</i>	22	22,45	B 45,41	
<i>PRL</i>	<i>Ins/Ins</i>	0	0	Ins 2,53	0,7966
	<i>Ins/Del</i>	7	5,56		
	<i>Del/Del</i>	119	94,44	Del 97,47	
<i>ESR</i>	<i>AA</i>	62	50,82	A 71,94	0,7198
	<i>AB</i>	51	41,80		
	<i>BB</i>	9	7,38	B 28,06	
<i>LIF3</i>	<i>AA</i>	36	28,80	A 61,73	0,0001
	<i>AB</i>	82	65,60		
	<i>BB</i>	7	5,60	B 38,27	
<i>GH</i>	<i>AA</i>	9	7,2	A 21,72	0,1682
	<i>AG</i>	37	29,6		
	<i>GG</i>	79	63,2	G 78,28	
<i>LEP</i>	<i>CC</i>	5	4	C 10,61	0,0022
	<i>CT</i>	17	13,60		
	<i>TT</i>	103	82,40	T 89,39	
<i>MYF4</i>	<i>AA</i>	83	65,87	A 81,63	0,8366
	<i>AB</i>	39	30,95		
	<i>BB</i>	4	3,17	B 18,37	
<i>MC4R</i>	<i>AA</i>	22	17,32	A 39,8	0,5327
	<i>AG</i>	57	44,88		
	<i>GG</i>	48	37,80	G 60,2	
<i>DGAT1</i>	<i>AA</i>	50	40	A 64,65	0,5458
	<i>AG</i>	61	48,80		
	<i>GG</i>	14	11,20	G 35,35	
<i>HAFABP HinfI</i>	<i>hh</i>	8	6,84	h 15,31	0,0039
	<i>Hh</i>	22	18,80		
	<i>HH</i>	87	74,36	H 84,69	

<i>HAFABP Haell</i>	<i>dd</i>	54	45,38	d 66,67	0,6511
	<i>Dd</i>	50	42,02		
	<i>DD</i>	15	12,61	D 33,33	
<i>HAFABP Hpall</i>	<i>aa</i>	0	0	a 20,71	0,0094
	<i>Aa</i>	50	41,32		
	<i>AA</i>	71	58,68	A 79,29	
<i>SKI</i>	<i>CC</i>	33	25,98	C 52,04	0,5329
	<i>GC</i>	67	52,76		
	<i>GG</i>	27	21,26	G 47,96	
<i>COX2</i>	<i>11</i>	3	3,16	1 - 9,6	0,0155
	<i>12</i>	13	13,68		
	<i>22</i>	79	83,16	2 - 90,4	
<i>CRP</i>	<i>AA</i>	18	19,15	A 42,42	0,6268
	<i>AG</i>	44	46,81		
	<i>GG</i>	32	34,04	G 57,58	
<i>FUT1</i>	<i>AA</i>	6	6,52	A 29,08	0,2624
	<i>AG</i>	42	45,65		
	<i>GG</i>	44	47,83	G 70,92	

