

Исследование ассоциаций полиморфизма гена *SCD* с содержанием внутримышечного жира у свиней пород дюрок и крупная белая

О. В. Костюнина[✉], Е. А. Требунских¹, М. С. Форнара¹, Т. В. Карпушкина¹

¹ Федеральный научный центр – ВИЖ имени академика Л. К. Эрнста, Дубровицы, Россия

[✉] E-mail: kostolan@yandex.ru

Аннотация. Научной новизной характеризуются изучение аллелофонда свиней отечественной репродукции, определение популяционно-генетических параметров по ДНК-маркерам, поиск ассоциаций генетических вариантов с экономически-значимыми признаками. **Целью** работы являлось изучение влияния полиморфизма *SCD* Y487830: g.2228 T > C на содержание внутримышечного жира и поиск ассоциаций генотипов с экономически значимыми признаками у свиней отечественной репродукции. **Методология и методы исследования.** Исследования проводили в 2019 году на свиньях, разводимых в ООО «Селекционно-гибридный центр» (Воронежская область). Генотипы по *SCD* определяли методом ПЦР-РВ на ДНК-амплификаторе Quant Studio 5 с использованием разработанной тест-системы. Посредством УЗИ-сканера EхаGo определяли содержание ВМЖ (%), толщину шпика (мм), постность (%), живую массу (кг) у 103 хряков и 27 свинок породы дюрок, 30 хряков породы крупная белая. Основной рацион и условия содержания животных были идентичны и соответствовали зоогигиеническим нормам. Для оценки эффекта генотипа по *SCD* на продуктивные качества использовали уравнение модели для многофакторного дисперсионного анализа с взаимодействием. Частота аллеля Т и генотипа ТТ в группе свиней породы дюрок составила 0,419 и 12,7 %, соответственно. **Результаты.** Свины крупной белой породы характеризовались частотой аллеля Т – 0,686, генотипа ТТ – 46,8 %. Все ландрасы являлись носителями генотипа ТТ. Показано превосходство носителей аллеля С по содержанию ВМЖ. Разница между хряками породы дюрок с генотипами ТТ и СС составила 0,42 % ($P \leq 0,05$), а особи с генотипом СС превосходили носителей генотипа ТТ по толщине шпика более чем на 3 мм ($P \leq 0,001$). Полученные результаты подтверждают наличие ассоциации генотипа по *SCD* с содержанием внутримышечного жира и толщиной шпика у хряков породы дюрок.

Ключевые слова: свиньи, качество мяса, полиморфизм, стеарил-КоА-десатураза, внутримышечный жир.

Для цитирования: Костюнина О. В., Требунских Е. А., Форнара М. С., Карпушкина Т. В. Исследование ассоциаций полиморфизма гена *SCD* с содержанием внутримышечного жира у свиней пород дюрок и крупная белая // Аграрный вестник Урала. 2019. № 11 (190). С. 35–43. DOI: ...

Дата поступления статьи: 18.10.2019.

Постановка проблемы (Introduction)

Мясо является главным продуктом свиноводческой отрасли. С увеличением объемов производимой свинины растут ожидания потребителей в отношении ее качества. Визуальные характеристики, такие как цвет, количество жира и мраморность, являются объективными показателями качества мяса, которые тесно связаны с ожиданиями и требованиями потребителей и их конечным выбором при покупке. Также конкурентоспособность отечественной свинины может быть обеспечена только при достижении качества продукции в соответствии с требованиями рынка и повышением рентабельности ее производства. Таким образом, при интенсификации отрасли свиноводства должен учитываться потребительский спрос и в соответствии с этим корректироваться селекционные стратегии.

Изучение генетической детерминации качественных показателей мяса свиней различных пород и их сочетаний в совокупности с возможностью использования в

перспективе полученных результатов позволит повысить эффективность производства высококачественной свинины за счет использования в качестве инструмента молекулярных подходов и оптимизации селекционно-племенной работы.

Содержание внутримышечного жира (ВМЖ, мраморность), расположенного в скелетных мышцах, является основной качественной характеристикой мяса, влияющей на органолептические свойства, такие как вкус и текстура [1, с. 157], сочность и аромат [2, с. 113]. Мясо с более высоким содержанием внутримышечного жира, как правило, имеет лучший вкус, сочность и нежность, что приводит к более высокой потребительской привлекательности. Следовательно, при разведении свиней с более высоким ВМЖ можно получить более вкусную свинину [3, с. 1–2]. Содержание внутримышечного жира и состав жирных кислот также влияют и на пищевую ценность свинины [4, с. 1]. Кроме того, надлежащие уровни ВМЖ предотвращают потерю влаги при тепловой обра-

ботке (гриле, жарении или варке) мяса. Селекция свиней на постность и мясность была очень эффективной в последние десятилетия, позволила значительно увеличить скорость роста свиней, снизив количество общего жира, вместе с которым уменьшилось содержание внутримышечного жира.

Помимо важности ВМЖ для органолептических качеств мяса, содержание жира и состав жирных кислот имеют особое значение для питания и здоровья людей [5, с. 385; 6, с. 2]. Жир животного происхождения связывают с наличием больших количеств насыщенных жирных кислот (НЖК), которые, в свою очередь, повышают уровень холестерина в сыворотке крови и липопротеинов низкой плотности, тем самым увеличивая риск возникновения сердечно-сосудистых заболеваний. Количество ВМЖ детерминировано генетическими и средовыми факторами. Коэффициент наследуемости данного признака составляет 0,39–0,65 и зависит от таких показателей, как толщина шпика, пол, возраст, рацион [7, с. 3–4]. На количество внутримышечного жира оказывают влияние порода и даже линейная принадлежность внутри породы [8, с. 2].

Чтобы вести селекцию по мраморности, необходимо регулярно оценивать этот признак. Однако его измерение дорого, трудоемко и возможно после убоя животного, что может быть сделано только на ограниченном числе животных в племенных популяциях. В мире предлагаются различные решения по прогнозу мясных качеств при жизни животного. На данный момент насчитывается пять основных неинвазивных технологий оценки мясных качеств: ультразвук, визуальный анализ изображений с помощью мониторинга, двухэнергетическая рентгеновская абсорбциометрия, магнитно-резонансная томография и компьютерная томография. Каждая из этих технологий характеризуется рядом плюсов и минусов, но следует отметить одну из них – ультразвук. Эта технология не требует приобретения дорогостоящего оборудования и характеризуется легкостью в использовании [9, с. 319]. Оценка содержания ВМЖ у живой свиньи с использованием ультразвука в реальном времени является осуществимой, достигаются умеренные корреляции между количеством ВМЖ, определенным химическим способом, и прогнозируемым ВМЖ, определенным с помощью ультразвука. Исследования группы ученых из Айовы, основанные на использовании ультразвукового сканирования и анализе изображений, показали, что данная технология пригодна для прогноза содержания внутримышечного жира в длиннейшей мышце спины живых свиней и используется в программе улучшения качества канадских свиней. Показано наличие корреляции между ультразвуковой оценкой мраморности и химической – 0,69; между ультразвуковой и визуальной оценкой – 0,55. По данным Jung J.-H. и коллег (2015) [9, с. 321], оценки генетических и фенотипических корреляций между ультразвуковой оценкой мраморности и химической составляли 0,75 и 0,76. Исследование геномных ассоциаций (GWAS) с содержанием внутримышечного жира у свиней различных породных сочетаний показал, что средний уровень ВМЖ у североамериканских пород свиней составляет около 1,5 %, идеальным считается содержание ВМЖ > 3 %.

