

Česká zemědělská univerzita v Praze

Fakulta agrobiologie, potravinových a přírodních zdrojů

Katedra speciální zootechniky



Posouzení vlivu vybraných genetických markerů na zastoupení jednotlivých typů svalových vláken u prasat

Diplomová práce

Autor práce: Bc. Daniela Urbanová

Vedoucí práce: doc. Ing. Roman Stupka, CSc.

2013

Čestné prohlášení

Prohlašuji, že svou diplomovou práci "Posouzení vlivu vybraných genetických markerů na zastoupení jednotlivých typů svalových vláken u prasat" jsem vypracovala samostatně pod vedením vedoucího diplomové práce a s použitím odborné literatury a dalších informačních zdrojů, které jsou citovány v práci a uvedeny v seznamu literatury na konci práce. Jako autorka uvedené diplomové práce dále prohlašuji, že jsem v souvislosti s jejím vytvořením neporušila autorská práva třetích osob.

V Praze dne 11.4.2013

Daniela Urbanová

Poděkování

Ráda bych touto cestou poděkovala doc. Ing. Romanu Stupkovi, CSc. za odborné vedení a pomoc při vypracování mé práce. Také bych ráda poděkovala Ing. Věře Dvořákové, PhD. a Ing. Lubošovi Brzobohatému za cennou spolupráci při tvorbě této práce. Mé díky patří i mé rodině a přátelům za trpělivost a obětavý přístup během studia a tvorby této práce.

Posouzení vlivu vybraných genetických markerů na zastoupení jednotlivých typů svalových vláken u prasat

Assessment of the influence of selected genetic markers on the different muscle fiber types representation in pigs

Souhrn

Cílem práce je posoudit vliv genotypů vybraných genetických markerů na zastoupení jednotlivých typů svalových vláken a jejich charakteristiky u prasat. Pro studii bylo použito 216 prasat, z nichž 144 byli kříženci (ČBUxČL)xPN a 72 kříženci (ČBUxČL)x(PNxBO). Zvířata byla poražena v průměru v živé hmotnosti 123 kg.

Od zvířat byli odebrány vzorky svaloviny ze svalů *m. longissimus lumborum et thoracis* (pečeně), *m. semimembranosus* (kýta), *m. cleidocephalicus* (krkovice) a *m. serratus ventralis* (plec), které byly skladovány v tekutém dusíku při -80°C. Poté byly v těchto vzorcích stanovovány 3 typy svalových vláken a to I, IIA a IIB, také jejich počet na plochu, podíl, diametr, plocha řezu a obvod. Dále byla odebrána krev, z níž byla izolována DNA, která byla skladována při -20°C. Z této DNA byli pomocí PCR-RFLP zjišťovány genotypy v genech MYOG, MYOD1 a MYF6.

Byly zjištěny statisticky významné rozdíly mezi genotypy těchto genů a histologickými vlastnostmi svalových vláken. Počet, podíl a velikost jednotlivých typů svalových vláken souvisí s jednotlivými genotypy genu MYOG. U genu MYOD1 byly pak nalezeny statisticky významné rozdíly mezi genotypy u počtu svalových vláken, průměrné plochy řezu a průměrného diametru, které byly zjištěny i u genu MYF6. Dále byly nalezeny statisticky významné rozdíly u genotypů genu MYOD1 také v počtu a podílu svalových vláken typu I a počtu, podílu a velikosti u typu IIA a IIB. U genu MYF6 byly pak nalezeny statisticky významné rozdíly ještě pro počet a podíl svalových vláken typu I a IIB.

Klíčová slova: prase, svalová vlákna, genetické markery

Summary

The aim of this thesis is to assess the influence of selected genotypes of genetic markers on the representation of the different muscle fiber types and their characteristics in pigs. For the study, 216 pigs were used, of which 144 were hybrids (ČBUxČL)xPN and 72 hybrids (ČBUxČL)x(PNxBO). Representative animals were slaughtered at an average live weight of 123 kg.

From representative animals were samples taken from *m. longissimus lumborum et thoracis* (roast), *m. semimembranosus* (ham), *m. cleidocephalicus* (neck), and *m. serratus ventralis* (shoulder). Samples were stored in liquid nitrogen at -80 ° C. All samples were analysed for three types of muscle fibers I, IIA and IIB. Also the number of fibres per unit of a given area, their proportion in the bundle, diameter, sectional area and perimeter. Additionally, DNA was isolated from collected blood samples, which were stored in the temperature of -20°C. Genotypes were determined from DNA samples by using the PCR-RFLP in genes MYOG, MYOD1 and MYF6.

In this thesis statistically significant differences between genotypes of these genes and histological characteristics of muscle fibers were revealed, such as number of fibers per unit of an area, size and proportion of fibers in a bundle of different types of muscle fibers associated with each genotype in a gene MYOG. Statistically significant differences for MYOD1 gene were found between genotypes in the number of fibers per unit of an area, the average sectional area and the average diameter, which were also detected for the gene MYF6. Another, parameters which have shown statistically different values in genotypes of MYOD1 gene were number, size of fibers and proportion of the I, IIA and IIB muscle fiber type, whereas differences for MYF6 gene were in the proportion and number of the I and IIB.

Keywords: pig, muscle fiber, genetic marker

Obsah

1	Úvod.....	8
2	Cíl práce a vědecká hypotéza.....	9
2.1	Cíl práce	9
2.2	Vědecká hypotéza	9
3	Literární přehled	10
3.1	Maso	10
3.2	Kosterní svalovina.....	10
3.2.1	Embryonalní vývoj svalstva.....	10
3.2.2	Stavba svalu	11
3.2.3	Chemické a biochemické složení svalu	12
3.3	Svalová vlákna	13
3.3.1	Faktory ovlivňující velikost a počet svalových vláken.....	16
3.3.2	Vliv velikosti a počtu svalových vláken na kvalitu masa a zmasilost.....	17
3.4	Molekulární genetika ve šlechtění prasat.....	18
3.4.1	Genom prasete	18
3.4.2	QTL – Quantitative Trait Loci.....	20
3.4.3	Genetické markery.....	21
3.4.4	Kandidátní geny	23
3.5	Metody používané v molekulární genetice	23
3.5.1	PCR – Polymerázová řetězová reakce	23
3.5.2	Elektroforéza.....	26
3.6	Přehled studovaných genů.....	27
3.6.1	MYOD1	28
3.6.2	MYOG	28

3.6.3	MYF6.....	30
3.7	Další kandidátní geny pro masnou užitkovost	31
3.7.1	MYF5.....	31
3.7.2	RYR1	31
3.7.3	IGF2.....	32
3.7.4	GDF8	32
4	Metodika a materiál	34
5	Výsledky	39
5.1	Soubor základních dat.....	39
5.2	Vliv vybraných genů na zastoupení jednotlivých typů svalových vláken a jejich histologické charakteristiky	41
5.2.1	Gen MYOG.....	41
5.2.2	Gen MYOD1.....	46
5.2.3	Gen MYF6	50
6	Diskuse.....	54
7	Závěr	56
8	Seznam literatury	58

1 Úvod

Spotřeba masa v České republice se pohybuje kolem 79 kg na osobu a rok, z toho vepřové maso činí přibližně 46,1 kg, z čehož vyplývá, že spotřeba tohoto druhu masa je u nás nejvyšší. Aby bylo možné odpovědět produkcí na poptávku trhu a zároveň zabezpečit přijatelnou cenu pro spotřebitele, je nutné zajistit co nejvyšší produkci i reprodukci, čehož můžeme dosáhnout cíleným šlechtěním.

Ve výrobě vepřového masa byly zavedeny hybridizační programy, které mají za cíl dosáhnout odpovídající produkci jatečných prasat s požadovanými reprodukčními a produkčními vlastnostmi pro výrobu kvalitního masa, které odpovídá poptávce na trhu. Základem hybridizačních programů je rozdělení plemen na mateřská a otcovská. Posledních dvacet let se ve šlechtění prasat používají metody odhadu plemenné hodnoty, které vyjadřuje genetické založení jedince na základě fenotypové hodnoty. Tyto metody odhalují ale pouze aditivní část genotypu, tedy geny, přenášející se z rodičů na potomky. Genotyp jedince však neovlivňují pouze aditivní geny, ale také interakce mezi nimi.

V posledních letech přináší do šlechtění prasat molekulární genetika možnost zlepšení odhadu genetického založení zvířat. Pomocí jejích metod můžeme identifikovat tzv. genetické markery, které nám umožňují lépe odhadnout genetický potenciál zvířat. Tuto možnost máme, protože tyto markery jsou ve spojení s oblastmi genů na chromozomech, které jsou zodpovědné za genetickou proměnlivost. Genetické markery nám, kromě lepšího odhadu genetického potenciálu zvířat, dávají možnost dosáhnout lepšího selekčního zisku. Pokud tedy dosáhneme kvalitních šlechtitelských programů, můžeme zvířata selektovat již v raném věku, což nám umožňuje zkrátit generační interval a rychleji dosáhnout genetického pokroku u plemen, a tím zefektivnit výrobu vepřového masa.

Základem pro využití poznatků z molekulární genetiky je však znalost vlivu jednotlivých genetických markerů na produkční a reprodukční vlastnosti zvířat. Dále je důležité mít kvalitní genetickou základnu v chovu, která nám dává možnost dosáhnout odpovídajících výsledků ve šlechtění prasat.

2 Cíl práce a vědecká hypotéza

2.1 Cíl práce

Cílem práce je posoudit vliv genotypů vybraných genetických markerů na zastoupení jednotlivých typů svalových vláken a jejich charakteristiky u prasat.

2.2 Vědecká hypotéza

Genotypy genů rodiny MyoD ovlivňují zastoupení jednotlivých typů svalových vláken a jejich charakteristiky.

3 Literární přehled

3.1 Maso

Maso patří mezi oblíbenou část lidské potravy, která je hlavním zdrojem bílkovin, obsahuje velké množství nenasycených mastných kyselin, vitaminů, minerálů a železa (Nesvadbová, 2012). Jako maso rozumíme všechny části jatečných těl živočichů, které jsou vhodné k lidské výživě. Zahrnuje příčně pruhovanou svalovinu, její vazivovou část, povrchový a intramuskulární tuk, cévy, mízní uzliny, nervy, kosti a někdy je možno zahrnout i opášené kůže (Steinhauser et al., 2000).

Vepřové maso se těší velké oblibě. V celkové spotřebě masa v Evropské unii nedochází k výrazným zvrátům. Spotřeba masa v České republice je na úrovni asi 80 kg na osobu za rok, což patří k Evropskému průměru, přičemž vepřové maso tvoří asi polovinu spotřeby.

Poptávka trhu vyžaduje především maso, které obsahuje vysoký podíl libové svaloviny. Na šlechtitele je proto vyvíjen tlak na produkci prasat, která budou mít maximální podíl svaloviny, minimální podíl tuku, ale zároveň kvalitní maso. Chovatelé tedy sledují u šlechtitelských linií prasat zejména průměrný denní přírůstek, zmasilost, výšku hřbetního tuku, příjem krmiva a jeho konverzi, utváření jatečného těla, výtěžnost masitých částí, kvalitu masa, utváření končetin a tělesný rámeček (Nesvadbová, 2012).

3.2 Kosterní svalovina

Hlavní funkcí svaloviny je zabezpečit pohyb a požadovanou polohu těla, což je umožněno schopností přeměnit energii živin v energii mechanickou a pohyb. Ten je pak umožňován pomocí kontrakcí (Marvan a kol. 1992). Přeměna na energii mechanickou probíhá asi z 30%, zbylých 70% se přemění na energii tepelnou (Najbrt a kol., 1980). Z pohledu živočišné produkce je svalovina nejvýznamnější složkou hlavní suroviny, která je získávána z těl jatečných zvířat, masa, jež ale zahrnuje také vazivové obaly, vložený tuk, povázky cévy a nervy (Marvan a kol., 1992).

3.2.1 Embryonální vývoj svalstva

Svaly se vyvíjejí během procesu, který se nazývá myogeneze. Ta je ovlivněna velkým množstvím faktorů, mezi které patří například geny, růstové faktory a hormony (Rehfeldt et al., 2010).

Svaly, přesněji tedy svalová vlákna se v embryonálním vývoji tvoří z buněk nazývajících se myoblasty, jejichž počet vzrůstá, dokud se nepřemění v myotubuly, které se nakonec diferencují ve svalová vlákna. Myoblasty mají původ v mesodermu, přesněji tedy v dermomyotomu, který je částí segmentů nazývaných somity. Tyto somity se pak rozdělí na dorzální dermomyotom, který je základem škáry a progenitorových buněk svalů a ventrální sklerotom, jako základ osově kostry. Svaly páteře a končetin vznikají z dorsomedialní části dermomyotomu, zatímco z části ventrolaterální vznikají svaly hrudníku.

Nediferencované svalové buňky cestují ze somitů pod kontrolou různých faktorů, produkovaných nervovou trubicí a notochordou, a následně se specializují a vytváří jednotlivé svaly. Během cesty kolem notochordy se svalové buňky množí, opouštějí buněčný cyklus a následně začínají syntetizovat myofibrilární proteiny a připravují jejich splnutí, při které dochází k tvorbě skulinových spojení, fúzi membrán a cytoplasmy a následně mnoha biochemickým reakcím. Myoblasty s odlišnými funkcemi můžeme najít v různých fázích vývoje a nazývají se somitické, embryonální, fetální a dospělé.

Na povrchu myotubu se ukryty pod buněčnou membránou nachází tzv. satelitní buňky, což jsou nediferencované myotomy, které se nachází u každého jedince i v dospělosti. Mají zachovanou schopnost buněčného dělení a diferenciace. Slouží jako rezervní materiál při poškození svalového vlákna a také se podílí na růstu svalových vláken po narození (Picard et al., 2002).

3.2.2 Stavba svalu

Hlavní část svalu tvoří svalové břicho, jež se na kost upíná pomocí svalových šlach, které odstupují od svalu, upínají ho na kost a přenášejí na ni sílu (König a Liebich, 2004).

Svalové břicho tvoří svalová vlákna, která jsou spojena do snopců, které dělíme na primární, sekundární a terciární. Již primární svalové snopce jsou viditelné pouhým okem a pokrývá je tenká vrstva vaziva, která se nazývá endomysium. Primární snopce se sdružují do sekundárních a ty dále do terciárních (Marvan a kol., 1992). Najbrt a kol. (1980) dělí vmezežené vazivo nejen na endomysium, ale dále ještě na perymysiuminternum a externum, přičemž endomysium obaluje svalová vlákna, perymysiuminternum spolu se svalovými vlákny tvoří snopce a perymysiumexternum je pevný obal na povrchu svalu. Dále jsou touto vmezeženou tkání vedeny nervy, cévy a ukládá se zde tuk. Marvan a kol. (1992) dále uvádí, že v každém svalovém břišku se nachází tzv. satelitní buňky, které umožňují regeneraci poškozených svalových vláken. Jedná se o mladá vývojová stadia svalových vláken,

nazývajících se myoblasty, které jsou pozůstatkem z embryonálního vývoje a slouží k zachování plnohodnotné svaloviny.

Svaly jsou inervovány nervy tak, že v každém vlákně se nachází alespoň jeden axon centrálního nervového systému (König a Liebich, 2004). Dle Reece (2009) inervuje jedno nervové vlákno 4-150 svalových vláken a menší poměr se nachází pouze v místech, kde je důležitá velká přesnost svalové kontrakce. V místě kde se vlákno a axon setkávají je vytvářena synapse, která se nazývá nervosvalová ploténka, nervové a svalové vlákno se zde nedotýkají, ale nachází se zde štěrbina (Reece, 2009). Impuls je pak přenášen pomocí acetylcholinu, který slouží jako neurotransmitter. Kromě nervosvalové ploténky se ve svalech nachází také svalová vřetenka, která informují centrální nervovou soustavu o svalovém tonu a dále napětí šlach a kloubních pouzder (König a Liebich, 2004).

3.2.3 Chemické a biochemické složení svalu

Samotná libová svalovina se skládá z bílkovin, vody a tuků. Dále obsahuje velmi malé množství sacharidů, které řadíme mezi bezdusíkaté extraktivní látky. Důležitým ukazatelem je tzv. Federovo číslo, které udává poměr obsahu vody a bílkovin a u syrového masa se pohybuje v hodnotě okolo 3,5 (Pipek a Pour, 1998).

Tab.1 - Orientační analytické parametry vybraných svalů u vepřového masa

Sval	Obsah vody	Intramuskulární tuk	Celk. dusík	Hydroxyprolin
<i>L.dorsi</i> (kaudal. část)	76,33	3,36	3,77	670
<i>L.dorsi</i> (kranial. část)	76,94	3,26	3,69	527
<i>Psoas major</i>	77,98	1,66	3,58	426
<i>Rectus femoris</i>	78,46	0,99	3,41	795
<i>Triceps</i> (lateralní část)	78,68	1,84	3,46	1680
<i>Superfic.digital.flexor</i>	78,87	1,9	3,35	1890
<i>Sartorius</i>	78,71	0,87	3,41	850
<i>Extensor carpi radialis</i>	79,04	1,39	3,36	2470

Tab. 2 – Orientační analytické parametry

Vepřové maso	Voda %	Bílkoviny %	Tuky %
Bůček	34	7,1	56
Kýta	53	15,2	31
Pečeně	58	16,4	25
Plec	49	13,5	37

3.2.3.1 Bílkoviny

Obsah bílkovin v čisté libové svalovině se pohybuje okolo 18-22%. Tyto bílkoviny jsou většinou plnohodnotné, to znamená, že obsahují všechny esenciální mastné kyseliny. Dělíme je do třech skupin, do kterých se řadí podle své rozpustnosti ve vodě a solných roztocích:

1. Sarkoplazmatické - nacházejí se v sarkoplasmatu, jsou ve vodě rozpustné a denaturují při varu, řadí se sem hemová barviva hemoglobin a myoglobin, které dávají svalům červené zbarvení.
2. Myofibrilární - tyto bílkoviny jsou ve vodě nerozpustné, naopak se rozpouštějí v roztocích solí, ve svalovině převažují a způsobují kontrakci svalů, řadíme sem aktin a myosin.
3. Stromatické - nejsou přímo bílkoviny svalů, ale vyskytují se ve vazivech, šlachách a membránách svalů, do této skupiny řadíme kolagen a elastin (Pipek a Pour, 1998).