Piśmiennictwo

1. Babicz M., Pierzchała M., Urbański P., Rucińska-Rozenpolska I. (2008). An insertion/deletion polymorphism In the 3' UTR encoding region of the porcine prolactin (PRL) gene. *Animal Science Papers and Reports* 26(3), 183-189. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/nuccore/EU825774>
2. Burgos, C., Carrodeguas, J.A., Moreno, C., Altarriba, J., Tarrafeta, L., Barcelona, J.A., López-Buesa, P. (2006). Allelic incidence in several pig breeds of a missense variant of pig melanocortin-4 receptor (*MC4R*) gene associated with carcass and productive traits; its relation to IGF2 genotype. *Meat Science*, 73, 144-150.
3. Chomdej S., Ponsuksili S., Schellander K., Wimmers K. (2004). Detection of SNPs and linkage and radiation hybrid mapping of the porcine C-reactive protein (CRP) gene. *Anim. Genet.* 35, 469-470.
4. Danielle Assis de Faria, Simone Eliza Facioni Guimarães, Paulo Sávio Lopes, Aldrin Vieira Pires, Samuel Rezende Paiva, Bruna Pena Sollerol, Amauri Arias Wenceslau (2006). Association between G316A growth hormone polymorphism and economic traits in pigs, *Genetics and Molecular Biology*, 29, 4, 634-640.
5. Gerbens F., Rettenberger G., Lenstra J.A., Veerkamp J.H., Te Pas M.F.W. (1997). Characterization, chromosomal localisation and genetic variation of the porcine heart fatty acid binding protein gene. *Mammalian Genome* 8, 328-332.
6. Grześkowiak E., Barys A., Borzuta K., Buczyński J.T., Lisiak D. (2009). Slaughter value, meat quality and backfat fatty acid profile in Żłotnicka Spotted fatteners. *Anim. Sc. Pap. Rep.* 27, 2: 115-125.
7. Knoll A., Stratil A., Cepica S., Dvorač J. (1999). Length polymorphism in an intron of the porcine osteopontin (*SPP1*) gene is caused by the presence or absence of a SINE (PRE-1) element. *Anim Genet.* 1999 Dec; 30(6): 466.
8. Kreuzer S., Reissmann M., Brockmann G.A. (2013). New fast and cost-effective gene test to get the ETEC F18 receptor status in pigs. *Veterinary Microbiology* 163, 392-394.
9. Nonneman D., Rohrer G.A. (2002). Linkage mapping of porcine *DGAT1* to a region of chromosome 4 that contains QTL for growth and fatness. *Anim. Genet.*, 33(6), 472-473.
10. Shimasaki S., Koga M., Esch F., Mercado M., Cooksey K., Koba A., Ling N. (1988). Porcine follistatin gene structure supports two forms of mature follistatin produced by alternative splicing. *Biochem. Biophys. Res. Comm.*, 2: 717-723.
11. Short T.H., Rothschild M.F., Southwood O.I., McLaren D.G., de Vries A., van der Steen H., Eckardt G.R., Tuggle C.K., Helm J., Vaske D.A., Mile-

- ham A.J., Plastow G.S. (1997). Effect of the estrogen receptor locus on reproduction and production traits in four commercial pig lines. *J. Anim. Sci.*, 75(12): 3138-42.
12. Sironen A.I., Uimari P., Serenius T., Mote B., Rothschild M., Vilkki J. (2010). Effect of polymorphisms in candidate genes on reproduction traits in Finnish pig populations. *J. Anim. Sci.*, 88, 821-827.
 13. Soumilion A., Erkens J.H., Lenstra J.A., Rettenberger G. te Pas M.F. (1997). Genetic variation in the porcine myogenin gene locus. *Mamm Genome*. 1997 Aug; 8(8): 564-8.
 14. Spötter A., Drögemüller C., Hamann H., Distl O. (2005). Evidence of a new LIF associated genetic marker for litter size in a synthetic pig line. *Journal of Animal Science* 83, 2264-2270.
 15. Stratil A., Peelman L., Van Poucke M., Čepica S. (1997). A *Hinf*I PCR-RFLP at the porcine leptin (*LEP*) gene. *Animal Genetics* 28, 371-372.
 16. Stratil A., Reiner G., Peelman L.J., Davoli R., Van Poucke M., Zambonelli P., Geldermann H. (2002). An *Alw26* I PCR-RFLP in exon 1 of the porcine *SKI* oncogene and mapping the gene to the *RYR1* (*CRC*) linkage group on chromosome 6. *Animal Genetics* 33(5), 377-379.
 17. Szyndler-Nędza M., Luciński P., Skrzypczak E., Szulc K., Bajda Z. (2016). Ochrona zasobów genetycznych świń ras rodzimych – stan hodowli i wyniki oceny. *Wyd. IZ PIB, ISSN 2300-3294*, 11: 3-34.

SPIS TREŚCI

Wstęp	3
Przeprowadzone badania i uzyskane wyniki.	4
Materiał i metody.	4
Wyniki badań	5
Wnioski.	6
Podsumowanie	7
Piśmiennictwo	10