В данном аспекте исследование генов, участвующих в метаболизме липидов, представляет научный и практический интерес. Chen и коллеги [10, с. 6767] показали, что полиморфизм в генах *H-FABP* и *ACSL4* ассоциирован с ВМЖ у свиней различных пород. В наших исследованиях также подтверждено влияние генотипа по *H-FABP* и по *PRKAG 3* на содержание внутримышечного жира [11, с. 11; 12, с. 69].

Стеароил-КоА-десатураза (SCD) – энзим эндоплазматического ретикулума, который катализирует биосинтез мононенасыщенных жирных кислот из насыщенных жирных кислот, которые либо синтезируются *de novo*, либо получены из рациона. SCD в сочетании с НАДН2-цитохром b5 редуктазой и электроноакцепторным цитохромом b5, а также молекулярным кислородом вводит одинарную двойную связь в спектре прерванных метиленом жирных ацил-КоА субстратов. Играет важную роль в биосинтезе липидов, в регулировании экспрессии генов, участвующих в липогенезе, и в регулировании окисления митохондриальных жирных кислот. Участвует в энергетическом гомеостазе организма. Способствует биосинтезу мембранных фосфолипидов, сложных эфиров холестерина и триглицеридов. Предполагается, что липогенный фермент стеароил-КоА-десатураза (SCD) играет ключевую роль в образовании ВМЖ у свиней. Ген стеароил-КоА-десатуразы (*SCD*) локализован на SSC 14 в области, где ранее были обнаружены локусы количественных признаков (QTL) состава жирных кислот и температуры плавления жира у свиней. Фермент стеароил-КоА-десатураза играет роль в биосинтезе ненасыщенных жирных кислот [13, с. 6]. Показана линейная зависимость между экспрессией белка SCD и общим содержанием жирных кислот в мышцах. Ген стеароил-КоА-десатуразы (*SCD*) играет решающую роль в превращении насыщенных ЖК в мононенасыщенные ЖК и, следовательно, входит в число генов-кандидатов, ответственных за содержание жира у свиней [14, с. 156]. Гаплотипы гена *SCD* оказывали сильное влияние на температуру плавления жирных кислот в популяции дюрков [15, с. 41]. На сегодняшний день известно порядка 18 мутаций в гене *SCD*, среди которых значимый эффект показан для аллеля T в позиции 2228, способствующего десатурации жира в мышцах и подкожной жировой клетчатке у свиней породы дюрков [3, с. 9]. Fernandes и соавторы [16, с. 102] обнаружили потенциальные эффекты генотипов по *SCD* на отложение внутримышечного жира, но не выявили их влияния на толщину шпика. А в работе Li и коллег [17, с. 6] уровень экспрессии SCD показал значительное различие между группами с высоким и низким содержанием внутримышечного жира, что позволяет предположить, что это важный кандидатный ген, влияющий на отложение ВМЖ.

Изучение аллелофонда свиней отечественной репродукции, определение популяционно-генетических параметров по ДНК-маркерам, поиск ассоциаций генетических вариантов с экономически-значимыми признаками характеризуется научной новизной и практической значимостью. Поскольку различными учеными показана роль фермента SCD в формировании признаков, связан-

ных с содержанием и составом ВМЖ, то исследование полиморфизма гена *SCD* у свиней различных пород, разводимых на территории Российской Федерации, представляет интерес в аспекте его использования в качестве потенциального ДНК-маркера качественных признаков мяса.

Методология и методы исследований (Methods)

Цель исследований – изучение влияния полиморфизма $g.2228\ T > C$ в гене *SCD* (Accession No. Y 487830) на содержание внутримышечного жира и поиск ассоциаций генотипов с экономически значимыми признаками у свиней пород дюрок и крупная белая отечественной репродукции.

При выполнении исследований использовалось оборудование ЦКП «Биоресурсы и биоинженерия сельскохозяйственных животных» ФГБНУ ФНЦ ВИЖ им. академика Л. К. Эрнста.

Исследования проводили в 2019 году на свиньях пород крупная белая (КБ, $n = 220$), ландрас (Л, $n = 161$) и дюрок (Д, $n = 142$), разводимых в ООО «Селекционно-гибридный центр» (Воронежская область). От опытных животных отбирали пробы ткани (ушной выщип), которые непосредственно после отбора помещали в 1,5 мл пробирки с 96-процентным этиловым спиртом и помещали на хранение при -20°C в коллекцию ткани и ДНК УНУ «Банк генетического материала животных и птиц» ФГБНУ ФНЦ ВИЖ им. Л. К. Эрнста. Свиньи содержались в групповых станках с щелевыми полами группами по 15 голов. Животные имели неограниченный доступ к кормам и воде. Основной рацион и условия содержания животных были идентичны и соответствовали зоогигиеническим нормам.

Геномную ДНК выделяли с использованием набора реагентов ДНК Экстран-2 (ООО «НПФ Синтол», Россия) согласно рекомендациям производителя. Качество и концентрацию ДНК определяли с помощью флуориметра Qubit 2.0 (Invitrogen / Life Technologies, США) и спектрофотометра Nano Drop 8000 (Thermo Fisher Scientific, США). Генотипы по *SCD* ($T \rightarrow C$ в позиции 2228, генный банк NCBIY487830) определяли методом ПЦР с детекцией результатов в режиме реального времени (ПЦР-РВ) на ДНК-амплификаторе Quant Studio 5 (Thermo Fisher Scientific, США). Тест-система предусматривает амплификацию в режиме реального времени фрагмента длиной 114 п. о., содержащего область мутации, с использованием двух специфических праймеров *SCD-RT-F* ($5'-AAGGCTAGAGCTGGCAGTGGGC-3'$) и *SCD-RT-R* ($5'-CACGGTGAGCCAACCTCTGCGCA-3'$) и двух аллель-специфичных зондов, окрашенных красителями *SCD-FAM* ($FAM-ACCGTATCCTGTATTTCCCT-BHQ-1$) и *SCD-R6G* ($R6G-ACCGTGTCCCTGTATTTCCCT-BHQ-1$). Подбор праймеров осуществлялся при поддержке интернет-ресурса Primer 3 (<http://bioinfo.ut.ee/primer3-0.4.0/>). Синтез олигонуклеотидов выполнялся в ООО «Евроген» (Россия).