3.2.3.2 Lipidy

Lipidy se ve svalech nachází ve formě intramuskulárního tuku, který má nezanedbatelný vliv na křehkost a chutnost masa. Vyskytují se ve svalech jako triacylglyceroly, fosfolipidy a další. Mezi významné steroly tedy lipidy vyskytující se v tkáních, řadíme také cholesterol, který se vlivem ultrafialového záření přeměňuje na vitamin D₃ a můžeme ho tedy zařadit k významným provitaminům (Pipek a Pour, 1998).

3.2.3.3 Extraktivní a minerální látky

K těmto látkám řadíme především glykogen, který má při porážce velký význam na okyselení tkáně po porážení zvířete a jeho pozdější údržnost a vaznost. Dále sem zahrnujeme adenosin trifosfát (ATP), které slouží k přenosu energie ve svalech. Poslední skupinou jsou dusíkaté extraktivní látky, mezi které řadíme aminokyseliny a některé peptidy.

Mezi významné minerální látky řadíme vápník, hořčík, draslík a železo, přičemž hořčík se podílí na aktivitě ATPázy a vápník hraje důležitou roli při kontrakci svalů. Železo je ve svalech přítomno především prostřednictvím hemových barviv (Pipek a Pour, 1998).

3.3 Svalová vlákna

Svalovina je tvořena svalovými vlákny, jejichž nejmenšími stavebními a funkčními jednotkami jsou myofibrily. Těch se ve vláknech nachází několik set až tisíc a skládají se do

vyšších stavebních a funkčních jednotek, které se nazývají sarkomery (Reece, 2009). Sarkomery obsahují pravidelně uspořádaná myofilamenta, přičemž se střídají myofilamenta aktinová a myosinová, což způsobuje příčné pruhování kosterní svaloviny, které je velmi dobře viditelné pod mikroskopem (König a Liebich, 2004). U příčně pruhované svaloviny jsou sarkomery v zákrytu s ostatními podjednotkami svalového vlákna, čímž je pak vytvářeno příčné pruhování svalu. Na konci každé sarkomery se nachází Z linie, která je společná oběma sousedním sarkomerám a z té vybíhají do středu každé z nich aktinová vlákna. Dále se zde nachází I pás, který zahrnuje aktin ze společné Z linie dvou sarkomer. Z vláken myozinových pak vzniká tmavý proužek nazývaný se A pás, tato vlákna jsou soustředěna do centra sarkomer a překrývají se s vlákny aktinovými (Reece, 2009). Kromě A, I pásu a Z linie se zde dále nachází Hensenův disk, takzvaná H zóna, kterou najdeme uprostřed pásu A a dále zde najdeme tmavší mesofragmu, jež se také jinak nazývá M pás (Pipek a Pour, 1998). Poměr aktinových a myosinových vláken v myofibrile je 2:1, přičemž se při svalové kontrakci aktinová vlákna zasunou hlouběji mezi ta myosinová (Reece, 2009).

Svalová vlákna se dělí na tři typy a to:

1. červená (tmavá),
2. bílá (světlá),
3. přechodná - přechod mezi tmavými a světlými.

Červená svalová vlákna mají oproti bílým větší obsah myoglobinu a mitochondrií (Reece, 2009.) Také se pomaleji smršťují a unavují a svoji energii získávají pomocí oxidace. Oproti tomu vlákna bílá se rychle unaví, ale mají vysokou stažlivost a energii uvolňují pomocí anaerobní glykolýzy (König a Liebich, 2004).

Dále můžeme svalová vlákna dělit na:

1. Typ I,
2. Typ IIa,
3. Typ IIb.

Toto dělení vychází z rozdílné aktivity enzymu ATPázy. Vlákna typu I mají nižší aktivitu ATPázy, vyšší obsah myoglobinu, mitochondrií a krevních kapilár, to jim dodává jejich červené zbarvení. Oproti tomu vlákna typu IIa a IIb, mají vysokou aktivitu ATPázy. Vlákna

Ila mají stejně jako typ I vyšší obsah myoglobinu a mitochondrií. Typ I Ib má méně myoglobinu a mitochondrií, ale obsahuje více glykogenu (Choi a Kim, 2009).

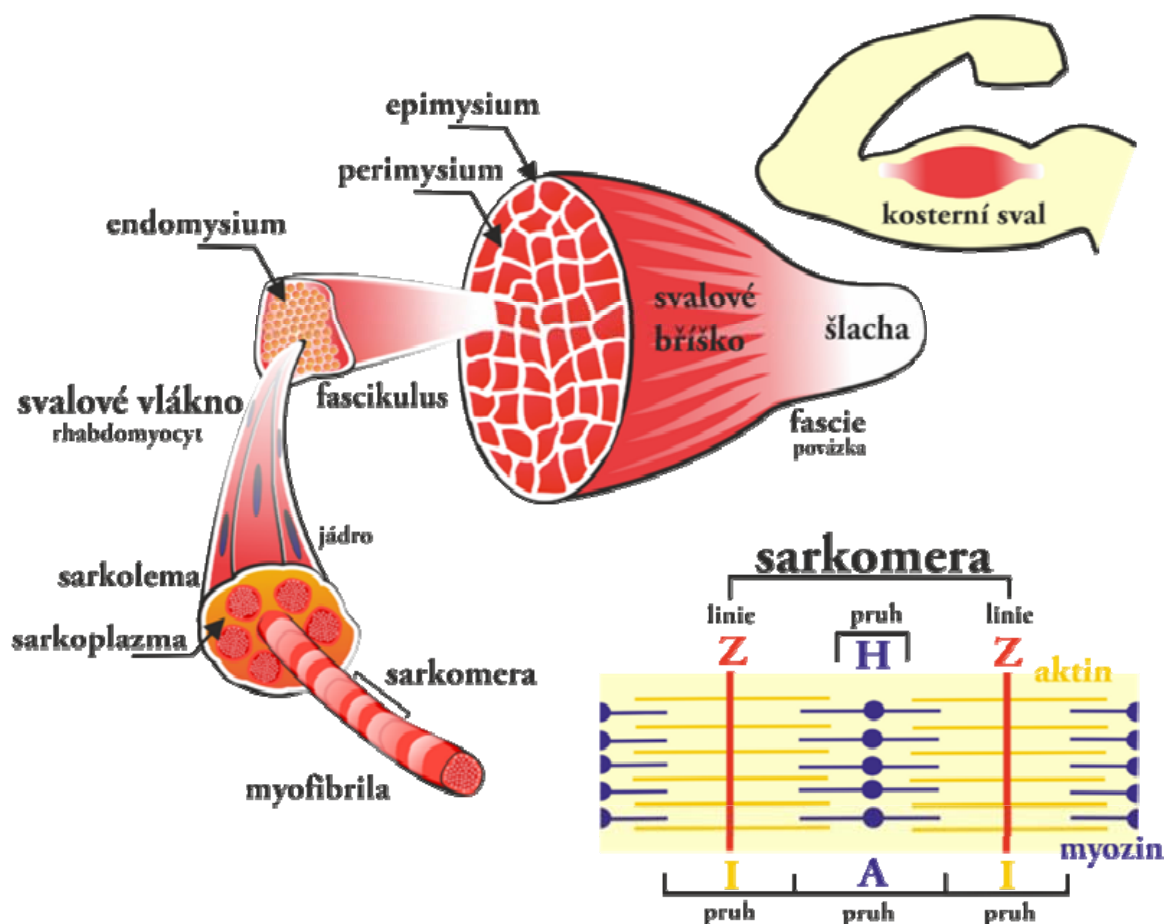
Barvením pomocí sukcinát dehydrogenázy – SDH a rozdílné aktivity ATPázy můžeme svalová vlákna dále dělit také na β R, kdy je ATPáza v kyselém prostředí stabilní a vlákna jsou oxidativní, α R u nichž je ATPáza v kyselém prostředí labilní a vlákna jsou oxidativní a α W u kterých je ATPáza v kyselém prostředí labilní a vlákna jsou glykolytická (Ashmore a Doerr, 1971).

Posledním dělením je zjištění rozdílů při barvení vláken za pomoci rozdílné aktivity ATPázy a barvení pomocí oxidativního enzymu NADH-TR, pomocí něhož můžeme vlákna dělit na oxidativní s pomalým stahem – SO, oxidativně glykolytické s rychlým stahem – FOG a glykolytické s rychlým stahem – FG (Peter et al., 1972).

Pokud tedy shrneme jednotlivá označení, pak pomalá oxidativní svalová vlákna značíme jako I, β R, SO, rychlá oxidativně glykolytická svalová vlákna značíme jako Ila, α R, FOG a rychlá glykolytická bílá vlákna značíme jako I Ib, α W a FG (Picard et al., 2002).

Vlákna jsou u různých zvířat zastoupena různě v závislosti na druhu, plemenné příslušnosti, věku. Za jeden ze znaků domestikace se považuje převládání bílých svalových vláken u zvířat, která jsou šlechtěna na vysokou intenzitu růstu. Novorozená zvířata pak mají převahu červených vláken oproti bílým, která se tvoří diferenciací vláken červených (Marvan, 1992).

Svalová vlákna mají různou tloušťku, na níž závisí i kvalita vytěženého masa. Obecně platí, že maso, které má převahu tenkých svalových vláken je kvalitnější a chutnější. Tloušťka pak závisí na zatěžování svalu - ta nejtlustší se nacházejí na nejvíce zatěžovaných částech těla, například na nohách, mimo jiné se v těchto svalech nachází také mnohem více intramuskulárního vaziva se silnými svazky kolagenních vláken. Novorozená zvířata mají svaly skládající se pouze z tenkých svalových vláken, kdy se tloušťka pohybuje v rozmezí 5-10 μ m, u dospělých zvířat pak v rozmezí 50-100 μ m (Marvan, 1992).



Obr. 1 – Stavba svalu

(dostupné z < http://www.wikiskripta.eu/index.php/Soubor:Kostern%C3%AD_sval.png>)

3.3.1 Faktory ovlivňující velikost a počet svalových vláken

Tvorbu masa u hospodářských zvířat ovlivňuje počet a velikost svalových vláken, která se vytváří během embryonálního vývoje. U zvířat s vyšším počtem svalových vláken, je produkce masa vyšší a má také lepší kvalitu (Gazdová et al., 2006).

Počet svalových vláken je ovlivňován zejména faktory genetickými a do jisté míry ho pak ovlivňují i faktory prostředí, které jsou schopny ovlivnit myogenezi (Rehfeldt et al., 2000). Počet svalových vláken je tedy při narození konečný, zatímco jejich velikost je ovlivněna mnoha faktory až po narození zvířete (Te Pas et al., 2004). Mezi faktory, které ovlivňují velikost a počet řadíme například druh, plemeno, prenatální výživu a porodní hmotnost.

Vlivem plemene na počet svalových vláken se ve své studii zabývá Bogucka et al. (2008), která ve své studii zveřejnila, že největší počet se jich nachází u divokých prasat. Ten

se pak snižuje u jejich kříženců s durocem a nejnižší počet je zjištěn u plemene polská landrace. Oproti tomu Ryu et al. (2008) uvádí minimální rozdíly mezi počtem svalových vláken u plemen berkshire, landrase, yorkshire a jejich kříženců. Dle Rehfeldt et al. (2000) se u moderních plemen masných typů prasat nevyskytují velké rozdíly v počtu a velikosti svalových vláken, která jsou zjišťována ve svalu *m. longissimus*.

Při studii velikosti plochy příčného řezu svalového vlákna bylo zjištěno, že kanci mají tuto plochu největší, poté následují prasničky a u vepřů je tato plocha nejmenší (Solomon et al., 1990). Při zjišťování rozdílu v počtu svalových vláken, nedošlo k nalezení statisticky významných odlišností mezi prasničkami, vepříky a kanci (Rehfeldt et al., 1999).

Podvýživa během prenatalního vývoje může způsobit nižší počet svalových vláken u selat (Te Pas et al., 2004). Nejdůležitějším obdobím prenatalní výživy, ve kterém je nezbytná její vysoká úroveň, je těsně před začátkem tvorby sekundárních svalových vláken (Dwyer et al., 1994).

V názorech na vliv porodní hmotnosti na počet vláken se různí autoři rozcházejí. Dwyer et al. (1993) uvádí, že mezi porodní hmotností a počtem svalových vláken neexistuje žádná spojitost, zatímco Gondret et al. (2005) a Rehfeldt a Kuhn (2006) naopak zjistili, že selata, která mají při narození nižší hmotnost, mají asi o 20% svalových vláken méně. Rehfeldt a Kuhn (2006) se přiklání k názoru, že u selat s nízkou porodní hmotností se během myogeneze utváří méně svalových vláken. Vliv porodní hmotnosti na velikost svalových vláken je zřejmý. Selata s nižší hmotností, mají při porážce na jatkách větší svalová vlákna oproti selatům, která měla při narození vyšší hmotnost (Dwyer et al., 1993). Rehfeldt (2005) přikládá tento vliv na velikost vláken jejich rychlejšímu růstu a jeho dřívějšímu ukončení.

3.3.2 Vliv velikosti a počtu svalových vláken na kvalitu masa a zmasilost

Tloušťka svalových vláken při narození zvířete se pohybuje od 5 -10 μ m. V průběhu života vlákna hypertrofují a jejich tloušťka se zvyšuje 5-10 x, přičemž průměr u dospělého zvířete je asi 50-100 μ m (Marvan, 1992). Toto zvětšování svalových vláken vede ke zvětšování objemu svalů, čímž se zároveň zvyšuje i objem masa (Lefaucher et al., 1995). Počet svalových vláken je důležitým faktorem, který ovlivňuje růst po narození. Prasata, která jich mají při narození vyšší počet, rostou rychleji a s větší efektivitou než prasata, která jich mají méně (Dwyer et al., 1993).

Fiedler et al. (2004) ve své práci uvádí koeficient heritability pro počet svalových vláken $h^2 = 0,28$, pro jejich průměr pak $h^2 = 0,12$. Oproti tomu Larzul et al. (1997) zjistil koeficient heritability pro počet svalových vláken $h^2 = 0,22$ a pro jejich průměr pak $h^2 = 0,34$. Fiedler et al. (2004) se dále zabýval korelací mezi celkovým počtem svalových vláken a živou hmotností, plochou pečeně, hodnotou pH, měřenou 45 min post mortem, a ztátamiodkapem. Korelační koeficienty poté stanovil ve výši -0,16 pro korelaci mezi počtem svalových vláken a živou hmotností, 0,22 pro korelaci mezi počtem svalových vláken a plochou pečeně, -0,37 pro korelaci mezi počtem svalových vláken a hodnotou pH a 0,64 pro korelaci mezi počtem svalových vláken a ztrátu odkapem. Bulotiene a Jukna (2008) dále uvádějí pozitivní korelaci mezi velikostí svalového vlákna a ztrátou odkapem, která se rovná $r = 0,48$.

Jak je již uvedeno, zvířata s nižší váhou při narození mají vyšší počet svalových vláken, ale dochází u nich dříve k zastavení růstu. Živiny, které jsou přijaty v období po jeho ukončení jsou využity v první řadě pro ukládání zásobního tuku (Kratochvílová, 2011).

3.4 Molekulární genetika ve šlechtění prasat

V chovu prasat je v dnešní době velká konkurence a je velmi ekonomicky náročný. Je tedy nutné, aby efektivita a odezva na šlechtění byla co nejvyšší. Zároveň je nezbytné, aby jatečná hodnota, reprodukce a kvalita masa byly na vysoké úrovni (Weisz et al., 2011).

Kvantitativní znaky v chovu prasat jsou kontrolovány polygenně a každý gen přispívá malou částí ke genetické variabilitě. V posledních několika desetiletích došlo k velmi rychlému rozvoji technologií sloužících k mapování genetického založení jedince. Tyto technologie pomáhají odhalit geny, nebo genetické markery, ovlivňující ekonomické vlastnosti zvířat. Hlavním cílem v mapování genomu hospodářských zvířat je pak identifikovat a charakterizovat geny QTL - Quantitative Trait Loci (Hu et al., 2009). Znalosti genů, které ovlivňují masnou užitkovost, pak mohou být využity v tzv. Markerassistedselection, která kombinuje tradičně využívanou selekci a molekulární biologii za účelem efektivnější výroby vepřového masa (Weisz et al., 2011).

3.4.1 Genom prasete

Prase patří mezi první hospodářské zvíře, díky jeho podobě s člověkem, u kterého mapování genomu začalo. Výzkum sloužil především k odhalování anomálií v karyotypu somatických a zárodečných buněk, gamet a embryí a studiu chromosomálních odlišností při meióze u samčích a samičích embryí (Rothschild a Ruvinsky, 2011).

Mapování genomu prasete může být využito pro identifikaci oblastí chromozomů či genů, které kontrolují ekonomicky významné kvantitativní znaky (Malek et al., 2001). Studie genomu prasat začala již v 60. letech minulého století, kdy započalo studium krevních skupin a byly tvořeny první vazbové mapy (Andersen, 1963). Oficiální začátek genového mapování je však datován v 80. letech 20. století. V dnešní době je zmapováno asi 10 000 lokusů, k jejichž identifikaci bylo použito různých způsobů mapování (Rothschild a Ruvinsky, 2011).