Частоты встречаемости генотипов рассчитывали по формуле (1):

$$p_i = n_i / N \quad (1)$$

где p_i – число животных с i -м генотипом, N – объем выборки.

Частоты встречаемости аллелей рассчитывали по следующей формуле (2):

$$p_i = (2 \times N_{ii} + N_{iy}) / (2 \times N), \quad (2)$$

где p_i – частота встречаемости i -го аллеля,

N_{ii} – число животных, гомозиготных по i -му аллелю,

N_{iy} – число животных, гетерозиготных по i -му аллелю (y – любой другой аллель), N – объем выборки.

При достижении среднего возраста животных $154 \pm 0,7$ дн. проводили оценку следующих признаков: оценивали живую массу (кг), осуществляли прижизненное определение содержания внутримышечного жира (%), толщины шпика (мм) и постности (%) с использованием УЗИ-сканера EхаGo (IMV Imaging, Франция) у 103 хряков породы дюрок, 27 свинок породы дюрок и 30 хряков породы крупная белая.

При оценке эффекта генотипа по *SCD* на репродуктивные качества использовали уравнение модели для многофакторного дисперсионного анализа с взаимодействием:

$$y = \mu + B \times S + G + B \times S \times G + \epsilon,$$

где y – учитываемые показатели;

μ – общее среднее по выборке из n животных;

$B \times S$ – эффект взаимодействия факторов породы и пола;

G – эффект генотипа по *SCD*;

$B \times S \times G$ – эффект взаимодействия эффектов породы, пола и генотипа по *SCD*;

ϵ – остаточный эффект, не включенный в данную модель.

Для оценки статистической значимости влияния учтенных факторов применяли критерий Фишера (F -критерий, отношение дисперсии учтенного фактора к остаточной дисперсии) для соответствующего числа степеней свободы (df). Достоверности различий средних значений признаков по сравниваемым группам генотипов определяли с помощью t -критерия Стьюдента для соответствующего числа степеней свободы и уровней доверительной вероятности $***p \leq 0,001$; $**p \leq 0,01$; $*p \leq 0,05$. Расчеты для дисперсионного анализа и по методу наименьших квадратов (LSM, least square means) проводили в программе STATISTICA 10 (StatSoft, Inc., США).

Результаты (Results)

Идентификацию аллелей по гену *SCD* проводили в режиме реального времени при помощи тест-системы, принцип действия которой основан на использовании двух специфических праймеров *SCD-RT-F* и *SCD-RT-R* и двух аллель-специфичных зондов, помеченных флуоресцентными метками. Зонд, предназначенный для идентификации аллеля T , ассоциированного с повышенным содержанием ВМЖ у свиней, помечен красителем FAM , а зонд для идентификации аллеля C помечен красителем $R6G$.

На рисунке показаны результаты генотипирования *SCD*.

На рисунке показано, что у гетерозиготных особей детектируется сигнал и по красителю FAM и по красителю $R6G$ (рис. Б). У гомозиготных TT вариантов фиксируется сигнал по красителю FAM (рис. А), гомозиготных особей с CC вариантом детектируется сигнал по красителю $R6G$ (рис. В). Результаты генотипирования с использованием

тест-системы диагностики полиморфизма гена *SCD* демонстрируют ее пригодность для рутинного применения.

Проводили исследование частоты аллелей и генотипов в исследуемых группах свиней по гену *SCD*. В таблице 1 представлены результаты распределения частот в группах свиней пород крупная белая, ландрас и дюрок.

Анализ распределения частот аллелей и генотипов продемонстрировал, что свиньи пород крупная белая и дюрок характеризовались наличием полиморфизма в позиции g.2228 T > C гена *SCD*. Частота аллеля T, связанного с десатурацией жира в мышцах и подкожной жировой клетчатке у дюрока, составила в исследуемой нами популяции 0,419. Генотип ТТ встречался в этой группе с частотой 12,7 %. Свиньи крупной белой породы характеризовались частотой аллеля Т на уровне 0,686, генотипа ТТ – 46,8 %. У свиней породы ландрас полиморфизма в данной позиции выявлено не было, все исследованные животные являлись носителями генотипа ТТ.

Результаты оценки по признакам содержания внутримышечного жира, а также показателям толщины шпика и постности представлены в таблице 2.

Анализ взвешенных значений оценок генотипов по *SCD*, полученных методом наименьших квадратов (LSM) выявил статистически значимое превосходство носителей аллеля С по содержанию внутримышечного жира. Разница между хряками породы дюрок с генотипами ТТ и СС составила 0,42 % и была значима при $P \leq 0,05$. В группе животных крупной белой породы наблюдалась подобная зависимость, но различия не были статистически значимы. Наиболее выражена разница по толщине шпика у хряков породы дюрок, носители генотипа СС превосходили особей с генотипом ТТ более чем на 3 мм (при $P \leq 0,001$). Таким же образом распределились генотипы у свиней породы крупная белая $CC > TC > TT$. В группе свинок породы дюрок статистически значимых различий по показателям продуктивности с учетом генетических вариантов не обнаружено.

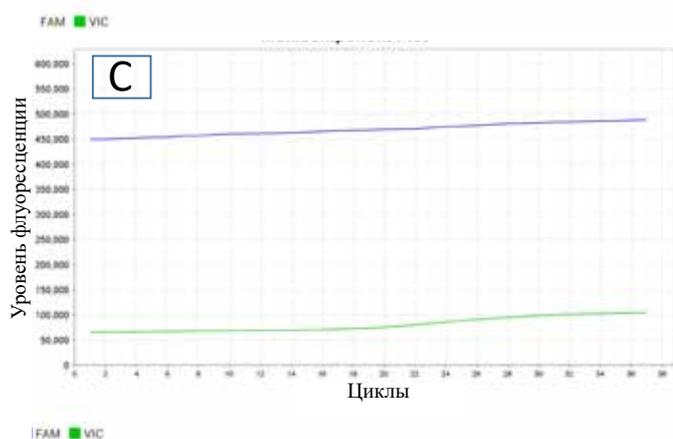
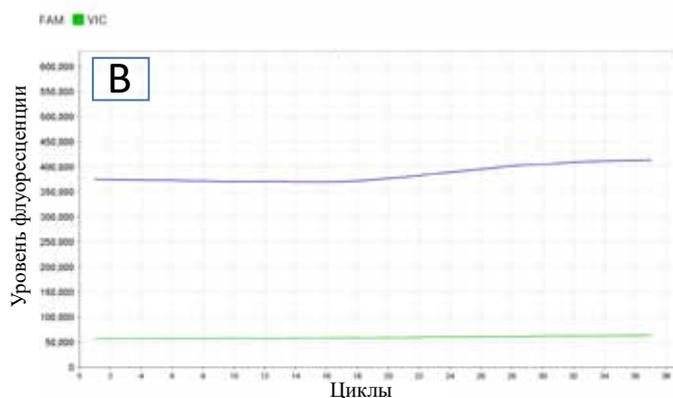
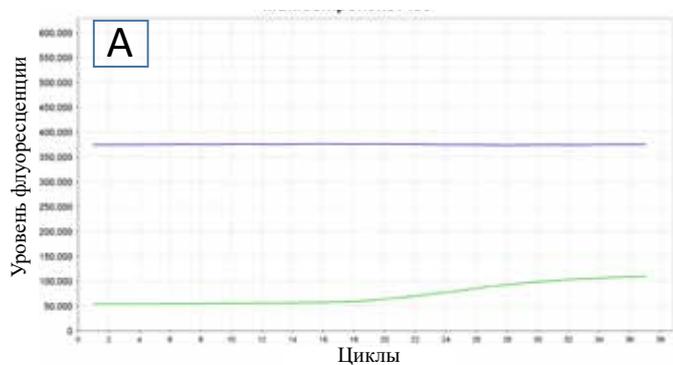


Рис. Результаты генотипирования свиней по *SCD* методом ПЦР-РВ. А – генотип ТТ, В – генотип ТС, С – генотип СС

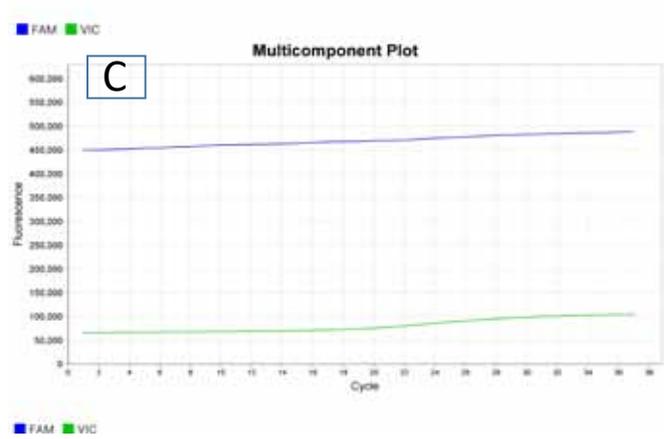
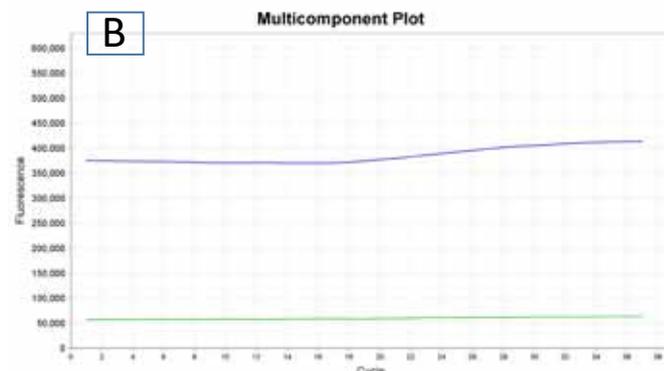
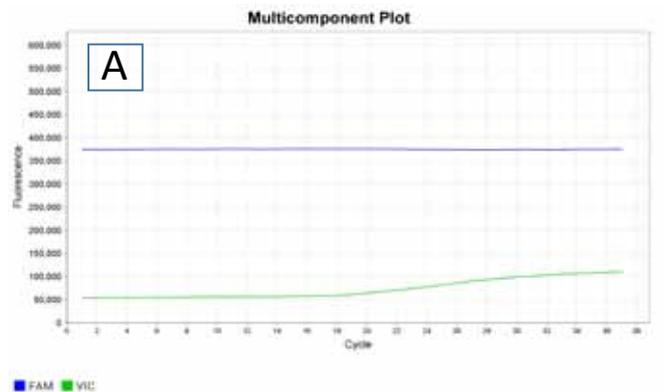


Fig. RT-PCR genotyping results for *SCD*. A – genotype TT, B – genotype TC, C – genotype CC

Таблица 1
Распределение частот генотипов и аллелей по SCD

Порода	Частоты генотипов			Частоты аллелей	
	ТТ	ТС	СС	Т	С
Крупная белая	46,8	43,6	9,6	0,686	0,314
Ландрас	100	0	0	1,0	0
Дюрок	12,7	58,5	28,8	0,419	0,581

Table 1
Genotype and allele frequencies of SCD gene

Breed	Genotype frequencies			Allele frequencies	
	TT	TC	CC	T	C
Large white	46.8	43.6	9.6	0.686	0.314
Landrace	100	0	0	1.0	0
Duroc	12.7	58.5	28.8	0.419	0.581

Таблица 2
Взвешенные значения оценок генотипов по SCD, полученные методом наименьших квадратов (LSM), по изучаемым признакам свиней пород крупная белая и ландрас

Группа	N количе- ство	SCD генотип	ВМЖ, %	Толщина шпика, мм	Постность, %	Живая масса, кг
			$M \pm m$	$M \pm m$	$M \pm m$	$M \pm m$
Д_m	13	ТТ	2,20 ± 0,16 ^{a,б}	12,35 ± 0,75 ^{a,б}	61,30 ± 1,49	102,47 ± 2,24
	64	СТ	2,59 ± 0,07 ^a	14,37 ± 0,34 ^{a,б}	61,42 ± 0,67	104,54 ± 1,01
	26	СС	2,62 ± 0,11 ^б	15,77 ± 0,53 ^{б,в}	62,49 ± 1,05	102,62 ± 1,59
F-критерий			2,65 ^{0,1}	8,32***	0,38	0,74
Д_f	2	ТТ	2,55 ± 0,41	18,85 ± 1,91	68,95 ± 3,79	104,30 ± 5,72
	12	СТ	2,93 ± 0,17	14,98 ± 0,78	69,23 ± 1,55	107,46 ± 2,34
	13	СС	2,91 ± 0,16	14,61 ± 0,75	65,78 ± 1,49	102,11 ± 2,24
F-критерий			0,55	1,45	1,35	1,06
КБ	8	ТТ	1,99 ± 0,20	13,18 ± 0,96	58,68 ± 1,89	105,98 ± 2,86
	17	СТ	2,14 ± 0,14	14,43 ± 0,66	59,58 ± 1,30	106,66 ± 1,96
	5	СС	2,54 ± 0,26	15,78 ± 1,21	57,86 ± 2,40	115,24 ± 3,62
F-критерий			1,31	1,28	0,30	3,11 ^{0,1}

*** Величина критерия Фишера статистически значима при $p \leq 0,001$; ^{0,1} – тенденция.

^{a,б} Различия между отмеченными генотипами статистически значимы при $p \leq 0,05$; ^в при $P \leq 0,001$.