3.4.1.1 Vazebné mapování

Tato metoda je základní metodou mapování genomu (Archibald a Haley, 1995). Vazbové mapování genomu vychází z odchylek, které se projeví při Mendelistickém nezávislém výběru. Geny, které jsou lokalizovány blízko sebe, na stejném chromozomu, se během meiózy, díky vazbám, netřídí náhodně. Změny, nebo náhodná výměna chromozomových segmentů homologních chromozomů, ke kterým dochází během vzniku gamet, rozbíjí vazby s určitou frekvencí. Poměr přeskupených genotypů je měřítkem pro četnost výskytu náhodné výměny chromozomových segmentů. Pokud tedy v dostatečně velké populaci zjistíme významné sdružení mezi dědičnou částí chromozomu a odchylkou od dané vlastnosti, předpokládáme existenci genu nebo genů, které danou vlastnost ovlivňují (Rothschild a Ruvinsky, 2011).

Při vazebném mapování tedy určujeme vzdálenost mezi geny pomocí měření frekvence, se kterou dva různé geny zůstanou ve vazbě na jednom chromozomu v období meiotického dělení a dojde tedy k přenosu z generace na generaci (Nussbaum et al., 2004).

3.4.1.2 Cytogenetické mapování

Prase bylo prvním hospodářským zvířetem, u kterého byla tato metoda využita (Rothschild a Ruvinsky, 2011). K jejímu největšímu rozvoji docházelo na konci 90. let 20. století, kdy mezi lety 1995-1997 došlo k objevu téměř 300 nových lokusů (Yerle et al., 1997).

V dnešní době patří tato metoda mezi již téměř nevyužívané. Jejím základem je fyzická podoba chromozomů. Chromozomy je potřeba nejprve upravit a poté pružovat, abychom je mohli porovnat se standartními ideogramy. U prasete se pro tvorbu genetických map používá hybridizace in-situ, protože jeho karyotyp je dobře definovaný. Gen lokalizujeme hybridizací určitého značeného úseku DNA, která obsahuje denaturovanou DNA chromozomu. Značení se pak provádí pomocí fluorescenční in situ hybridizace – FISH nebo radioaktivně – RISH (Dvořáková, 2012).

3.4.1.3 RH mapování

Tato technika využívá tzv. SCH – somatic cell hybrids. Tyto buňky jsou vytvářeny pomocí fúze s hlodavčími buňkami a je vytvářeno velké množství klonů hybridních somatických buněk (Nussbaum et al., 2004). Před tím, než dojde k fúzi buněčných linií, je buňka podrobena rentgenovému záření, které způsobí rozpad chromosomů. Čím větší je rentgenové záření, tím detailnější je rozpad chromosomů (Rothschild a Ruvinsky, 2011). Vlastní princip metody je založen na vzdálenosti genů na chromozomu. Čím je vzdálenost menší, tím méně je pravděpodobné že by rentgenové záření geny oddělilo a naopak. V případě malé vzdálenosti jsou geny přítomny v řadě hybridních klonů, v opačném případě jsou geny přítomny na různých chromozomových fragmentech. K vyhodnocení dochází pomocí statistického výpočtu současné přítomnosti dvou genů v klonech somatických hybridů (Nussbaum et al., 2004).

3.4.1.4 Komparativní mapování

Pro toto mapování je využíváno speciálně upravené FISH metody, nazývané Zoo-FISH (Schertan et al., 1994). Hlavním rozdílem mezi těmito metodami je, že pro Zoo-FISH musíme použít heterologní sondy s dvakrát více koncentrovanou DNA a dvakrát delší čas hybridizace (Chowdhary a Raudsepp, 2001). Primárním cílem této metody je přenos genetických informací z map, které obsahují mnoho zvířecích druhů na mapy, které jich mají minimum, a tím studium evoluce chromosomů a karyotypů (Ferguson-Smith a Trifonov, 2007). Pomocí této metody můžeme určovat mnoho vysoce konzervovaných homologií, což nám umožňuje určit QTL oblasti a následně určit kandidátní gen (Dvořáková, 2012).

3.4.2 QTL – Quantitative Trait Loci

Lokusy pro kvantitativní znaky jsou zjišťovány především proto, aby byly odhaleny úseky na chromozomu, které obsahují geny či genové sekvence ovlivňující ekonomicky významné kvantitativní znaky, jako je růst, příjem krmiva, kvalita masa, velikost vrhu a odolnost vůči nemocem (Rothschild et al., 2007). Jedná se o oblast na chromozomu, ve které se vyskytují geny ve vazbě, které ovlivňují kvantitativní znak. Jinak je možno je označit jako soubor genů, nebo jejich alel, které podmiňují fenotyp, který bývá biochemické nebo fyziologické povahy (Verner, 2007).

První studie QTL byla uvedena Anderssonem et al. (1994) a uvádí významný lokus na chromozomu 4, který způsobuje 20% fenotypovou odchylku pro břišní a hřbetní tuk. Pro znaky, které jsou dobře měřitelné, např. růst, jsou studie daleko lépe zaznamenané, než pro

znaky měřitelné obtížně, mezi něž patří kvalita jatečně upraveného trupu a kvalita masa. Některé analýzy se velmi těžce srovnávají, neboť pro ně bylo použito více druhů analýz a několik možných sad markerů (Rothschild a Ruvinsky, 2011).

Pro QTL znaky prasat existuje databáze, dostupná z <http://www.animalgenome.org/cgi-bin/QTLdb/SS/index> , kde jsou shromažďovány veškeré výsledky mapování QTL. Také zde najdeme tabulky, které srovnávají QTL data (Hu a Reecy, 2007). V této databázi můžeme momentálně najít 5621 prasečích QTL, které jsou přidruženy 546 různým znakům, zveřejněným ve 237 publikacích (Rothschild a Ruvinsky, 2011).

Ke studiu QTL znaků je nezbytně nutné mít podrobné genetické mapy založené na DNA markerech, díky nimž můžeme tyto znaky rozdělit na základě statisticky průkazných asociací daného markeru a fenotypové hodnoty jedince (Dvořáková, 2012).

3.4.3 Genetické markery

Genetické markery jsou využívány pro Marker assisted selection, které kombinuje tradiční postupy šlechtění a molekulární genetiku (Weisz et al., 2011). Urban (2008) dělí markery používané pro tyto účely takto:

1. Přímé markery, jinak také kandidátní geny – mohou být charakterizovány dvěma typy polymorfismů:
 - a) Funkční markery – příčinné mutace nalezené na základě např. komparativního mapování,
 - b) Přímé markery – polymorfismy DNA přímo v sekvenci genu.

2. Nepřímé markery, jinak také polymorfismy, které nemají přímý vliv na projev znaku, ale jsou ve vazbě s QTL. Z hlediska praktického využití je dělíme na dva typy:
 - a) LD markery – s QTL jsou ve vazbové nerovnováze,
 - b) LE markery – s QTL jsou ve vazbové rovnováze.

Detekce přímých markerů je nejsložitější. Souvislost se znaky se prokazuje velmi obtížně, a proto máme velmi málo příkladů. Výjimkou jsou vlastnosti, které jsou ovlivňovány pouze jedním genem (Andersson, 2001). LD markery jsou v dostatečně velké populaci velmi

blízko funkční mutaci. Tyto markery mohou být identifikovány pomocí kandidátních genů (Rothschild a Soller, 1997), nebo jemných přístupů mapování (Andersson, 2001). Odhalování LE markerů je nejjednodušší. Detekce probíhá pomocí plošného mapování genomu, založeného na použití plemenného křížení, nebo rozbořením polo-sourozeneckých rodin v rámci jednoho plemene. K odhalení většiny QTL středně velkého účinku vyžaduje tento postup pouze obecné genomové mapy (Dekkers, 2004).

Odlišnosti najdeme nejen u metod detekce, ale také ve způsobu aplikace do šlechtitelských programů. LD markery můžeme stejně jako přímé markery použít pro selekci na základě genotypu napříč populací, protože zde existuje pevná vazba mezi genotypem a fenotypem. Oproti tomu při použití LE markerů musíme u různých rodin počítat s rozdílností vazebných fází mezi markery a QTL (Dekkers, 2004).

Molekulární markery byly používány pro identifikaci lokusů, nebo oblastí na chromosomu, které působí na vlastnosti a kvantitativní znaky, jež jsou ovlivňovány jedním genem. Mezi tyto znaky řadíme také genetické poruchy, vady a vzhled. Pro účely detekce a aplikace QTL můžeme tyto znaky rozdělit do tří skupin:

1. Obvykle zaznamenávané znaky
2. Obtížně zaznamenatelné znaky (patří sem příjem krmiva, kvalita produktu)
3. Nezaznamenatelné znaky (odolnost vůči nemocem)

Každá z těchto skupin, má další tři podskupiny a to:

- i. Znaky zaznamenané na obou pohlavích
- ii. Znaky pohlavím omezené
- iii. Znaky, které jsou zaznamenány v pozdějším věku

Schopnost zaznamenat tyto QTL závisí na fenotypovém projevu a klesá od 1-3 a v rámci těchto skupin od i-iii. Potencionální pokrok při použití marker assisted selection, nebo genetic assisted selection můžeme očekávat největší u skupiny 3 a nejnižší u znaků skupiny 1, zejména pokud se jedná o znaky zaznamenávané na obou pohlavích (Meuwissen a Goddard, 1996).

3.4.4 Kandidátní geny

Kandidátními geny nazýváme takové geny, které se nachází v oblasti QTL a velmi výrazně ovlivňují určitou vlastnost. Ve výsledném fenotypu se projeví jejich produkty a podílí se také na fenotypové variabilitě. Jeho identifikace probíhá pomocí databáze pro modelová zvířata, kde podobný fenotyp již podlehl studii (Berg, 2006).

Vybíráme – li kandidátní gen, vycházíme z předpokladu, že pokud byl zaznamenán účinek genu u jednoho druhu savců, pak můžeme s pomocí komparativního mapování usuzovat na jeho účinek i u jiného druhu a také nám napomáhá známá fyziologická a biochemická funkce genu (Knoll, 1998).

Jedna užitková vlastnost může mít i více než 100 navrhovaných kandidátních genů, ale pouze zlomek z nich bude ve svazku s kvantitativním efektem v určené populaci (Soller a Andersson, 1998).

3.5 Metody používané v molekulární genetice

Jako první, publikoval svou metodu, nazývanou Southernův přenos, Edwin Southern v roce 1975. Tato metoda byla o dva roky později upravena a přejmenována na Northernův přenos. Tyto metody umožnily jako první možnost identifikovat specifické geny nebo transkripty pomocí hybridizace radioaktivně značených sond, které obsahují úsek DNA nebo RNA.

V roce 1983 byla poprvé představena polymerázová řetězová reakce (zkráceně PCR) Kerry Mullisem. Tato metoda nám, spolu s reverzně transkripční reakcí (RT), dává možnost rozeznání specifických RNA transkriptů.

V roce 1996 byl na trh uveden první přístroj pro real-time PCR s názvem 7700 od firmy AppliedBiosystems. Jde o nejpřesnější a nejcitlivější metodu pro detekci a kvantifikaci nukleových kyselin (Nesvadbová, 2012).

3.5.1 PCR – Polymerázová řetězová reakce

Polymerázová řetězová reakce nám umožňuje získat požadovanou a specifickou sekvenci DNA, aniž bychom ji předtím museli klonovat ve vektorech. Jejím základním principem je replikace nukleových kyselin. Pomocí DNA polymerázy navodíme cyklicky se opakující enzymovou syntézu nových řetězců, námi vybraných úseků, ve směru 5' \rightarrow 3'. Tyto úseky vymežíme pomocí primerů, které se vážou na protilehlé řetězce DNA a jejich 3' konce

směřují k sobě. Poté co k reakci přidáme DNA – polymerázu a nukleotidy, začne na obou matricových řetězcích protisměrně syntéza nových vláken.

K tomu, aby reakce proběhla úspěšně, potřebujeme odpovídající polymerázu. Ta musí být termostabilní, aby odolala teplotám, při nichž denaturuje DNA, což umožňuje, aby syntéza DNA probíhala opakovaně, v cyklech. Tyto polymerázy se získávají z termofilních mikroorganismů a jednou z nich je například Taq DNA – polymeráza.

Během polymerázové řetězové reakce se pravidelně střídají tři kroky, které závisí na teplotě reakční směsi. Během těchto kroků, se uskutečňují tři různé děje a každý z těchto dějů má odlišné požadavky na teplotu:

1. Denaturace dvouřetězcových molekul DNA – 94°C,
2. Připojení primerů k odděleným řetězcům DNA – 30-65°C,
3. Syntéza nových řetězců DNA prostřednictvím DNA polymerázy – 65-75°C.

Tato reakce probíhá v zařízení, které se nazývá termocykler. Zde si automaticky nastavíme program, který mění teplotu podle délky a výšky předepsané teploty a díky tomu se nám ve vzorku vytváří až miliarda kopií požadovaného úseku (Šmarda et al., 2005).

3.5.1.1 PCR-RFLP

Jedná se o jednu z úprav PCR, která se užívá pro určení cílové sekvence, většinou určitého genu, která obsahuje sekvenční polymorfismus. Pomocí této obměny PCR můžeme analyzovat jakýkoliv gen, v závislosti na volbě primerů. Tyto primery se připojují ke koncovým konzervovaným oblastem a sekvence se za přísných podmínek amplifikuje. Výsledkem jsou PCR produkty, které mají stejnou délku a jsou detekovány pomocí elektroforézy. Poté jsou pomocí restriční endonukleázy rozštěpeny a znovu nanесeny na elektroforézu k analýze. Typizovány jsou restričními spektry fragmentů amplifikované DNA (Šmarda et al., 2005).

Existuje velký počet bakteriálních restričních endonukleáz a každá z nich rozeznává různě dlouhé sekvence a štěpí DNA na různě dlouhé úseky. Toto štěpení probíhá podle různého pořadí bází a určité sekvence (Verner, 2007).

3.5.1.2 Real-time PCR

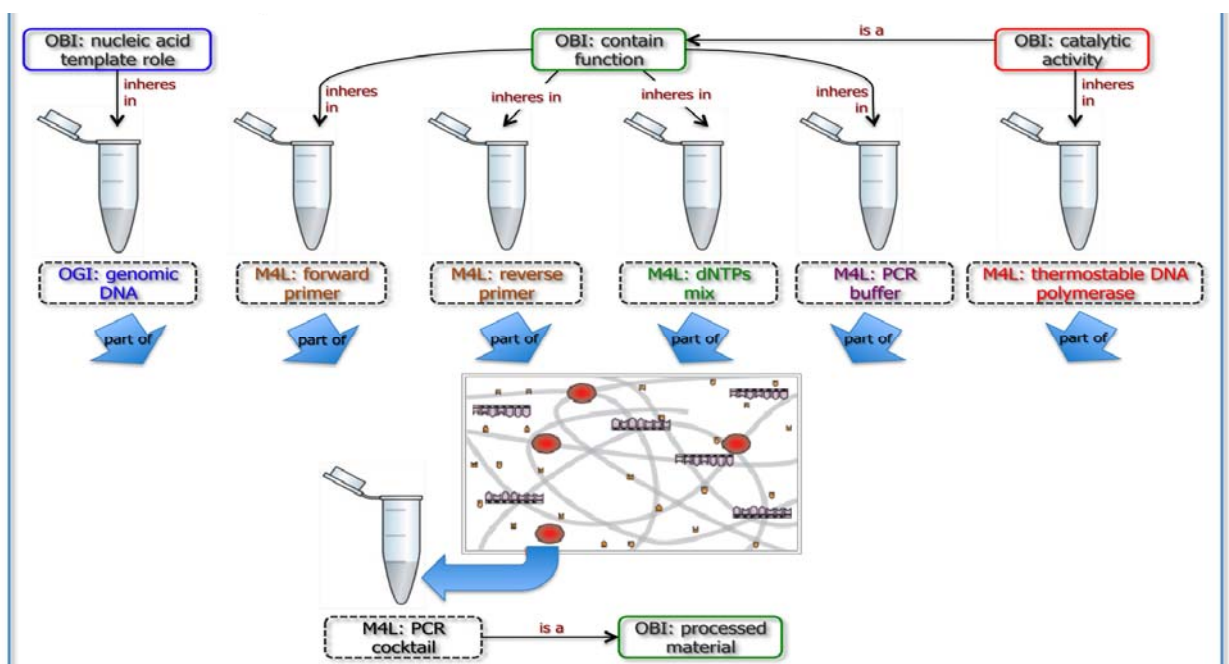
Tato metoda využívá fluorescenční informační molekuly ke sledování výroby produktů amplifikace během každého cyklu polymerázové řetězové reakce. Umožňuje tedy spojit amplifikaci DNA a detekci jednotlivých kroků do jednoho homogenního testu, čímž odpadá potřeba detekce produktu na gelové elektroforéze. Je to jednoduchá, citlivá a specifická metoda, pro kterou jsou neustále vyvíjeny nové chemikálie, přístroje a protokoly, což z ní dělá nejspolehlivější technologii pro detekci DNA.

Výsledkem této PCR metody je tzv. amplifikační křivka, která vzniká v průběhu reakce a zaznamenávána je vynesím naměřené fluorescence oproti pořadovému číslu určitého cyklu. Tato křivka má tři části:

1. Skrytá fáze – amplifikovaný produkt nedosahuje měřitelných hodnot.
2. Exponencionální fázi – nárůst množství detekovaného PCR produktu.
3. Plató fáze – již nedochází k nárůstu množství amplifikovaného produktu.

Z této křivky odvodíme počáteční množství templátových molekul a čím více jich je na počátku, tím dříve dosáhne křivka fluorescenčního prahového signálu. Nejdůležitější pro kvantifikaci s použitím real-time PCR je zaznamenání množství produktu během exponencionální fáze, protože jeho množství je přímo úměrné počátečnímu množství molekul pouze během této fáze. Dále je pro kvantifikaci, při které se používají matematické modely, důležité znát číslo cyklu - C_T hodnota, kdy měřená fluorescence překročí prahovou hodnotu

Obr. 2 – Vstupní komponenty potřebné pro PCR (dostupné z < <http://www.biotea.ws/node/15>>)



(Bustin, 2000).

3.5.2 Elektroforéza

Elektroforéza se řadí k jedné z nejpoužívanějších technik v molekulární biologii. Používá se k oddělení nukleových kyselin a proteinů. Pohybem nabitých molekul v elektrickém poli dochází k jejich separaci, přičemž hlavním nositelem náboje nukleových kyselin jsou záporně nabitě fosfátové skupiny a nukleové kyseliny se tedy pohybují směrem ke kladně nabitě anodě.

Pro účely molekulární biologie se používá gelová elektroforéza, kdy k pohybu částic nedochází přímo v roztoku, ale na vhodném nosiči, kterým je ve většině případů gel, jež je buď polyamidový, nebo agarózový. Tyto látky vytváří složitou síťovitou strukturu, jejíž hustotu však můžeme ovlivnit koncentrací polymeru.

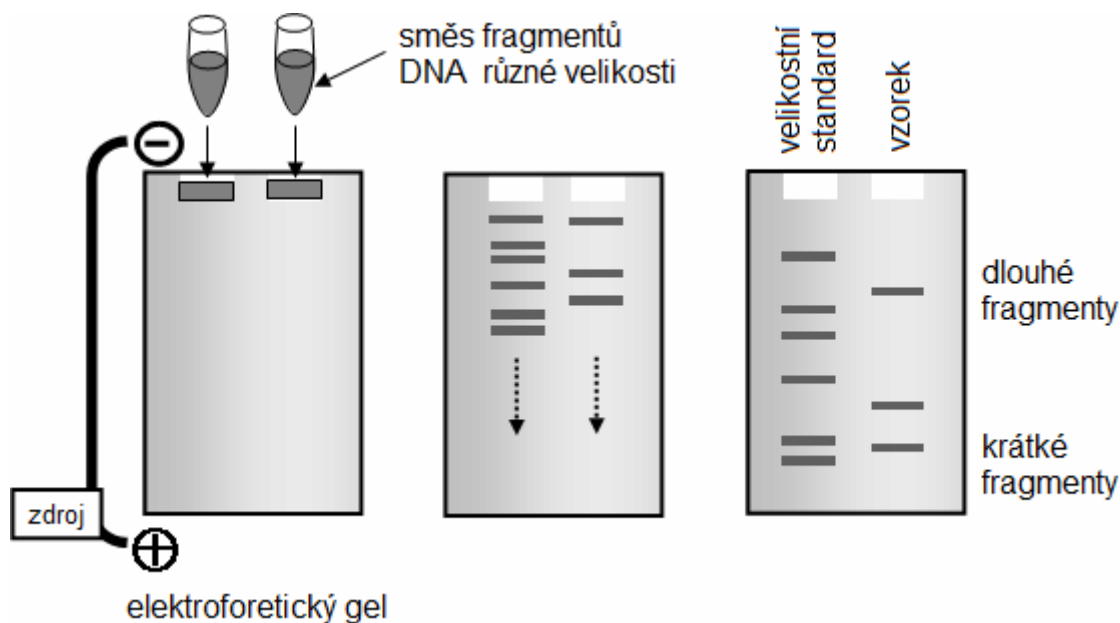
Pro molekuly o velikosti 100 bp až 50 kb používáme většinou gely agarózové, pro molekuly menší, tedy od 100 bp do 1000 bp jsou pak většinou užívány gely polyakrylamidové.

Dále můžeme gelovou elektroforézu dělit na vertikální a horizontální dle polohy gelu v elektroforéze a také na kapilární, u které se gel nachází uvnitř kapiláry (Šmarda et al., 2005).

Jako pufrů používáme pro elektroforézu TAE – pufr trisacetátový a TBE – pufr trisborátový. TAE je používanější avšak má nízkou pufráční kapacitu a proto je vhodnější pro delší fragmenty DNA.

Pro vizualizaci gelu se používá ethidiumbromidu, což je silný karcinogen a mutagen. Je to interkalační barvivo, které tvoří vazbu s DNA nebo RNA a po navázání na molekulu zvyšuje schopnost její fluorescence až 20x. Tuto fluorescenci můžeme poté detekovat po osvětlení ultrafialovým světlem (Verner, 2007).

Obr. 3 – Gelová elektroforéza (dostupné z < http://opvk2011.ptacisvet.cz/?title=popis_metod-gelova_elektroforeza&lang=cz>)



3.6 Přehled studovaných genů

Aktivace autonomních buněk během myogeneze v různých částech embrya je kontrolována sérií komplexních transkripčních regulačních drah, které vedou k expresi základních částí helix-loop-helix, jež obsahuje MRF – myogenní regulační faktory. Mezi myogenní faktory se řadí myogenní regulační faktor 5 – MYF 5, myogenní diferenační faktor 1 (MYOD 1, známý také jako MYOD), MYF 6, který se také nazývá MRF4 a myogenin (MYOG). Myogenní regulační faktory jsou zodpovědné, spolu s mnoha dalšími kofaktory pro řízení exprese genů, za řízení exprese genů potřebných pro tvorbu kontraktálních částí dospělého svalu (Bryson-Richardson a Currie, 2008).

MYOD geny patří k helix-loop-helix rodině proteinů a tato 68 amino kyselinová řada je nezbytná a zároveň postačující pro myogenezi. Vzhledem k tomu, že tyto geny mají vliv na regulaci svalových vláken, jsou považovány za možné kandidátní geny pro utváření svaloviny a kvalitu masa (Kratochvílová, 2011).

MYOD geny jsou vyjádřeny pouze v kosterní svalovině a jejich prekurzorech. V nesvalových buňkách jsou geny této rodiny potlačeny jinými specifickými geny. Geny rodiny MYOD jsou schopny aktivovat svoji vlastní transkripci, což může ustálit jejich vazbu k myogenezi (Weintraub et al., 1991).

Konečným výsledkem působení myogenních regulačních faktorů, je zaktivování signální dráhy, která je nezbytná pro nastartování diferenciacce buněk a vznik svalové tkáně (Brameld et al., 2010).

V embryu se jako první vyjadřují geny MYF5 a MYOD1. Ty mají zásadní vliv na proliferační fázi myoblastů. Poté se vyjadřují MYOG a MYF6, které naopak ovlivňují konečnou fázi diferenciaci a zrání svalových vláken (Wyszynska-Koko a Kuryl, 2004). Gen MYF6 je vyjádřen zejména v buňkách organismu po jeho narození, zatímco nulový výskyt genů MYF5, MYOD1 a MYOG neměl žádný vliv na postnatální diferenciaci svalů a jsou vyjádřeny zejména v buňkách satelitních (Bryson-Richardson a Currie, 2008).

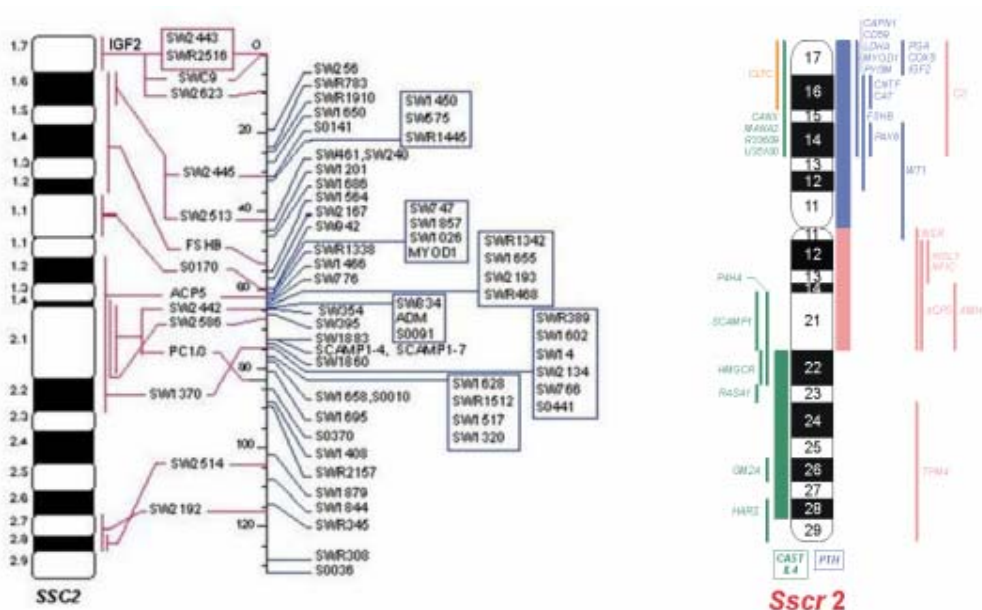
3.6.1 MYOD1

Gen MYOD1 je první z rodiny genů MYOD, který byl izolován a osekvenován. Tento gen se skládá z 318 aminokyselin, které se navzájem spojují do svalově specifických zesilovačů transkripce, nazývaných enhancery. Jeho produktem je myogenní bHLH protein, který funguje jako transkripční faktor a pod jeho vlivem jsou aktivovány svalově specifické geny (Braun et al., 1989). Vlivem exprese tohoto genu je inhibován buněčný cyklus a dochází k proliferaci myoblastů, čímž je umožněna diferenciaci myoblastů a jejich utváření do svalových vláken (Kitzman et al., 1998).

U prasat byl izolován a osekvenován v roce 1995 (Chang et al., 1995). Poté Knoll et al. 1997, navrhli podle této sekvence fragment dlouhý 998 bp a v jeho intronu 1 poté detekovali polymorfismus, k čemuž použili restriční endonukleázu Dde1.

Soumilion et al. (1997) lokalizovali gen na chromozomu 2 a Čepica et al. (1999) uvádí oblast 2p1.4-1.7

Obr. 4 – Diagram prasečího chromozomu SSC2



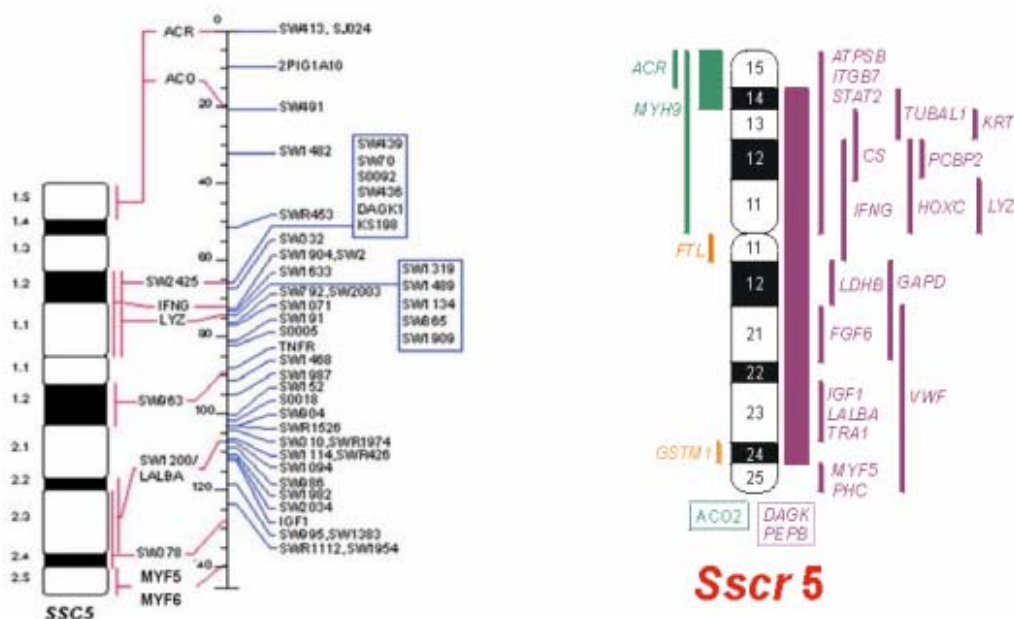
3.6.2 MYOG

Tento gen se jinak také nazývá myogenin. Jeho úlohou v organismu je řízení fúze myoblastů v myofibrily, jeho hlavní rolí je tedy diferenciací svalů (Hasty et al., 1993). Jeden z předpokladů je, že má vztah k proměnlivosti počtu utvářených svalových vláken, což vede k proměnlivosti množství svalů, a tím i k hmotnosti libové svaloviny na jatečně upraveném trupu (Soumilion et al., 1997). Expresí tohoto genu vede k omezení exprese genů MYOD1 a MYF5. Následkem tohoto jsou buňky vyřazeny z buněčného cyklu a nastává fúze do myofibril (Te Pas et al., 1996).

V roce 1993 byl poprvé zjištěn polymorfismus tohoto genu, kdy ho Ernst et al. (1993), pomocí restriční endonukleázy MspI rozštěpili na tři fragmenty. V roce 1996 byl objeven polymorfismus na 3' konci myogeninu a poté v roce 1999 byla u prasat plemene yorkshire zjištěna souvislost polymorfismu s hmotností při narození, rychlostí růstu, hmotností libové svaloviny ve 200 dnech a výškou hřbetního tuku (Te Pas et al. 1996, Verner, 2007). Zatímco Čepica et al (2003) neprokázali statistický vliv myogeninu na růst ani zmasilost, tak Te Pas et al. (1999a) uvedli 4% variace fenotypu pro hmotnost při narození, intenzitu růstu a hmotnost jatečného těla a 5,8% pro hmotnost libového masa.

Tento gen byl lokalizován na chromozomu 9 v oblasti 9q2.1-2.6 (Ernst et al., 1998)

Obr. 5 – Diagram prasečího chromozomu SSC9



3.6.3 MYF6

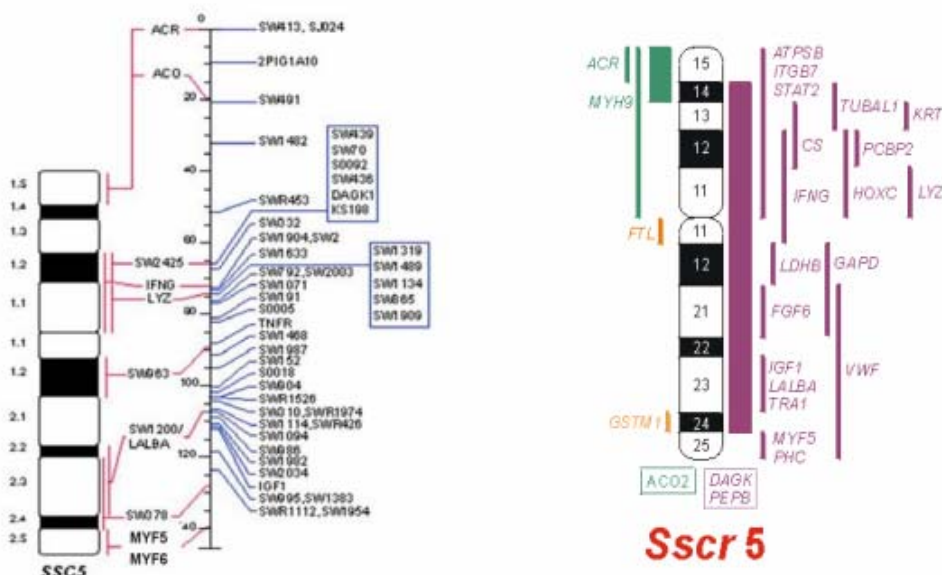
Olson et al. (1990) uvádí, že tento gen se projevuje zejména po narození organismu a jeho hlavní úlohou je udržování myofibril v diferencovaném stavu. Dále má také vliv na fúzi satelitních buněk s myofibrilami a podílí se i na regeneraci svalů. Je považován za kandidátní gen pro kvalitu masa (Zhou a Bornemann, 2001).

Expresí genu MYF6 probíhá ve dvou fázích. První část nastává brzy po expresi genu MYF5 v myoblastech. U druhé fáze se předpokládá, že má vliv na zrání vláken, zajišťuje nervosvalová spojení a vytrvá i po narození. Postnatálně je tento gen exprimován až 10x více než ostatní geny rodiny MYOD (Bober et al., 1991).

Kompletní sekvence genu byla popsána poprvé v roce 1991 Miner a Wold (1990) a skládá se ze tří exonů a dvou intronů. Poté Ernst et al. (1994) detekovali polymorfismus metodou RFLP restriční endonukleázou MspI na základě hybridizace s krysí cDNA. Vykoukalová et al. (2003) uvádí tři jedno nukleotidové polymorfismy v intronu 1, které byly zjištěny pomocí radiačního hybridního panelu. Amplifikace úseku genu MYF6, který zahrnoval exon 1, 2 a intron 1, proběhla pomocí primerů, které byly navrženy podle lidské sekvence spolu s myší mRNA a genomovou DNA. Wyszinská-Koko et al. (2006) zjistili na genu v oblasti promotoru a exonu 1 celkem tři polymorfismy. Tyto mutace však nemusí být příčinné, ale mohou být ve vazbě s jinými mutacemi ovlivňujícími myogenezi.

Gen MYF6 se nachází na chromosomu 5 v oblasti 5q2.5 v blízkosti genu MYF5 (Vykoukalová et al., 2003).