Table 2
Least-Squares Means (LSM) SCD genotype scores of the studied traits of Large White and Landrace pig breeds

Group	N Sampling rate	SCD genotype	Intramuscular fat content, %	Thickness of bacon, millimeters	Lean, %	Live weight, kg
			$M \pm m$	$M \pm m$	$M \pm m$	$M \pm m$
D_m	13	TT	2.20 ± 0.16 ^{a,б}	12.35 ± 0.75 ^{a,б}	61.30 ± 1.49	102.47 ± 2.24
	64	CT	2.59 ± 0.07 ^a	14.37 ± 0.34 ^{a,б}	61.42 ± 0.67	104.54 ± 1.01
	26	CC	2.62 ± 0.11 ^б	15.77 ± 0.53 ^{б,в}	62.49 ± 1.05	102.62 ± 1.59
F-test			2.65 ^{0,1}	8.32***	0.38	0.74
D_f	2	TT	2.55 ± 0.41	18.85 ± 1.91	68.95 ± 3.79	104.30 ± 5.72
	12	CT	2.93 ± 0.17	14.98 ± 0.78	69.23 ± 1.55	107.46 ± 2.34
	13	CC	2.91 ± 0.16	14.61 ± 0.75	65.78 ± 1.49	102.11 ± 2.24
F-test			0.55	1.45	1.35	1.06
LW	8	TT	1.99 ± 0.20	13.18 ± 0.96	58.68 ± 1.89	105.98 ± 2.86
	17	CT	2.14 ± 0.14	14.43 ± 0.66	59.58 ± 1.30	106.66 ± 1.96
	5	CC	2.54 ± 0.26	15.78 ± 1.21	57.86 ± 2.40	115.24 ± 3.62
F-test			1.31	1.28	0.30	3.11 ^{0,1}

*** The value of the Fisher test is statistically significant at $p \leq 0.001$; ^{0,1} - a trend.

^{a,б} Differences between the marked genotypes are statistically significant at $p \leq 0.05$; ^в at $p \leq 0.001$.

Обсуждение и выводы (Discussion and Conclusion)

Анализ частоты распределения аллелей и генотипов по гену *SCD* показал в нашем случае отсутствие носителей генотипа ТТ и аллеля Т среди свиней породы ландрас, что согласуется с результатами Estany J. и коллег [3, с. 4]. Частота аллеля Т в популяции свиней породы дюрок составила 0,462, что было сопоставимо с выявленной нами частотой 0,419. По свиньям крупной белой породы отмечены различия в частоте аллеля Т между исследуемой нами группой – 0,686 против 0,951. С высоким потенциалом десатурации и благоприятным профилем жирных кислот и параметрами качества мяса связан аллель Т по *SCD*, который встречается с высокой частотой в большинстве популяций [18, с. 13].

Имеются сведения, что повышенный уровень экспрессии *SCD* идентифицирован у животных с меньшей мраморностью [17, с. 12]. А также не показано однозначного влияния полиморфизма в позиции g.2228 Т > С гена *SCD* на содержание внутримышечного жира. Поиск ассоциаций генетических вариантов по гену *SCD* с признаками продуктивности в наших исследованиях показал статистически значимое превосходство носителей СС генотипа по толщине шпика в группе хряков породы дюрок. Полиморфизм g.2228 Т > С гена *SCD*, расположенный в промоторе, не оказывал существенного влияния на толщину шпика в популяции дюрок, что указывает на возможное отсутствие влияния данной мутации на экспрессию *SCD*. Желательным в аспекте влияния на состав жирных кислот считают аллель Т. В нашем исследовании было обнаружено превосходство хрячков породы дюрок с генотипом СС по содержанию ВМЖ. По результатам Henriquez-Rodriguez и коллег [15, с. 41], особи с СС генотипом по данному показателю также несколько превосходили носителей других генетических вариантов.

Henriquez-Rodriguez и коллеги [19, с. 2555] исследовали комбинированное влияние потребления каротиноидов провитамина А (PVA) и генотипа *SCD* (AY487830: g.2228 Т > С) на содержание ретиноидов в печени, мышцах и показали статистически значимое влияние генотипа по *SCD* на признаки продуктивности у свиней породы дюрок. Ряд полногеномных ассоциативных исследований [16, с. 17; 20, с. 5; 21, с. 1130; 22, с. 170] позволил идентифицировать значимые для признаков состава и содержания внутримышечного жира у свиней различных пород QTL, геном-кандидатом для которых является *SCD*, что в очередной раз подтверждает роль данного гена в формировании признаков, характеризующих качество мяса. Вместе с тем, несмотря на существенную роль *SCD* в метаболизме липидов, и влиянии на десатурацию аллеля Т, нами была обнаружена зависимость между признаками содержания внутримышечного жира и толщины шпика у хряков породы дюрок и генотипом СС. Тем не менее, по некоторым данным [17, с. 14], фиксировался породоспецифичный характер уровня экспрессии *SCD*.

Таким образом, наши результаты подтверждают наличие ассоциации генотипа по *SCD* с содержанием внутримышечного жира и толщины шпика у хряков породы дюрок. Полученные в группах свинок породы дюрок и хряков породы крупная белая различия между генетическими вариантами по *SCD* и мясными качествами следует уточнить на большом числе особей. В целом для хряков породы дюрок ген *SCD* может рассматриваться в качестве ДНК-маркера содержания внутримышечного жира.

Благодарности (Acknowledgements)

Работа была проведена в рамках выполнения задания министерства науки и высшего образования Российской Федерации ГЗ № АААА-А18-118021590138-1.