Obr. 6 – Diagram prasečího chromozomu SSC5



3.7 Další kandidátní geny pro masnou užitkovost

3.7.1 MYF5

MYF5 první z rodiny svalově regulačních faktorů, který byl exprimován in vivo v myoblastech. Je jako první, v po sobě jdoucí řadě těchto faktorů, vyjádřen během embryonálního vývoje ve svalových buňkách. Vlivem tohoto genu procházejí zárodečné svalové buňky nepřetržitým mitotickým dělením. Pod vlivem regulačních faktorů, mezi které patří i MYF5 a myogenin, dochází ke konečné diferenciaci svalových buněk (Braun et al., 1989, Te Pas a Wisner, 1994).

Při zjišťování polymorfismu tohoto genu byly detekovány tři mikrosatelity, z toho dva v oblasti promotoru a jeden v intronu tři, a dva polymorfismy, kdy byl gen štěpen pomocí restričních endonukleáz PvuII a HinfI (Te Pas et al., 1999b). Urbanski et al. (2006) poté zjistil na tomto genu tři nové mutace v oblasti promotoru. Jde o mutace A65C, C580T a C613T.

Soumilion et al. (1997) lokalizoval tento gen na chromozomu 5 a dle Čepice et al. (1999) se nachází v oblasti 5q2.5.

3.7.2 RYR1

Jedná se o jeden z nejdůležitějších příčinných genů u prasat, dříve známý jako HAL (Dvořáková, 2012). Gen ryanodinového receptoru způsobuje, v případě že je v genomu zvířete autozomální recesivní alela, prasečí stresový syndrom (Mitchell a Heffron, 1982). Zvířata s homozygotně recesivním genotypem mají na jednu stranu vyšší obsah svaloviny v JUT, ale oproti tomu mají nižší kvalitu masa u něhož se často vyskytuje vada PSE (Webb et al., 1982).

Fuji et al., 1991 našli jednobodovou mutaci, která je ve vztahu s maligní hypertemií prasat. Změny v genu RYR1 působí na membránu svalu a následkem je, že při odezvě na stres dochází ke zvýšenému uvolňování iontů Ca^{2+} (Gronert et al., 1986).

Fidler et al. (1999) uvádí, že prasata s genotypem NN, měli daleko méně pomalých oxidativních vláken než prasata s genotypem nn a naopak více rychlých glykolytických vláken. Homozygotně dominantní jedinci pak také mají vyšší počet svalových vláken na $1mm^2$ než jedinci heterozygotní nebo recesivně homozygotní (Klosowska et al., 2004).

Gen RYR1 je lokalizován na chromozomu 6 v oblasti 6p11-q21 (Fuji et al. 1991).

3.7.3 IGF2

Gen IGF2, nazývaný také inzulinu podobný růstový faktor patří do rodiny genů IGF (Allan et al., 2001). Tento gen, je považován za kandidátní pro masnou užitkovost a plodnost. Nové výzkumy také zvažují možnou souvislost s obsahem libového masa a konverzí krmiva. Tato rodina genů patří k peptidům stimulujícím růst, se stejnou strukturou a podobnou biologickou funkcí jako inzulin (Gerrard et al., 1998).

IGF2 reguluje proliferaci a diferenciaci myoblastů a je velmi důležitý pro myogenezi po narození organismu (Magri et al., 1994; Van Laere et al., 2003). Tvoří ho deset exonů a devět intronů a nachází se na chromozomu 2 v oblasti 2p1.7 (Jeon et al., 1999; Nezer et al., 1999).

Van Laere et al. (2003) objevili mutaci na intronu 3. Tato mutace ovlivňuje růst svalů, uložení tuku a velikost srdce. Prasata, která tuto mutaci zdědí po otci, mají po narození zvýšenou expresi mRNA IGF2 genu, což naznačuje, že se jedná o příčinný nukleotid QTN znaku. Dále se u tohoto genu běžně testuje mutace na intronu 7 (Verner, 2007).

3.7.4 GDF8

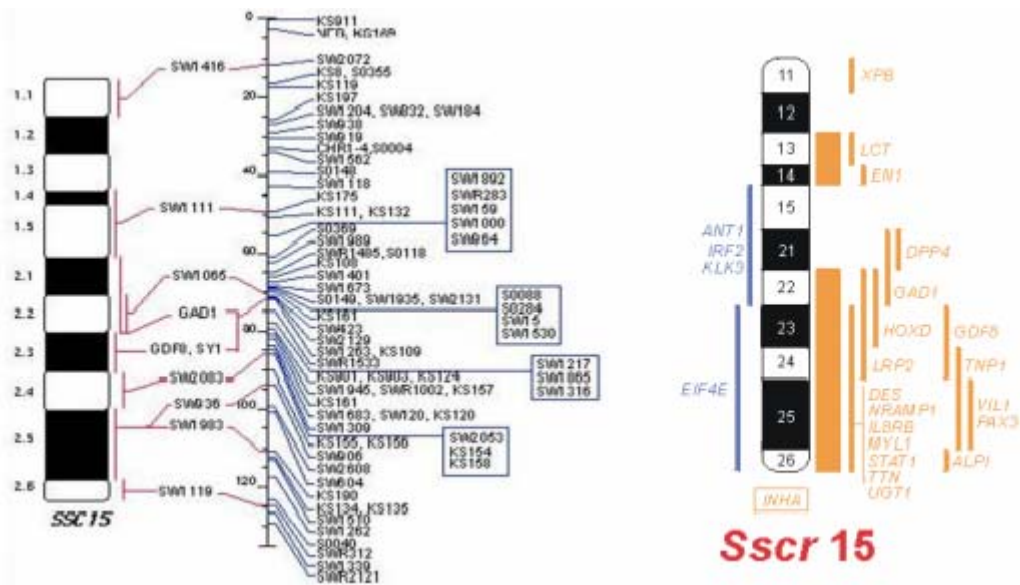
Tento gen patří do super rodiny genů TGF- β a je nepostradatelný pro růst svalů a jejich vývoj. Blokuje funkci myogeninu a zamezuje tím tvorbě dalších svalových myofibril v embryu, a tím tedy omezuje růst kosterní svaloviny (McPherron et al., 1997).

Na počátku embryogeneze působí exprese tohoto genu pouze na myotomy vyvíjejících se somitů. Ke konci embryogeneze a dospělých jedinců je pak exprimován do různých svalových tkání celého těla (Verner, 2007).

Na exonu 3 byla u skotu popsána mutace u plemene belgické modré. Tato mutace je způsobena jedenáctinásobnou nukleotidovou delecí, která způsobuje dvojitě osvalení u tohoto plemene (McPherron a Lee, 1997). V oblasti promotoru byla zjištěna mutace a posléze u plemene yorkshire souvislost s hmotností při narození. Předpokládá se tedy že by tato mutace mohla být genetickým markerem QTL pro procento libové svaloviny (Li et al., 2002)

Gen myostatinu se nachází na chromozomu 15 v oblasti 15q2.3-2.4 (Pinton et al., 2000).

Obr. 7 – Gen prasečího chromozomu SSC15



www.animalgenome.org,INRA

4 Metodika a materiál

Studie probíhala v testacní stanici Ploskov, která patří pod katedru speciální zootechniky České zemědělské univerzity. Zahrnovala 216 prasat, z nichž bylo 144 kříženců (ČBUxČL)xPN a zbylých 72 kříženců (ČBUxČL)x(PNxBO).

Studie zahrnovala tři po sobě jdoucí testy. Během každého testu bylo naskladněno 72 zvířat vyrovnaného pohlaví, jejichž průměrná živá hmotnost byla 25 kg. Tato zvířata byla po naskladnění ustájena v kotcích po dvou kusech. Zvířata byla krmena ad-libidně ve třech fázích s kontinuálním přechodem a potřeba živin byla dodržována dle Šimeček et al., 2000).

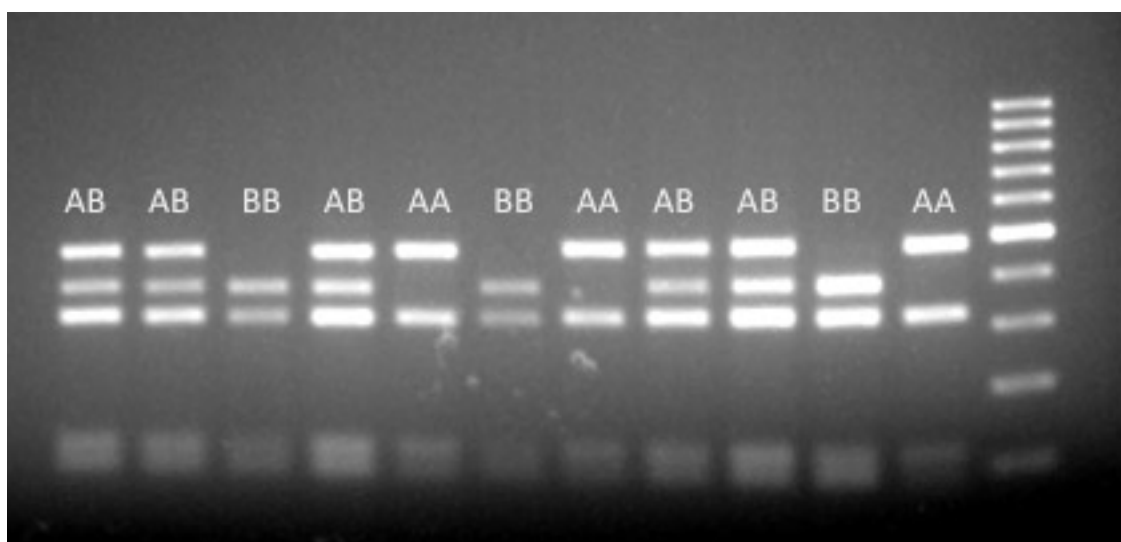
Porážková hmotnost zvířat byla v průměru 123 kg a druhý den byl proveden jatečný rozbor.

Stanovení polymorfismu vybraných genů

Krev byla odebírána během porážky zvířat do zkumavek, které obsahují K₂EDTA. Z krve byla izolována DNA pomocí proteinázové metody dle Nebola et al. (1994) a pomocí JET Quick (Blood and Cell Culture) DNA SpinKit - GENOMED. Poté byla skladována při -20°C. Polymorfismus genů byl poté zjišťován pomocí metody PCR-RFLP.

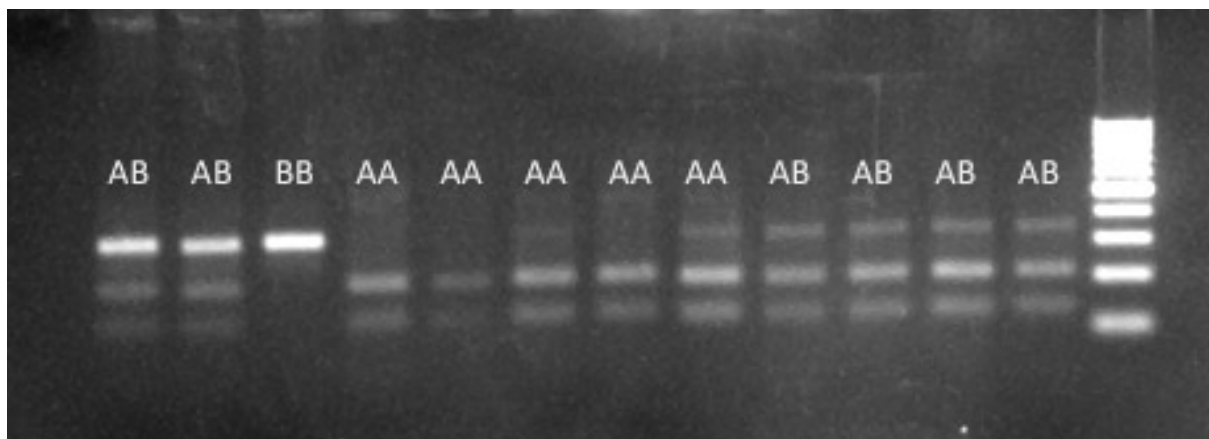
Polymorfismus genu MYOD1 byl stanovován dle Knoll et al. (1997). Amplifikovaný úsek genu má délku 998bp a obsahuje tři restrikční místa. Byl rozštěpen na čtyři části o délce 477, 317, 114 a 90bp. Alela A byla štěpena na čtyři fragmenty, které měly délku 477, 317, 114 a 90bp. Alela B obsahovala polymorfní štěpné místo pro restrikční endonukleázu DdeI a úsek o délce 477 bp byl štěpen na fragmenty o délce 385 a 92 bp.

Obr. 8 - Štěpení genu MYOD1 pomocí restrikční endonukleázy DdeI (Kratochvílová, 2012)



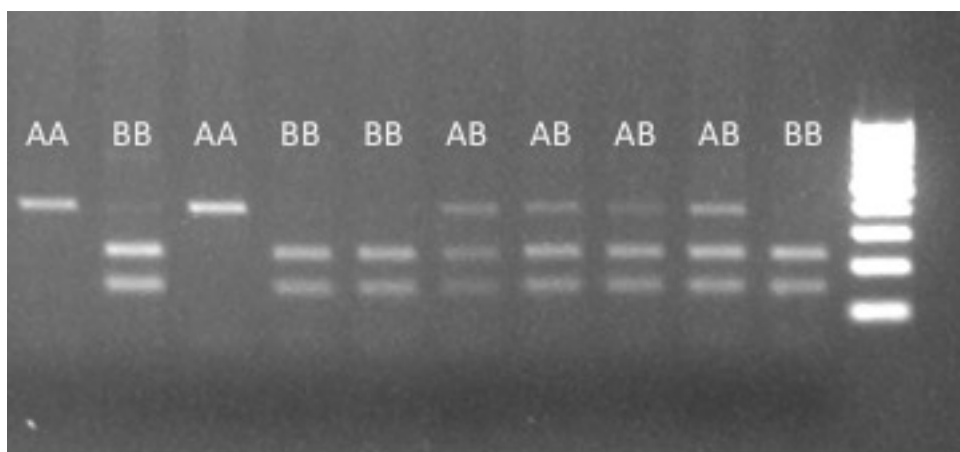
Polymorfismus genu MYOG byl stanovován dle metody Soumiliona et al. (1997). Získaný úsek měl délku 353 bp. Na alele A se nacházelo polymorfní štěpné místo pro restriční endonukleázu MspI a došlo k rozštěpení na dva fragmenty o délce 2019 a 134 bp. Oproti tomu alela B byla neštěpena a její délka zůstala na 353bp.

Obr. 9 - Štěpení genu MYOG pomocí restriční endonukleázy MspI (Kratochvílová, 2012)



Polymorfismus genu MYF6 byl stanoven dle metody Vykoukalové et al. (2003). Úsek o délce 379bp byl typický pro alelu A. Alela B pak obsahovala štěpné místo pro restriční endonukleázu BseRI, která úsek naštěpila na dva fragmenty o délce 216 a 163 bp.

Obr. 10 - Štěpení genu MYF6 pomocí restriční endonukleázy BseRI (Kratochvílová, 2012)



Stanovení základních charakteristik svalových vláken a zastoupení jednotlivých typů

Odebrané vzorky svaloviny byly získány ze svalů *m. longissimus lumborum et thoracis* (pečeně), *m. semimembranosus* (kýta), *m. cleidocephalicus* (krkovice) a *m. serratus ventralis* (plec). Velikost vzorků byla 0,5 x 0,5 x 2 cm. Vzorky byly označeny a zmraženy v tekutém dusíku. Než byly vzorky analyzovány, byly uloženy v hluboko mrazícím boxe při teplotě -80°C.

Pro vlastní analýzu bylo nutné nařezat vzorky svalů napříč svalovými vlákny na plátky silné 10 μ m. K tomuto byl použit kryostat Leica, ve kterém krájení pobíhalo při teplotě -20°C. Tyto řezy byly posléze fixovány na podložním sklíčku. Abychom mohli stanovit plochu řezu svalového vlákna, jeho diametr a počet vláken na 0,5mm², byla použita metoda barvení pomocí Hematoxilinu a Eozinu. Tyto základní charakteristiky byly stanoveny pro všechny 4 výše uvedené svaly.

Pro identifikaci typů svalových vláken ve vyhodnocovaném vzorku svaloviny, byla použita metoda klasifikace svalových vláken dle Brooke a Keiser (1970). Poté byl vytvořen trvalý histologický preparát. Typy svalových vláken byly stanovovány ve svalech *m. longissimus lumborum et thoracis*, *m. semimembranosus* (n=432).

Snímky preparátu byly pořízeny pomocí optického mikroskopu s fotoaparátem (CAMEDIA-5060, OLYMPUS). Tyto snímky byly posléze vyhodnoceny pomocí programu obrazové analýzy NIS-Elements.

Byly získány následující ukazatele:

- počet vláken na 0,5mm² plochy,
- průměrný diametr svalového vlákna v μ m,
- průměrná plocha řezu svalového vlákna v μ m,
- podíl vláken typu I z celkového počtu vláken na 0,5 mm² v %,
- průměrný diametr svalových vláken typu I v μ m²,
- podíl vláken typu II z celkového počtu vláken na 0,5mm² v %,

- průměrný průměr svalových vláken typu II v μm ,
- průměrná plocha řezu svalových vláken typu II v μm^2 ,
- podíl vláken typu IIA z celkového počtu vláken na $0,5\text{mm}^2$,
- průměrný průměr svalových vláken typu IIA v μm ,
- průměrná plocha řezu svalových vláken typu IIA v μm^2 ,
- podíl vláken typu IIB z celkového počtu vláken na $0,5\text{mm}^2$,
- průměrný průměr svalových vláken typu IIB v μm ,
- průměrná plocha řezu svalových vláken typu IIB v μm^2

Statistické zpracování výsledků pomocí programu SAS

Pro statistické vyhodnocení výsledků byl použit program SAS, který využívá statisticko-matematické metody.

Pro výpočet hodnot (N), průměrů (Mean), směrodatných odchylek (Std Dev) a minimálních (Minimum) a maximálních (Maximum) hodnot sledovaných znaků byla použita procedura MEANS. Dále byla data analyzována pomocí procedury GLM, která využívá lineární model s pevnými efekty hybridní kombinace, pohlaví, partie a vlivu genů rodiny MYOD. Tabulka 1 uvádí průměry, směrodatné odchylky, minima a maxima. Tabulka 2-12 uvádí výsledky GLM modelu LSMENS \pm střední chyba průměru a průkaznost rozdílu. Odlišnosti byly pak testovány Tukey testem v hladinách významnosti 0,001, 0,01 a 0,05.

Pro vyhodnocení vlivu hybridní kombinace, pohlaví, partie a vlivu genů rodiny MYOD byl použit model:

$$Y_{ijklmno} = \mu + a_i + b_j + c_k + d_l + e_{ijkl}$$

Kde:

μ – průměr populace,

a_i – pevný efekt pohlaví (vepřící, prasničky);

b_j – křížení [(ČBUxČL)xPN; (ČBUxČL)x(PNxBO)];

c_k – partie (pečeně, kýta),

d_l – pevný efekt genotypu genu - MYOG (AA, AB, BB),

- MYOD1 (AA, AB, BB),

- MYF6 (AA, AB, BB),

e_{ijkl} – reziduální chyba.

5 Výsledky

5.1 Soubor základních dat

Tabulka 3 uvádí průměrné hodnoty celého souboru sledovaných hodnot svalových vláken. Tyto hodnoty byly sledovány na histologickém řezu a u tohoto souboru dat není brán ohled na polymorfismus vybraných sledovaných genů.

V průměru bylo zjištěno 89,56 ks vláken na 0,5 mm², jejichž průměrná plocha byla 4733,00 μm² a diametr 74,47 μm. Nejméně vláken bylo nalezeno u typu IIA a to 3,64 na 0,5 mm². Tato vlákna měla zároveň v průměru nejmenší naměřenou plochu (2028,00 μm²) a diametr (49,53 μm). Naproti tomu nejvíce vláken jsme našli u typu IIB jejichž počet byl v průměru 77,14 na 0,5 mm². Největší naměřená plocha byla u vláken typu II (4635 μm²), která měla zároveň největší naměřený diametr (73,71 μm).

Tab. 3 - Základní charakteristiky svalových vláken u celého souboru

	N	Mean	Std Dev	Minimální hodnota	Maximální hodnota
Počet na 0,5mm ² plochy	11009	89,56	26,11	43,00	202,00
Průměrný obvod v μm	8939	272,21	93,83	54,07	990,87
Průměrný diametr v μm	11009	74,47	21,91	16,16	148,40
Průměrná plocha řezu v μm ²	11009	4733,00	2683,00	205,11	17297,00
Počet vláken typu I na 0,5mm ² plochy	6707	10,26	5,80	1,00	22,00
Podíl vláken typu I v %	6707	11,67	6,13	1,05	26,83
Průměrný obvod typu I v μm	450	204,36	45,92	68,03	415,57
Průměrný diametr typu I v μm	783	62,49	13,64	20,15	115,09
Průměrná plocha řezu typu I v μm ²	783	3213,00	1345,00	318,80	10403,00
Počet vláken typu II na 0,5mm ² plochy	6707	77,04	16,91	43,00	135,00
Podíl vláken typu II v %	6707	88,33	6,13	73,17	98,95
Průměrný diametr typu II v μm	5924	73,71	21,64	16,16	148,40
Průměrná plocha řezu typu II v μm ²	5924	4635,00	2551,00	205,11	17297,00
Počet vláken typu IIA na 0,5mm ² plochy	4637	3,64	5,71	0,00	24,00
Podíl vláken typu IIA v %	4637	3,86	5,45	0,00	16,67
Průměrný obvod typu IIA v μm	179	172,29	44,12	67,04	351,43
Průměrný diametr vláken typu IIA v μm	179	49,53	11,38	20,91	76,82
Průměrná plocha řezu typu IIA v μm ²	179	2028,00	878,26	343,42	4634,00
Počet vláken typu IIB na 0,5mm ² plochy	4637	77,14	16,52	43,00	135,00
Podíl vláken typu IIB v %	4637	86,44	8,00	68,75	98,95
Průměrný obvod typu IIB v μm	4008	277,59	101,08	54,07	990,87
Průměrný diametr vláken typu IIB v μm	4008	73,38	22,19	16,16	148,40
Průměrný diametr vláken typu IIB v μm	4008	4616,00	2580,00	205,11	17297,00

5.2 Vliv vybraných genů na zastoupení jednotlivých typů svalových vláken a jejich histologické charakteristiky

5.2.1 Gen MYOG

Tabulka 4 uvádí jednotlivé průměrné hodnoty sledovaných vlastností svalových vláken. Tato tabulka nerozlišuje jednotlivé typy vláken a uvádí hodnoty pro každý z genotypů genu MYOG.

Statisticky významné rozdíly byly zjištěny v počtu svalových vláken na 0,5 mm² u všech genotypů MYOG genu. Graf 1 tyto rozdíly znázorňuje. Největší počet vláken byl zjištěn u genotypu BB, nejmenší počet byl zjištěn u genotypu AA.

Graf 1 - Polymorfismus genu MYOG a jeho vliv na počet svalových vláken



Zvířata s genotypem AA tohoto genu, měla statisticky významně největší svalová vlákna. Tato velikost je dána plochou řezu a diametrem svalových vláken a u zvířat s tímto genotypem byly naměřené hodnoty 4173,02 μm^2 pro plochu řezu a 70,21 μm pro diametr. Nejmenší svalová vlákna pak měla zvířata s genotypem AB, v průměru 3699 μm^2 plochu řezu a 66,98 μm diametr.

Tabulka 5 znázorňuje rozdíly mezi jednotlivými genotypy daného genu a zároveň jsou svalová vlákna rozdělena podle typu I a II. Všechny zjištěné rozdíly byly pro nás statisticky významné a byly stanoveny pro všechny sledované vlastnosti svalových vláken.

Tab. 4 - Utváření svalových vláken pod vlivem genu MYOG

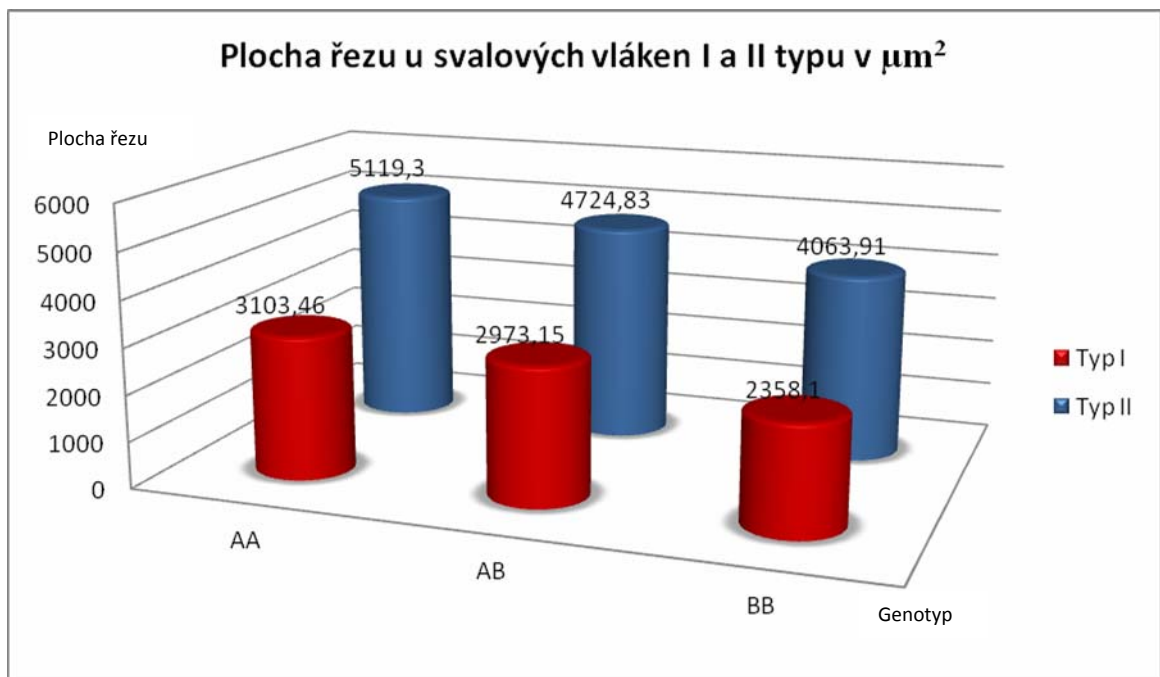
Genotyp	Počet na 0,5mm ²	Obvod v μm	Diametr v μm	Plocha řezu v μm^2
AA	104,47 ± 0,40	257,06 ± 2,06	70,21 ± 0,43	4173,02 ± 52,59
AB	108,14 ± 0,52	250,72 ± 2,65	66,98 ± 0,56	3699,66 ± 68,01
BB	110,79 ± 1,00	250,37 ± 4,69	67,84 ± 1,07	3934,68 ± 130,48
Hladina významnosti				
0,001	AA/AB; AA/BB		AA/AB	AA/AB
0,01	AB/BB	AA/AB		
0,05			AA/BB	

Tab. 5- Utváření svalových vláken I a II typu pod vlivem genu MYOG

Genotyp	Počet vl. typu I na 0,5mm ²	Podíl vl. typu I	Diametr typu I v μm	Plocha řezu typu I v μm^2
AA	9,81 ± 0,12	11,97 ± 0,12	61,23 ± 1,22	3103,46 ± 120,26
AB	7,47 ± 0,14	8,92 ± 0,15	60,45 ± 1,51	2973,15 ± 148,83
BB	14,02 ± 0,30	10,97 ± 0,31	53,53 ± 3,18	2358,10 ± 312,77
Hladina významnosti				
0,001	AA/AB; AA/BB; AB/BB	AA/AB; AB/BB		
0,01		AA/BB		
0,05			AA/BB; AB/BB	AA/BB
Genotyp				
	Počet vl. typu II na 0,5mm²	Podíl vl. typu II	Diametr typu II v μm	Plocha řezu typu II v μm^2
AA	68,81 ± 0,42	88,03 ± 0,12	78,24 ± 0,65	5119,30 ± 77,34
AB	74,84 ± 0,49	91,08 ± 0,15	75,21 ± 0,77	4724,83 ± 90,93
BB	98,53 ± 1,05	89,03 ± 0,31	68,87 ± 1,63	4063,91 ± 192,83
Hladina významnosti				
0,001	AA/AB; AA/BB; AB/BB	AA/AB; AB/BB	AA/AB; AA/BB; AB/BB	AA/AB; AA/BB; AB/BB
0,01		AA/BB		
0,05				

Statistický nejvyšší počet svalových vláken I a II typu byl nalezen u genotypu BB, ale tento genotyp měl zároveň nejmenší plochu řezu a diametr vláken. Oproti tomu zvířata s genotypem AA měla nejmenší počet vláken II typu, ale největší plochu i diametr u obou typů vláken. Genotyp AB měl pak nejmenší počet vláken typu I. Na grafu 2 můžeme vidět rozdílné plochy řezu u rozdílných genotypů a typů vláken.

Graf 2 - Polymorfismus genu MYOG a jeho vliv na plochu řezu svalových vláken typu I a II



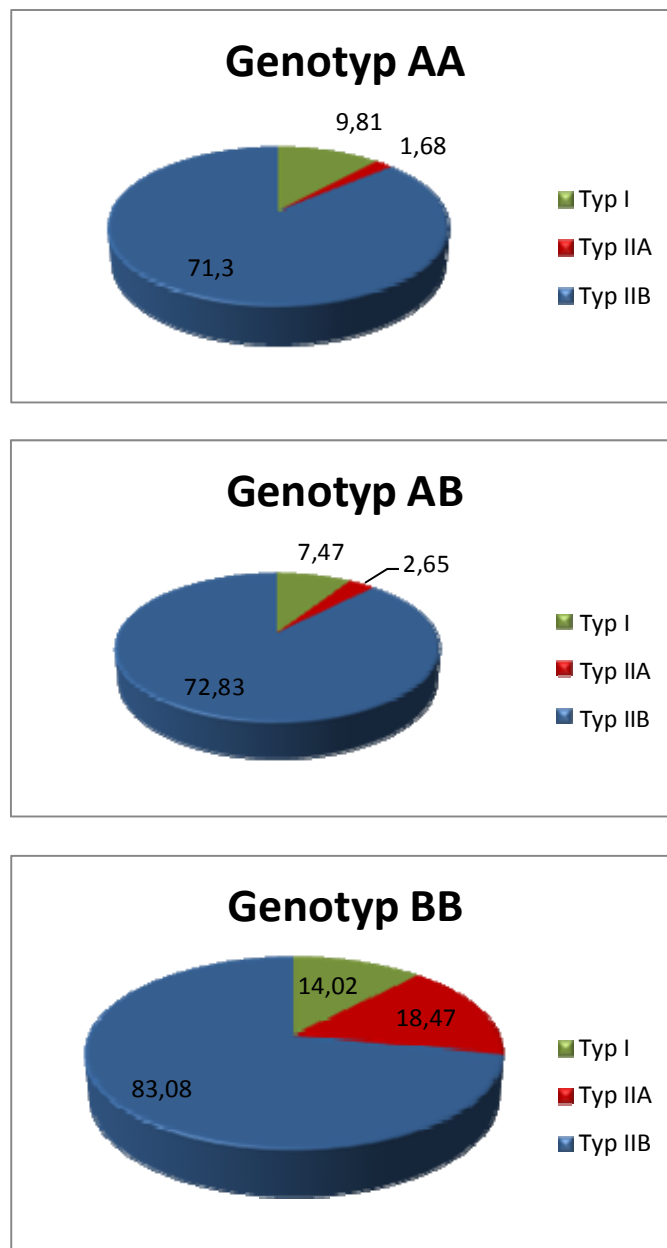
Tab. 6 - Utváření svalových vláken typu I, IIA a IIB pod vlivem genu MYOG

Typ I					
Genotyp	Počet vl. typu I na 0,5mm²	Podíl vl. typu I	Obvod typu I v μm	Diametr typu I v μm	Plocha řezu typu I v μm^2
AA	9,81 ± 0,12	11,97 ± 0,12	230,07 ± 6,50	61,23 ± 1,22	3103,46 ± 120,26
AB	7,47 ± 0,14	8,92 ± 0,15	230,77 ± 8,07	60,45 ± 1,51	2973,15 ± 148,83
BB	14,02 ± 0,30	10,97 ± 0,31	207,77 ± 11,64	53,53 ± 3,18	2358,10 ± 312,77
Hladina významnosti					
0,001	AA/AB;AA/BB;AB/BB	AA/AB;AB/BB			
0,01		AA/BB			
0,05			AA/BB;AB/BB	AA/BB;AB/BB	AA/BB
Typ IIA					
Genotyp	Počet vl. typu IIA na 0,5mm²	Podíl vl. typu IIA	Obvod typu IIA v μm	Diametr typu IIA v μm	Plocha řezu typu IIA v μm^2
AA	1,68 ± 0,18	2,20 ± 0,20	177,24 ± 11,04	51,77 ± 2,83	2170,80 ± 216,87
AB	2,65 ± 0,22	3,42 ± 0,24	160,46 ± 13,33	48,40 ± 3,42	1863,79 ± 261,94
BB	18,47 ± 0,34	14,69 ± 0,37	129,96 ± 14,00	40,39 ± 3,60	1308,19 ± 275,07
Hladina významnosti					
0,001	AA/AB;AA/BB;AB/BB	AA/AB;AA/BB;AB/BB	AA/BB	AA/BB	AA/BB
0,01					
0,05			AA/AB;AB/BB	AB/BB	AB/BB
Typ IIB					
Genotyp	Počet vl. typu IIB na 0,5mm²	Podíl vl. typu IIB	Obvod typu IIB v μm	Diametr typu IIB v μm	Plocha řezu typu IIB v μm^2
AA	71,30 ± 0,69	88,44 ± 0,27	284,91 ± 4,49	76,19 ± 0,99	4901,54 ± 114,91
AB	72,83 ± 0,83	90,07 ± 0,32	289,48 ± 5,39	75,91 ± 1,18	4856,52 ± 137,80
BB	83,08 ± 1,29	76,89 ± 0,50	276,12 ± 8,89	71,25 ± 1,95	4279,50 ± 227,42
Hladina významnosti					
0,001	AA/BB;AB/BB	AA/AB;AA/BB;AB/BB			
0,01	AA/AB			AA/BB	
0,05				AB/BB	AA/BB;AB/BB

Tabulka 6 popisuje rozdíly v jednotlivých genotypech, rozdělíme-li vlákna na typy I, IIA a IIB.

Nejmenší plocha řezu a diametr byl zjištěn u jedinců s genotypem BB. Tito jedinci měli ale zároveň nejvyšší počet svalových vláken typu I, IIA i IIB. Nejnižší počet vláken typu IIA a IIB byl stanoven u jedinců s genotypem AA, kteří měli zároveň největší plochu řezu a diametr u všech typů vláken. Různá zastoupení jednotlivých typů svalových vláken u jednotlivých genotypů znázorňují grafy 3-5.

Graf 3-5 - Zastoupení jednotlivých typů svalových vláken (I,IIA,IIB) u každého z genotypů



5.2.2 Gen MYOD1

Tabulka 7 uvádí jednotlivé průměrné hodnoty sledovaných vlastností svalových vláken. Tato tabulka nerozlišuje jednotlivé typy vláken a uvádí hodnoty pro každý z genotypů genu MYOD1.