Библиографический список

1. Won S., Jung J., Park E., Kim H. Identification of genes related to intramuscular fat content of pigs using genome-wide association study // Asian-Australas J Anim. Sci. 2018. V. 31 (2). Pp. 157–162. DOI: 10.5713/ajas.17.0218.
2. Lambe N. R., McLean K. A., Gordon J., Evans D., Clelland N., Bungler L. Prediction of intramuscular fat content using CT scanning of packaged lamb cuts and relationships with meat eating quality // Meat Science. 2017. V. 123. Pp. 112–119. DOI: 10.1016/j.meatsci.2016.09.008.
3. Estany J., Ros-Freixedes R., Tor M., Pena R. N. A Functional Variant in the Stearoyl-CoA Desaturase Gene Promoter Enhances Fatty Acid Desaturation in Pork // PLoS ONE. 2014. V. 9 (1): e86177. Pp. 1–11. DOI: 10.1371/journal.pone.0086177.
4. Ros-Freixedes R., Gol S., Pena R. N., Tor M., Ibáñez-Escriche N., Dekkers J. C. M. [et al.] Genome-Wide Association Study Singles Out SCD and LEPR as the Two Main Loci Influencing Intramuscular Fat Content and Fatty Acid Composition in Duroc Pigs // PLoS ONE. 2016. V. 11 (3): e0152496. Pp. 1–18. DOI: 10.1371/journal.pone.0152496.
5. Scollan N. D., Dannenberger D., Nuernberg K., Richardson I., MacKintosh S., Hocquette J. F., Moloney A. P. Enhancing the nutritional and health value of beef lipids and their relationship with meat quality // Meat Science. 2014. V. 97 (3). Pp. 384–394. DOI: 10.1016/j.meatsci.2014.02.015.
6. Pighin D., Pazos A., Chamorro V., Paschetta F., Cunzolo S., Godoy F., Grigioni G. A contribution of beef to human health: A review of the role of the animal production systems // The Scientific World Journal. 2016. V. 2016. Pp. 1–10. DOI: 10.1155/2016/8681491.
7. Apple J. K. Nutritional effects on pork quality in swine production [e-resource] // U. S. National Swine Nutrition Guide. 2015. Pp. 1–13. URL: <http://porkgateway.org/wp-content/uploads/2015/08/nutritiona-effects-on-pork-quality.pdf> (appeal date:).
8. Pena R. N., Ros-Freixedes R., Tor M., Estany J. Genetic marker discovery in complex traits: a field example on fat content and composition in pigs // Int. J. Mol. Sci. 2016. V. 17. I. 2100. Pp. 1–17. DOI: 10.3390/ijms17122100.
9. Jung J.-H., Shim K.-S., Na C.-S., Choe H.-S. Studies on intramuscular fat percentage in live swine using real-time ultrasound to determine pork quality // Asian-Australas J. Anim. Sci. 2015. V. 28 (3). Pp. 318–322. DOI: 10.5713/ajas.14.0927.

10. Chen J. N., Jiang Y. Z., Cen W. M., Xing S. H., Zhu L., Tang G. Q., Li M. Z., Jiang A. A., Lou P. E., Wen A. X., Wang Q., He T., Zhu G. X., Xie M., Li X. W. Distribution of H-FABP and ACSL 4 gene polymorphisms and their associations with IMF and backfat thickness in different pig populations // *Genet. Mol. Res.* 2014. V. 13. Pp. 6759–6772. DOI: 10.4238/2014.August.28.20.

11. Новгородова И. П., Прытков Ю. А., Рындина Д. Ф., Форнара М. С., Волкова Н. А., Костюнина О. В., Зиновьева Н. А. Продуктивные качества свиней в зависимости от генотипа по H-FABP // *Свиноводство.* 2017. № 6. С. 9–12.

12. Костюнина О. В., Гетманцева Л. В., Форнара М. С., Прытков Ю. А., Волкова Н. А. Оценка влияния полиморфизмов в гене PRKAG 3 на качественные показатели мяса свиней // *Достижения науки и техники АПК.* 2019. Т. 33. № 4. С. 67–69. DOI: 10.24411/0235-2451-2019-10417.

13. Xing K., Zhu F., Zhai L., Chen S., Tan Z., Sun Y., Hou Z., Wang C. Identification of genes for controlling swine adipose deposition by integrating transcriptome, whole-genome resequencing, and quantitative trait loci data // *Sci. Rep.* 2016. V. 6. Iss. 23219. Pp. 1–10. DOI: 10.1038/srep23219.

14. Lim K.-S., Kim J.-M., Lee E.-A., Choe J.-H., Hong K.-C. A Candidate Single Nucleotide Polymorphism in the 3' Untranslated Region of Stearoyl-CoA Desaturase Gene for Fatness Quality and the Gene Expression in Berkshire Pigs // *Asian-Australas J. Anim. Sci.* 2015. V. 28 (2). Pp. 151–157. DOI: 10.5713/ajas.14.0529.

15. Henriquez-Rodriguez E., Tor M., Pena R., Estany J. A polymorphism in the stearoyl-CoA desaturase gene promoter increases monounsaturated fatty acid content in dry-cured ham // *Meat Science.* 2015. V. 106. Pp. 38–43. DOI: 10.1016/j.meatsci.2015.03.019.

16. Fernández A. I., Óvilo C., Barragán C., Carmen Rodríguez M., Silió L., Folch J. M., Fernández A. Validating porcine SCD haplotype effects on fatty acid desaturation and fat deposition in different genetic backgrounds // *Livestock Science.* 2017. V. 205. Pp. 98–105. DOI: 10.1016/j.livsci.2017.09.021.

17. Li B., Weng Q., Dong C., Zhang Z., Li R., Liu J., Jiang A., Li Q., Jia C., Wu W., Liu H. A key gene, PLIN 1, can affect porcine intramuscular fat content based on transcriptome analysis // *Genes.* 2018. V. 9 (4). Iss. 194. Pp. 1–16. DOI: 10.3390/genes9040194.

18. Muñoz M., Bozzi R., García F., Núñez Y., Geraci C., Crovetto A. [et al.] Diversity across major and candidate genes in European local pig breeds // *PLoS ONE.* 2018. V. 13 (11): e0207475. Pp. 1–30. DOI: 10.1371/journal.pone.0207475.

19. Henriquez-Rodriguez E., Pena R. N., Seradj A. R., Fraile L., Christou P., Tor M., Estany J. Carotenoid intake and SCD genotype exert complementary effects over fat content and fatty acid composition in Duroc pigs // *J. Anim. Sci.* 2017. V. 95 (6). Pp. 2547–2557. DOI: 10.2527/jas.2016.1350.

20. Zhang W., Zhang J., Cui L., Ma J., Chen C., Ai H., Xie X., Li L., Xiao S., Huang L., Ren J., Yang B. Genetic architecture of fatty acid composition in the longissimus dorsi muscle revealed by genome-wide association studies on diverse pig populations // *Genet. Sel. Evol.* 2016. V. 48. P. 5. DOI: 10.1186/s12711-016-0184-2.