Statisticky vysoce významný a zároveň nejvyšší počet svalových vláken, v průměru 113,43, byl zjištěn u zvířat s genotypem BB genu MYOD1. U tohoto genotypu byla zároveň prokázána nejmenší plocha řezu ($3702,94 \mu\text{m}^2$) a diametr ($66,29 \mu\text{m}$). Oproti tomu byl u genotypu AA tohoto genu zjištěn v průměru nejmenší počet svalových vláken, která měla ale naopak svalová vlákna největší jak v ploše řezu ($4531,13 \mu\text{m}^2$), tak v diametru ($73,26 \mu\text{m}$).

Tabulka 8 znázorňuje rozdíly mezi jednotlivými genotypy daného genu a zároveň jsou svalová vlákna rozdělena podle typu I a II. Všechny rozdíly byly pro nás statisticky významné a byly stanoveny pro všechny sledované vlastnosti svalových vláken.

Stejně jako u předchozí tabulky, byl i zde po rozdělení vláken na 2 typy zjištěn nejnižší počet vláken obou typů u genotypu AA genu MYOD1. Zároveň byla tato vlákna stejně jako v předchozí tabulce největší, a to jak z hlediska plochy řezu, tak diametru. Nejvyšší počet svalových vláken typu I (9,6), byl stanoven u genotypu AB. Tato vlákna měla nejmenší plochu řezu i diametr. U Genotypu BB byl zjištěn nejvyšší počet vláken typu II – 85,22. Vlákna měla však nejmenší plochu řezu i diametr.

Tab. 7 - Utváření svalových vláken pod vlivem genu MYOD1

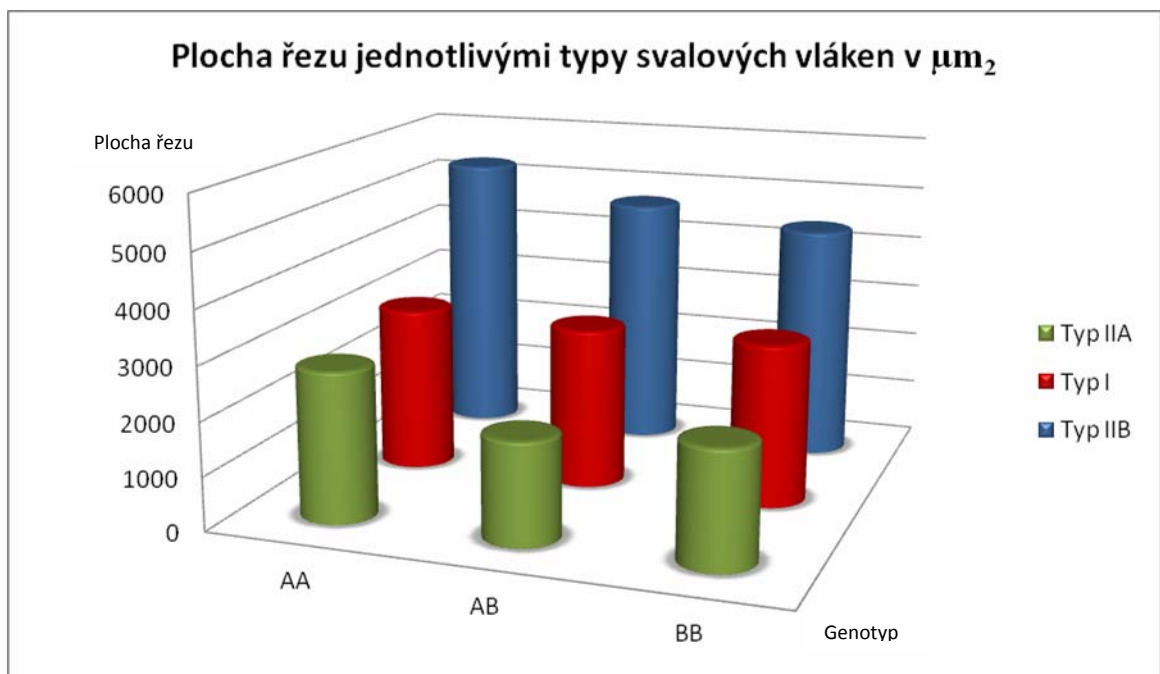
Genotyp	Počet na 0,5mm ²	Obvod v μm	Diametr v μm	Plocha řezu v μm ²
AA	97,29 ± 0,47	271,05 ± 2,47	73,26 ± 0,51	4531,19 ± 62,41
AB	105,41 ± 0,39	251,69 ± 1,99	69,02 ± 0,43	4015,84 ± 52,73
BB	113,43 ± 0,61	245,67 ± 3,37	66,29 ± 0,66	3702,94 ± 81,05
Hladina významnosti				
0,001	AA/AB; AA/BB; AB/BB	AA/AB; AA/AB	AA/AB; AA/BB; AB/BB	AA/AB; AA/BB; AB/BB
0,01				
0,05				

Tab. 8 - Utváření svalových vláken I a II typu pod vlivem genu MYOD1

Typ I				
Genotyp	Počet vl. typu I na 0,5mm ²	Podíl vl. typu I	Diametr typu I v μm	Plocha řezu typu I v μm ²
AA	9,20 ± 0,14	11,52 ± 0,14	61,06 ± 1,31	3080,13 ± 128,53
AB	9,60 ± 0,13	11,01 ± 0,13	60,24 ± 1,34	2996,35 ± 131,64
BB	9,53 ± 0,19	9,60 ± 0,19	60,97 ± 1,86	3029,16 ± 182,83
Hladina významnosti				
0,001	AA/AB; AA/BB; AB/BB			
0,01	AA/AB			
0,05				
Typ II				
Genotyp	Počet vl. typu II na 0,5mm ²	Podíl vl. typu II	Diametr typu II v μm	Plocha řezu typu II v μm ²
AA	67,98 ± 0,46	88,48 ± 0,14	79,86 ± 0,72	5299,65 ± 85,00
AB	73,47 ± 0,44	88,99 ± 0,13	75,59 ± 0,67	4801,57 ± 79,87
BB	85,22 ± 0,63	90,40 ± 0,19	70,95 ± 0,98	4253,25 ± 116,24
Hladina významnosti				
0,001	AA/AB; AA/BB; AB/BB	AA/AB; AA/BB; AB/BB	AA/AB; AA/BB; AB/BB	AA/AB; AA/BB; AB/BB
0,01				
0,05				

Poslední týkající se sledovaného genu, tabulka 9, uvádí vliv MYOD1 genu na utváření vláken typu I, IIA a IIB. Nejvyšší počet vláken typu I (9,60) a IIA (3,53) byl zjištěn u zvířat s genotypem AB. U genotypu BB byl pak zjištěn nejvyšší počet vláken typu IIB (93,52). Nejnižší počet všech tří typů byl stanoven u jedinců s genotypem AA, u kterých byla ale zároveň zjištěna největší plocha řezu i diametr. Tyto dvě hodnoty byly pak nejvyšší u vláken typu IIB. Graf 6 znázorňuje rozdílné plochy řezu u jednotlivých genotypů a typů svalových vláken.

Graf 6 – Polymorfismus genu MYOD1 a jeho vliv na velikost plochy jednotlivých typů svalových vláken



Tab. 9 - Utváření svalových vláken typu I, IIA a IIB pod vlivem genu MYOD1

Typ I					
Genotyp	Počet vl. typu I na 0,5mm²	Podíl vl. typu I	Obvod typu I v μm	Diametr typu I v μm	Plocha řezu typu I v μm^2
AA	9,20 ± 0,14	11,52 ± 0,14	245,34 ± 7,32	61,06 ± 1,31	3080,13 ± 128,53
AB	9,60 ± 0,13	11,01 ± 0,13	224,22 ± 6,44	60,24 ± 1,34	2996,35 ± 131,64
BB	9,53 ± 0,19	9,60 ± 0,19	258,48 ± 10,86	60,97 ± 1,86	3029,16 ± 182,83
Hladina významnosti					
0,001		AA/AB;AA/BB;AB/BB	AA/AB;AB/BB		
0,01	AA/AB				
0,05					
Typ IIA					
Genotyp	Počet vl. typu IIA na 0,5mm²	Podíl vl. typu IIA	Obvod typu IIA v μm	Diametr typu IIA v μm	Plocha řezu typu IIA v μm^2
AA	0,85 ± 0,28	1,57 ± 0,27	207,83 ± 12,70	59,90 ± 3,21	2798,37 ± 245,71
AB	3,53 ± 0,24	3,67 ± 0,23	163,31 ± 10,51	48,42 ± 2,66	1910,32 ± 203,37
BB	3,01 ± 0,39	3,56 ± 0,38	177,84 ± 15,06	51,52 ± 3,81	2173,44 ± 291,33
Hladina významnosti					
0,001	AA/AB; AA/BB	AA/AB; AA/BB	AA/AB	AA/AB	AA/AB
0,01			AA/BB	AA/BB	AA/BB
0,05					
Typ IIB					
Genotyp	Počet vl. typu IIB na 0,5mm²	Podíl vl. typu IIB	Obvod typu IIB v μm	Diametr typu IIB v μm	Plocha řezu typu IIB v μm^2
AA	69,23 ± 0,74	89,96 ± 0,34	297,39 ± 5,27	79,66 ± 1,15	5313,21 ± 134,17
AB	73,28 ± 0,64	87,30 ± 0,29	281,07 ± 4,51	74,63 ± 0,99	4711,60 ± 114,92
BB	93,52 ± 1,06	93,52 ± 1,06	274,12 ± 7,51	71,76 ± 1,64	4419,35 ± 191,35
Hladina významnosti					
0,001	AA/AB; AA/BB; AB/BB	AA/AB; AB/BB	AA/AB; AB/BB	AA/AB; AB/BB	AA/AB; AB/BB
0,01					
0,05				AB/BB	

5.2.3 Gen MYF6

Tabulka 10 uvádí jednotlivé průměrné hodnoty sledovaných vlastností svalových vláken. Tato tabulka nerozlišuje jednotlivé typy vláken a uvádí hodnoty pro každý z genotypů genu MYF6. U zvířat s genotypem BB genu MYF6 byl zjištěn nejvyšší počet svalových vláken (104,20) a zároveň také nejmenší svalová vlákna. Tato vlákna měla nejmenší plochu řezu, která byla v průměru $3560,20 \mu\text{m}^2$ a také nejmenší diametr, který v průměru dosahoval hodnot $66,11 \mu\text{m}$. Oproti tomu nejnižší počet svalových vláken byl prokázán u zvířat s genotypem AA (95,28), avšak tato vlákna měla naproti tomu největší diametr, v průměru $70,88 \mu\text{m}^2$. Největší průměrnou plochu řezu jsme stanovili u genotypu AB a to $4149,04 \mu\text{m}^2$.

Tabulka 11 znázorňuje rozdíly mezi jednotlivými genotypy daného genu a zároveň jsou svalová vlákna rozdělena podle typu I a II. Všechny rozdíly byly zjištěny statisticky významné a byly stanoveny pro všechny sledované vlastnosti svalových vláken. Zde byl u jedinců s genotypem AA zjištěn nejnižší počet vláken typu II (11,9), ale oproti tomu nejvyšší počet vláken typu I (71,03). Tato vlákna mají v genotypu AA nejmenší plochu řezu ($2766,08 \mu\text{m}^2$) a diametr ($58,56 \mu\text{m}$). U genotypu AB byl pak zjištěn nejnižší počet vláken I typu (9,34) a nejvyšší počet vláken II typu (72,37). Tato vlákna měla zároveň největší průměrnou plochu řezu ($4955,93 \mu\text{m}^2$) a diametr ($76,92 \mu\text{m}$). Největší plocha řezu ($3321,54 \mu\text{m}^2$) a diametr ($62,92 \mu\text{m}$) u vláken typu I byl zjištěn pro genotyp BB a v tomto genotypu byla zároveň zjištěna nejmenší plocha řezu a diametr ($4472,22 \mu\text{m}^2$; $73,15 \mu\text{m}^2$) pro svalová vlákna II typu.

Poslední tabulka k tomuto genu, tabulka 12 uvádí vliv MYF6 genu na utváření vláken typu I, IIA a IIB. Genotyp BB genu MYF6 nebyl v souboru zvířat zjištěn žádný. U zvířat s genotypem AA nebyla nalezena žádná vlákna typu IIA a zvířata s genotypem BB měla pouze vlákna typu I. Vlákna typu IIA byla tedy nalezena pouze u jedinců s genotypem AB. Nejvyšší počet vláken typu I (11,09) měli jedinci s genotypem AA, kteří měli zároveň nejmenší plochu řezu ($2766,08 \mu\text{m}^2$) a diametr ($58,56 \mu\text{m}$). Nejnižší počet vláken typu I (9,34) měli jedinci s genotypem AB. Největší plochu řezu ($3321,54 \mu\text{m}^2$) a diametr ($62,92 \mu\text{m}$) u vláken I typu jsme zjistili u jedinců s genotypem BB. Vlákna typu IIB bylo zjištěno v průměru více (72,51) u genotypu AB než u genotypu AA (67,01). Oproti tomu byla u genotypu AA zjištěna větší plocha řezu ($5333,04 \mu\text{m}^2$) a diametr ($79,83 \mu\text{m}$).

Počet jednotlivých typů svalových vláken u jednotlivých genotypů pak znázorňuje graf 7.

Tab. 10 - Utváření svalových vláken pod vlivem genu MYF6

Genotyp	Počet na 0,5mm ²	Obvod v μm	Diametr v μm	Plocha řezu v μm ²
AA	95,25 ± 1,01	266,21 ± 5,25	70,88 ± 1,08	4129,43 ± 131,98
AB	103,60 ± 0,36	256,66 ± 1,81	70,09 ± 0,39	4149,04 ± 47,45
BB	104,20 ± 1,38	241,45 ± 10,78	66,11 ± 1,47	3560,20 ± 179,76
Hladina významnosti				
0,001	AA/AB; AA/BB			AB/BB
0,01			AA/BB; AB/BB	AA/BB
0,05	AA/BB			

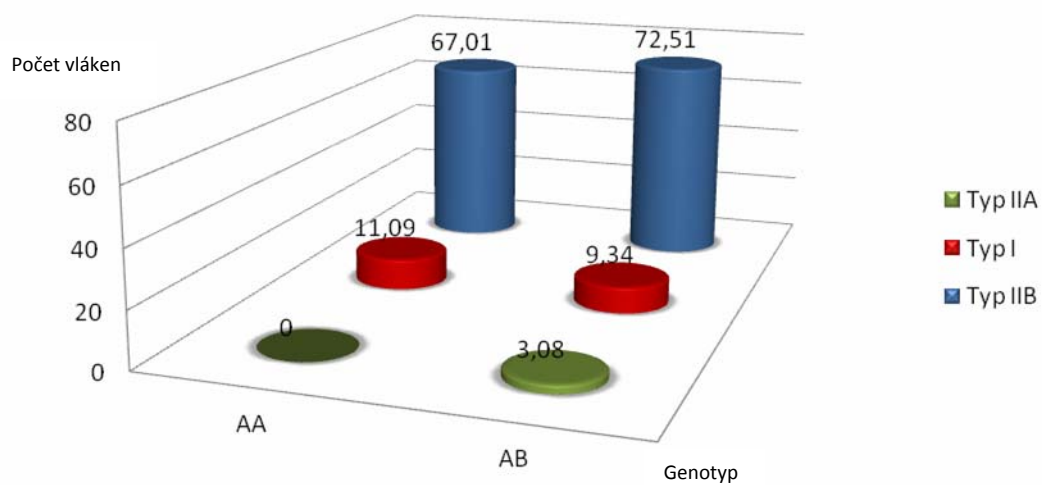
Tab. 11 - Utváření svalových vláken I a II typu pod vlivem genu MYF6

Typ I				
Genotyp	Počet vl. typu I na 0,5mm ²	Podíl vl. typu I	Diametr typu I v μm	Plocha řezu typu I v μm ²
AA	11,09 ± 0,29	12,29 ± 0,30	58,56 ± 2,65	2766,08 ± 260,54
AB	9,34 ± 0,12	11,01 ± 0,12	60,78 ± 1,20	3053,44 ± 118,49
BB	9,84 ± 0,37	11,40 ± 0,38	62,92 ± 3,05	3321,54 ± 299,93
Hladina významnosti				
0,001	AA/AB	AA/AB		
0,01				
0,05	AA/BB			
Typ II				
Genotyp	Počet vl. typu II na 0,5mm ²	Podíl vl. typu II	Diametr typu II v μm	Plocha řezu typu II v μm ²
AA	71,03 ± 1,03	87,71 ± 0,30	75,58 ± 1,52	4797,71 ± 179,45
AB	72,37 ± 0,42	88,99 ± 0,12	76,92 ± 0,62	4955,93 ± 73,82
BB	71,78 ± 1,32	88,60 ± 0,38	73,15 ± 1,97	4474,22 ± 233,19
Hladina významnosti				
0,001	AA/AB			
0,01				
0,05				AB/BB
				AB/BB

Tab. 12 - Utváření svalových vláken typu I, IIA a IIB pod vlivem genu MYF6

Typ I					
Genotyp	Počet vl. typu I na 0,5mm²	Podíl vl. typu I	Obvod typu I v μm	Diametr typu I v μm	Plocha řezu typu I v μm²
AA	11,09 ± 0,29	12,29 ± 0,30	243,02 ± 13,61	58,56 ± 2,65	2766,08 ± 260,54
AB	9,34 ± 0,12	11,01 ± 0,12	228,18 ± 6,50	60,78 ± 1,20	3053,44 ± 118,49
BB	9,84 ± 0,37	11,40 ± 0,38		62,92 ± 3,05	3321,54 ± 299,93
Hladina významnosti					
0,001	AA/AB	AA/AB	AA/AB		
0,01					
0,05	AA/BB				
Typ IIA					
Genotyp	Počet vl. typu IIA na 0,5mm²	Podíl vl. typu IIA	Obvod typu IIA v μm	Diametr typu IIA v μm	Plocha řezu typu IIA v μm²
AA					
AB	3,08 ± 0,24	3,35 ± 0,23	167,61 ± 11,49	49,50 ± 2,92	1995,03 ± 223,78
BB					
Hladina významnosti					
0,001					
0,01					
0,05					
Typ IIB					
Genotyp	Počet vl. typu IIB na 0,5mm²	Podíl vl. typu IIB	Obvod typu IIB v μm	Diametr typu IIB v μm	Plocha řezu typu IIB v μm²
AA	67,01 ± 1,47	92,20 ± 0,61	278,69 ± 9,37	79,83 ± 2,06	5333,04 ± 239,55
AB	72,51 ± 0,69	87,73 ± 0,29	285,43 ± 4,45	75,67 ± 0,98	4835,96 ± 113,81
BB					
Hladina významnosti					
0,001	AA/AB	AA/AB			
0,01					
0,05				AA/AB	AA/AB

Počet jednotlivých typů svalových vláken na 0,5 mm²



6 Diskuse

U genu MYOG se v naší studii ukázal být průměrně nejvyšší počet svalových vláken u jedinců s genotypem BB (110,79) a nejnižší počet měli jedinci s genotypem AA (104,47). V rozporu s naším výsledkem Jiusheng et al. (2009) uvádí nejvyšší počet svalových vláken u jedinců s genotypem AA, nejnižší pak u jedinců s genotypem BB genu MYOG. Klosowská et al. (2004) pak vůbec neuvádí jedince s genotypem AB, a rozdíl v počtu svalových vláken u jedinců s genotypem AA a BB je velmi malý. Urbánski et al. (2007) uvádí stejně jako Klosowská et al. (2004) pouze dva genotypy, ovšem rozdílně, a to genotyp AA a AB genu MYOG. Uvádí pak, že vyšší počet svalových vláken byl nalezen u genotypu AA oproti genotypu AB.