21. Viterbo V. S., Lopez B.I. M., Kang H., Kim H., Song C., Seo K. S. Genome wide association study of fatty acid composition in Duroc swine // *Asian-Australas J Anim. Sci.* 2018. V. 31 (8). Pp. 1127–1133. DOI: <https://doi.org/10.5713/ajas.17.0779>.

22. González-Prendes R., Quintanilla R., Mármol-Sánchez E., Pena R. N., Ballester M., Cardoso T. F., Manunza A., Casellas J., Cánovas Á., Díaz I., Noguera J. L., Castelló A., Mercadé A., Amills M. Comparing the mRNA expression profile and the genetic determinism of intramuscular fat traits in the porcine gluteus medius and longissimus dorsi muscles // *BMC Genomics.* 2019. V. 20. P. 170. DOI: 10.1186/s12864-019-5557-9.

Об авторах

Ольга Васильевна Костюнина¹, доктор биологических наук, заведующая лабораторией, ORCID 0000-0001-8206-3221, AuthorID 147325, kostolan@yandex.ru

Елена Алексеевна Требунских¹, аспирант, ORCID 0000-0002-5208-3376, AuthorID 959522

Маргарет Сергеевна Форнара¹, кандидат биологических наук, старший научный сотрудник, ORCID 0000-0002-8844-177X, AuthorID 620225

Татьяна Вячеславовна Карпушкина¹, научный сотрудник, ORCID 0000-0002-4498-6241, AuthorID 622734

¹ Федеральный научный центр – ВИЖ имени академика Л. К. Эрнста, Дубровицы, Россия

Investigation of the associations of SCD gene polymorphism with intramuscular fat content in Duroc and Large White pig breeds

O. V. Kostyunina¹✉, E. A. Trebunskikh¹, M. S. Fornara¹, T. V. Karpushkina¹

¹ Federal Science Center for Animal Husbandry named after academician L. K. Ernst, Dubrovitsy, Russia

✉E-mail: kostolan@yandex.ru

Abstract. A scientific novelty is the study of the allele pool of domestic reproduction pigs, the determination of population genetic parameters by DNA markers, and the search for associations of genetic variants with economically significant traits.

The aim of the work was to study the influence of *SCD* Y487830 polymorphism: g.2228 T > C to the IMF content and to search for associations of genotypes with economically significant traits in domestic reproduction pigs. The studies were conducted in 2019 on pigs reared in Selection and Hybrid Center LLC (Voronezh region). Genotyping were determined by the QuantStudio™ 5 Real-Time PCR System using the developed test system. The content of IMF (%), backfat thickness (mm), lean (%), live weight (kg) in 103 boars and 27 gilts Duroc pigs, 30 Large White boars was determined using an ExaGo ultrasound scanner. The main diet and animal welfare conditions were identical and corresponded to zoosanitary standards. Model equation for multivariate analysis of variance with interaction was used to evaluate the effect of genotype by *SCD* on productive qualities. The frequency of the T allele and TT genotype in the group of Duroc pigs was 0.419 and 12.7 %, respectively. Large White pig breeds were characterized by the frequency of the T allele – 0.686, TT genotype – 46.8 %. All Landrace pigs were carriers of the TT genotype. The superiority of the C allele carriers in the content of IMF was shown. The difference between Duroc boars with TT and CC genotypes was 0.42 % ($P \leq 0.05$), and individuals with CC genotype exceeded TT genotype carriers in the backfat thickness of more than 3 mm ($P \leq 0.001$). The **results** confirm the association of the *SCD* genotype with the content of intramuscular fat and the backfat thickness in the Duroc boars.

Keywords: pigs, meat quality, polymorphism, stearoyl-CoA desaturase, intramuscular fat.

For citation: Kostyunina O. V., Trebunskikh E. A., Fornara M. S., Karpushkina T. V. Issledovaniye assotsiatsiy polimorfizma gena *SCD* s sodержaniyem vnutrimyshechnogo zhira u sviney porod dyurok i krupnaya belaya [Investigation of the associations of *SCD* gene polymorphism with intramuscular fat content in Duroc and Large White pig breeds] // Agrarian Bulletin of the Urals. 2019. No. 11 (190). Pp. 35–43. DOI: ... (In Russian.)

Paper submitted: 18.10.2019.

References

1. Won S., Jung J., Park E., Kim H. Identification of genes related to intramuscular fat content of pigs using genome-wide association study // Asian-Australas J Anim. Sci. 2018. V. 31 (2). Pp. 157–162. DOI: 10.5713/ajas.17.0218.
2. Lambe N. R., McLean K. A., Gordon J., Evans D., Clelland N., Bunger L. Prediction of intramuscular fat content using CT scanning of packaged lamb cuts and relationships with meat eating quality // Meat Science. 2017. V. 123. Pp. 112–119. DOI: 10.1016/j.meatsci.2016.09.008.
3. Estany J., Ros-Freixedes R., Tor M., Pena R. N. A Functional Variant in the Stearoyl-CoA Desaturase Gene Promoter Enhances Fatty Acid Desaturation in Pork // PLoS ONE. 2014. V. 9 (1): e86177. Pp. 1–11. DOI: 10.1371/journal.pone.0086177.
4. Ros-Freixedes R., Gol S., Pena R. N., Tor M., Ibáñez-Escriche N., Dekkers J. C. M. [et al.] Genome-Wide Association Study Singles Out *SCD* and *LEPR* as the Two Main Loci Influencing Intramuscular Fat Content and Fatty Acid Composition in Duroc Pigs // PLoS ONE. 2016. V. 11 (3): e0152496. Pp. 1–18. DOI: 10.1371/journal.pone.0152496.
5. Scollan N. D., Dannenberger D., Nuernberg K., Richardson I., MacKintosh S., Hocquette J. F., Moloney A. P. Enhancing the nutritional and health value of beef lipids and their relationship with meat quality // Meat Science. 2014. V. 97 (3). Pp. 384–394. DOI: 10.1016/j.meatsci.2014.02.015.
6. Pighin D., Pazos A., Chamorro V., Paschetta F., Cunzolo S., Godoy F., Grigioni G. A contribution of beef to human health: A review of the role of the animal production systems // The Scientific World Journal. 2016. V. 2016. Pp. 1–10. DOI: 10.1155/2016/8681491.
7. Apple J. K. Nutritional effects on pork quality in swine production [e-resource] // U. S. National Swine Nutrition Guide. 2015. Pp. 1–13. URL: <http://porkgateway.org/wp-content/uploads/2015/08/nutritiona-effects-on-pork-quality.pdf> (appeal date:).
8. Pena R. N., Ros-Freixedes R., Tor M., Estany J. Genetic marker discovery in complex traits: a field example on fat content and composition in pigs // Int. J. Mol. Sci. 2016. V. 17. I. 2100. Pp. 1–17. DOI: 10.3390/ijms17122100.
9. Jung J.-H., Shim K.-S., Na C.-S., Choe H.-S. Studies on intramuscular fat percentage in live swine using real-time ultrasound to determine pork quality // Asian-Australas J. Anim. Sci. 2015. V. 28 (3). Pp. 318–322. DOI: 10.5713/ajas.14.0927.
10. Chen J. N., Jiang Y. Z., Cen W. M., Xing S. H., Zhu L., Tang G. Q., Li M. Z., Jiang A. A., Lou P. E., Wen A. X., Wang Q., He T., Zhu G. X., Xie M., Li X. W. Distribution of H-FABP and ACSL 4 gene polymorphisms and their associations with IMF and backfat thickness in different pig populations // Genet. Mol. Res. 2014. V. 13. Pp. 6759–6772. DOI: 10.4238/2014.August.28.20.
11. Novgorodova I. P., Prytkov Yu. A., Ryndina D. F., Fornara M. S., Volkova N. A., Kostyunina O. V., Zinov'yeva N. A. Produktivnyye kachestva sviney v zavisimosti ot genotipa po H-FABP [Productive qualities of pigs depending on the genotype of H-FABP] // Svinovodstvo. 2017. No. 6, Pp. 9–12. (In Russian.)
12. Kostyunina O. V., Getmantseva L. V., Fornara M. S., Prytkov Yu. A., Volkova N. A. Otsenka vliyaniya polimorfizmov v gene PRKAG 3 na kachestvennyye pokazateli myasa sviney [Assessment of the effect of polymorphism MOV in the PRKAG 3 gene for qualitative indicators of pig meat] // Dostizheniya nauki i tekhniki APK. 2019. T. 33. No. 4. Pp. 67–69. DOI: 10.24411/0235-2451-2019-10417. (In Russian.)
13. Xing K., Zhu F., Zhai L., Chen S., Tan Z., Sun Y., Hou Z., Wang C. Identification of genes for controlling swine adipose deposition by integrating transcriptome, whole-genome resequencing, and quantitative trait loci data // Sci. Rep. 2016. V. 6. Iss. 23219. Pp. 1–10. DOI: 10.1038/srep23219.

14. Lim K.-S., Kim J.-M., Lee E.-A., Choe J.-H., Hong K.-C. A Candidate Single Nucleotide Polymorphism in the 3' Untranslated Region of Stearoyl-CoA Desaturase Gene for Fatness Quality and the Gene Expression in Berkshire Pigs // *Asian-Australas J. Anim. Sci.* 2015. V. 28 (2). Pp. 151–157. DOI: 10.5713/ajas.14.0529.
15. Henriquez-Rodriguez E., Tor M., Pena R., Estany J. A polymorphism in the stearyl-CoA desaturase gene promoter increases monounsaturated fatty acid content in dry-cured ham // *Meat Science*. 2015. V. 106. Pp. 38–43. DOI: 10.1016/j.meatsci.2015.03.019.
16. Fernández A. I., Óvilo C., Barragán C., Carmen Rodríguez M., Silió L., Folch J. M., Fernández A. Validating porcine SCD haplotype effects on fatty acid desaturation and fat deposition in different genetic backgrounds // *Livestock Science*. 2017. V. 205. Pp. 98–105. DOI: 10.1016/j.livsci.2017.09.021.
17. Li B., Weng Q., Dong C., Zhang Z., Li R., Liu J., Jiang A., Li Q., Jia C., Wu W., Liu H. A key gene, PLIN 1, can affect porcine intramuscular fat content based on transcriptome analysis // *Genes*. 2018. V. 9 (4). Iss. 194. Pp. 1–16. DOI: 10.3390/genes9040194.
18. Muñoz M., Bozzi R., García F., Núñez Y., Geraci C., Crovetto A. [et al.] Diversity across major and candidate genes in European local pig breeds // *PLoS ONE*. 2018. V. 13 (11): e0207475. Pp. 1–30. DOI: 10.1371/journal.pone.0207475.
19. Henriquez-Rodriguez E., Pena R. N., Seradj A. R., Fraile L., Christou P., Tor M., Estany J. Carotenoid intake and SCD genotype exert complementary effects over fat content and fatty acid composition in Duroc pigs // *J. Anim. Sci.* 2017. V. 95 (6). Pp. 2547–2557. DOI: 10.2527/jas.2016.1350.
20. Zhang W., Zhang J., Cui L., Ma J., Chen C., Ai H., Xie X., Li L., Xiao S., Huang L., Ren J., Yang B. Genetic architecture of fatty acid composition in the longissimus dorsi muscle revealed by genome-wide association studies on diverse pig populations // *Genet. Sel. Evol.* 2016. V. 48. P. 5. DOI: 10.1186/s12711-016-0184-2.
21. Viterbo V. S., Lopez B.I. M., Kang H., Kim H., Song C., Seo K. S. Genome wide association study of fatty acid composition in Duroc swine // *Asian-Australas J Anim. Sci.* 2018. V. 31 (8). Pp. 1127–1133. DOI: <https://doi.org/10.5713/ajas.17.0779>.
22. González-Prendes R., Quintanilla R., Mármol-Sánchez E., Pena R. N., Ballester M., Cardoso T. F., Manunza A., Casellas J., Cánovas Á., Díaz I., Noguera J. L., Castelló A., Mercadé A., Amills M. Comparing the mRNA expression profile and the genetic determinism of intramuscular fat traits in the porcine gluteus medius and longissimus dorsi muscles // *BMC Genomics*. 2019. V. 20. P. 170. DOI: 10.1186/s12864-019-5557-9.

Authors' information:

Olga V. Kostyunina¹, doctor of biological sciences, head of laboratory, ORCID 0000-0001-8206-3221, AuthorID 147325, kostolan@yandex.ru

Elena A. Trebunskikh¹, postgraduate, ORCID 0000-0002-5208-3376, AuthorID 959522

Margaret S. Fornara¹, candidate of biological sciences, senior researcher, ORCID 0000-0002-8844-177X, AuthorID 620225

Tatiana V. Karpushkina¹, researcher, ORCID 0000-0002-4498-6241, AuthorID 622734

¹ Federal Science Center for Animal Husbandry named after academician L. K. Ernst, Dubrovitsy, Russia