Velikost svalových vláken jsme zjistili největší u jedinců s genotypem AA a to jak na ploše řezu ($4173,02 \mu\text{m}^2$) tak v diametru ($70,21 \mu\text{m}$). Jedinci s genotypem AB v genu MYOG pak měli svalová vlákna nejmenší v obou hodnotách ($3699,66 \mu\text{m}^2$; $66,98 \mu\text{m}$). Jiusheng et al. (2009) uvádí shodně s našimi výsledky nejmenší plochu řezu i diametr svalových vláken u zvířat s genotypem AB, avšak rozchází se ve výsledcích týkajících se největší plochy řezu a diametru, kde na rozdíl od našich výsledků došel k závěru, že největší svalová vlákna v obou hodnotách mají jedinci s genotypem BB genu MYOG.

Poté co jsme svalová vlákna rozdělili na typy I, IIA a IIB, nám vyšel jejich nejvyšší počet opět u jedinců s genotypem BB. Stejně jako v předchozím, byla vlákna tohoto genotypu nejmenší v obou hodnotách. Nejnižší počet svalových vláken typu IIA a IIB byl zjištěn u genotypu AA a nejnižší počet svalových vláken typu I u genotypu AB. Oproti našemu zjištění, Klosowská et al. (2004) nezjistila žádné statisticky významné rozdíly v počtu svalových vláken mezi genotypy AA a BB.

V naší práci byl zjištěn nejvyšší počet svalových vláken typu IIB u všech genotypů. Shodně s naším zjištěním uvádí také Klosowská et al. (2004) nejvyšší počet vláken tohoto typu u obou genotypů.

U jedinců s genotypem BB genu MYOD byl nalezen statisticky vysoce významně nejvyšší počet svalových vláken (113,43). Oproti tomu nejnižší počet vláken měla zvířata s genotypem AA (97,29). V rozporu s naším zjištěním uvádí Klosowská et al. (2004) nejnižší

počet svalových vláken u jedinců s genotypem BB genu MYOD1 a nejvyšší počet vláken u genotypu AB.

Genotyp BB genu MYOD1 měl nejvíce svalových vláken, ovšem tato vlákna byla nejmenší jak v ploše řezu ($3702,94 \mu\text{m}^2$) tak v diametru ($66,29 \mu\text{m}$). Nejvyšších hodnot dosáhla zvířata s genotypem AA. Jejich plocha řezu byla v průměru ($4531,33 \mu\text{m}^2$) a diametr v průměru ($73,26 \mu\text{m}$). Urbánski et al. (2007) zjistil v rozporu s našimi výsledky statisticky významný rozdíl a největší svalová vlákna u genotypu BB. Tento výsledek pak zjistil u vláken typu IIA. Nejmenší svalová vlákna pak uvádí genotypu AB.

Statisticky nejvyšší počet svalových vláken typu I (9,60) a IIA (3,53) byl zjištěn u genotypu AB. Tento genotyp u těchto typů vláken s sebou zároveň nesl i nejmenší plochu řezu a diametr. Klosowská et al. (2004) zjistili nejvyšší podíl svalových vláken typu IIB u genotypu AB genu MYOD1 a jeho významný vliv na podíl těchto vláken ve svalu. Shodně s našimi výsledky uvádí nejvyšší počet svalových vláken typu I u genotypu AA. V rozporu s naším zjištěním pak uvádí nejvyšší podíl vláken typu IIA u genotypu BB.

U genu MYF6 byl zjištěn největší počet všech typů svalových vláken pro genotyp BB (104,20) a nejmenší počet pro genotyp AA (95,28). Genotyp BB měl zároveň s nejvyšším počtem, nejmenší vlákna jak v ploše řezu ($3560,20 \mu\text{m}^2$), tak v diametru ($66,11 \mu\text{m}$).

Vlákna typu IIA byla zjištěna pouze u genotypu AB. Genotyp BB byl pak zjištěn pouze u vláken typu I. Vlákna typu IIB pak měli pouze jedinci s genotypem AA a AB.

U tohoto genu žádný autor nezmiňuje významnou genetickou variabilitu, ani se jím blíže ve své práci nezabývá. Te Pas et al. (1999) uvádí, že tento gen nevysvětluje genetickou variabilitu mezi znaky masné užitkovosti prasat.

7 Závěr

Statisticky významný vliv genu MYOG byl stanoven u počtu svalových vláken, plochy řezu a diametru. Nejnižší počet svalových vláken, ale zároveň největší plochu řezu a diametr jsme zjistili u jedinců s genotypem AA. Nejvyšší počet svalových vláken byl pak prokázán u zvířat s genotypem BB.

U jednotlivých typů svalových vláken byl zjištěn statisticky významný vliv genu MYOG na počet jednotlivých typů, jejich podíl a velikost. Nejvíce svalových vláken I typu, která byla také nejmenší, jsme stanovili u jedinců s genotypem BB. Největší počet svalových vláken typu IIA, jsme našli rovněž u genotypu BB, i tato vlákna byla v porovnání s ostatními genotypy nejmenší. U stejného genotypu byl zjištěn nejvyšší počet i pro vlákna typu IIB. Genotyp BB genu MYOG s sebou tedy u zvířat nesl největší počet svalových vláken všech tří typů, ale také nejmenší svalová vlákna v porovnání s ostatními genotypy.

Statisticky významný rozdíl vlivu genotypů genu MYOD1 byl stanoven u počtu svalových vláken, plochy řezu a diametru. Nejnižší počet svalových vláken, ale zároveň největší plochu řezu a diametr jsme zjistili u jedinců s genotypem AA. Nejvyšší počet svalových vláken byl pak prokázán u zvířat s genotypem BB a tato zvířata měla také nejmenší svalová vlákna.

U svalových vláken typu I byly u genu MYOD1 zjištěny statistické rozdíly v počtu a podílu, u vláken typu IIA a IIB pak i ve velikosti. Nejvyšší počet a podíl a nejmenší velikost svalových vláken typu IIA byl zjištěn u genotypu AB, nejmenší počet, podíl a největší velikost těchto vláken byla stanovena u genotypu AA. Nejvyšší počet a podíl a nejmenší velikost svalových vláken typu IIB byl zjištěn u genotypu BB, nejmenší počet a největší velikost těchto vláken byla stanovena u genotypu AA.

Statisticky významný rozdíl genotypů genu MYF6 byl stanoven u průměrného počtu svalových vláken, průměrné plochy řezu a průměrného diametru. Nejvyšší počet vláken a zároveň nejmenší plochu řezu a diametr jsme stanovili u jedinců s genotypem BB.

Statisticky významný rozdíl u genotypů genu MYF6 byl také zjištěn pro počet a podíl svalových vláken typu I a IIB. U obou typů vláken byl zjištěn vyšší počet i podíl u genotypu AA, oproti genotypu AB.

Můžeme tedy potvrdit naši hypotézu, že existují vědecky významné asociace mezi genotypy vybraných kandidátních genů, tedy genů rodiny MyoD, u ukazatelů charakterizujících zastoupení jednotlivých typů svalových vláken a jejich charakteristik.

8 Seznam literatury

- Allan, G.J., Flint, D.J. 2001. Insulin-like growth factor axis during embryonic development. *Reproduction*. 122. 31-39.
- Andersson, L., Haley, C.S., Ellegren, H., Knott, S.A., Johansson, M., Andersson, K., Andersson-Eklund, L., Edfors-Lilja, I., Fredholm, M., Hansson, I. et al. 1994. Genetic mapping of quantitative trait loci for growth and fatness in pigs. *Science*. 263. 1771–1774.
- Andersson, L. 2001. Genetic dissection of phenotypic diversity in farm animals. *Nat. Rev. Genet.* 2. 130–138.
- Andresen, K. 1963. *A Study of Blood Groups of the Pig*. Munksgaard, Copenhagen.
- Archibald, A.L., Haley, C.S., Brown, J.F., Couperwhite, S., McQueen, H.A., Nicholson, D., Coppieters, W., Van De Weghe, A., Stratil, A., Wintero, A.K. et al. 1995. The PiGMaP consortium linkage map of the pig (*Sus scrofa*). *Mamm Genome*. 6. 157-175.
- Ashmore, C. R., Doerr, L. 1971. Comparative aspects of muscle fiber types in different species. *Experimental Neurology*. 31. 408-418.
- Berg, F. 2006. Genetic Analysis of fat metabolism in domestic pigs and their wild ancestor. *Acta Universitatis Upsaliensis. Digital Comprehensive Summaries of Uppsala Dissertations*. 164s. ISBN 91 554 6623
- Bogucka, J., Kapelanski, W., Elminowska-Wenda, G., Walasik, K., Lewandowska, K. L. 2008. Comparison of microstructural traits of *musculus longissimus lumborum* in wild boars, domestic pigs and wild boar/domestic pig hybrids. *Archiv tierzucht. Dummerstorf*. 51. 359-365.
- Bober, E., Lyons, G. E., Braun, T., Cossu, G., Buckingham, M., Arnold, A. A. 1991. The muscle regulatory gene, MYF-6, has a biphasic pattern of expression during early mouse development. *The Journal of Cell Biology*. 113. 1255-1265.
- Bulotiene, G., Jukna, V. 2008. The influence of muscle fibre area on pork quality. *Veterinarija ir zootechnika*. 42. 34-37
- Bustin, S.A. 2000. Absolute quantification of mRNA using the real-time reverse-transcription polymerase chain reaction. *Journal Biomol. Tech.* 15(3). 155-156.

- Brameld, J.M., Greenwood, P.L., Bell, A.W. 2010. Biological mechanism of fetal development relating to postnatal growth, efficiency and carcass characteristics in ruminants. *Managing the Prenatal Environment to Enhance Livestock Productivity*. Springer. Dordrecht. 39-120.
- Braun, T., Buschauen-Denker, G., Bober, E., Tannich, E., Arnold, H.H. 1989. A novel human muscle factor related to but distinct from MyoD1 induces myogenic conversion in 10T1/2 fibroblasts. *EMBO J.* 8. 701-709.
- Bryson-Richardson, R.J., Currie, P.D. 2008. The genetics of vertebrate myogenesis. *National Review Genetic.* 9(8). 632-646.
- Chang, K. Ch., Fernandes, K., Chantler, P. D. 1995. Cloning and in vivo expression of the pig MyoD gene. *Journal of Muscle Research and Cell Motility.* 16. 243-247.
- Choi, Y. M., Kim, B. C. 2009. Muscle fibre characteristics, myofibrillar protein isoforms, and meat quality. *Livestock Science.* 122. 105-118.
- Chowdhary, B.P. and Raudsepp, T. 2001. Chromosome painting in farm, pet and wild animal species. *Methods in Cell Science.* 23. 37-55.
- Čepica, S., Yerle, M., Stratil, A., Schroffel, J., Redl, B. 1999. Regional localization of porcine MYOD1, MYF5, LEP, UCP3 and LCN1 genes. *Animal Genetics.* 30. 467-468.
- Čepica, S., Schroffel, J., Stratil, A., Hojný, J., Pierzchala, M., Kuryl, J., Brunsch, C., Sternstein, I., Davoli, R., Fontanesi, L., Reiner, G., Bartenscelager, H., Moser, G., Geldermann, H. 2003. Linkage and QTL mapping for *Sus scrofa* chromosome 9. *Journal of Animal Breeding and Genetic.* 120. 74-81.
- Dekkers, J.C.M. 2004. Commercial application of marker and gene assisted selection in livestock: Strategies and lessons. *Journal of Animal Science.* 82. 313-328.
- Dvořáková, V. 2012. Analýza růstu a jatečné hodnoty moderních genotypů prasat ve vztahu k vybraným kandidátním genům. *Disertační práce. Česká zemědělská univerzita v Praze. Agronomická fakulta.* 202 s.
- Dwyer, C. M., Fletcher, J. M., Stickland, N. C. 1993. Muscle cellularity and postnatal growth in the pig. *Journal of Animal Science.* 71. 3339-3343.

- Dwyer, C. M., Stickland, N. C., Fletcher, J. M. 1994. The influence of maternal nutrition on muscle fiber development in the porcine fetus and on subsequent postnatal growth. *Journal of Animal Science*. 72. 911-917.
- Ernst, C. W., Vaske, D. A., Larson, R. G., Rothschild, M. F. 1993. MspI restriction fragment length polymorphism at the swine myogenin locus. *Journal of Animal Science*. 71. 3479.
- Ernst, C.W., Vaske, D.A., Larson, R.G., White, M.E., Rothschild, M.F. 1994. MspI restriction fragment length polymorphism at the swine MYF6 locus. *Journal of Animal Science*. 72. 799.
- Ernst, C. W., Mendez, E. A., Robic, A., Rothschild, M. 1998. Rapid communication: myogenin (MYOG) physically maps to porcine chromosome 9q2.1-q2.6. *Journal of Animal Science*. 76. 328.
- Ferguson-Smith, M.A. and Trifonov, V. 2007. Mammalian karyotype evolution. *Nature Reviews Genetics*. 8. 950-962.
- Fiedler, I., Ender, K., Wicke, M., Maak, S., Lengerken, G. V., Meyer, W. 1999. Structural and functional characteristics of muscle fibres in pigs with different malignant hyperthermia susceptibility (MHS) and different meat quality. *Meat Science*. 53. 9-15.
- Fiedler, I., Dietl, G., Rehfeldt, C., Wegner, J., Ender, K. 2004. Muscle fibre traits as additional selection criteria for muscle growth and meat quality in pigs – results of a simulated selection. *Journal of Animal Breeding and Genetics*. 121. 331-344.
- Fuji, J., Otsu, K., Zorzat, F., De Leon, S., Khanna, V.K., Weiler, J.E., O'Brien, P.J., MacLennan, D.H. 1991. Identification of a mutation in porcine ryanodine receptor associated with malignant hyperthermia. *Science*. 253. 448-451.
- Gazdová, V., Verner, J., Humpolíček, P. 2006. Genes of MyoD family in the meat production of pigs breed Czech Large White. *Acta fytotechnica et zootechnica*. Mimořádné číslo. 9-10.
- Gerrard, D.E., Okamura, C.S., Ranalletta, M.A.M., Grant, A.L. 1998. Developmental expression and location of IGF-I and IGF.II mRNA and protein in skeletal muscle. *Journal of Animal Science*. 76. 1006-1011.
- Gondret, F., Lefaucher, L., Loveau, I., Lebret, B., Pichodo, X., Le Cozler, Y. 2005. Influence of piglet birth weight on postnatal growth performance, tissue lipogenic capacity and muscle histological traits at market weight. *Livestock Production Science*. 93. 137-146.

- Gronert, G.A., Ahern, C.P., Milde, J.H., White, R.D. 1986. Effect of CO₂, Calcium, Digoxin and potassium on cardiac and skeletal muscle metabolism in malignant hyperthermia susceptible swine. *Anaesthesiology* 64. 24-28.
- Hasty, P., Bradley, A., Morris, J. H., Edmonson, D. G., Venuti, J. M., Olson, E. N., Klein, W. H. 1993. Muscle deficiency and neonatal death in mice with target mutation in the myogenin gene. *Nature*. 364. 501-506.
- Hu, X., Gao, Y., Feng, C., Liu, Q., Wang, X., Du, Z., Wang, Q., Li, N. 2009. Advanced technologies for genomic analysis in farm animals and its application for QTL mapping. *Genetica*. 136. 371–386.
- Hu, Z.L. and Reecy, J.M. 2007. Animal QTLdb: beyond a repository. A public platform for QTL comparisons and integration with diverse types of structural genomic information. *Mammalian Genome*. 18. 1-4.
- Jeon, J.T., Carlborg, O., Torsten, A., Giuffra, E., Amarger, V., Chardon, P., Andersson-Eklund, L., Andersson, K., Hansson, I., Lundstorm, K., Andersson, L. 1999. A paternally expressed QTL affecting skeletal and cardiac muscle mass in pigs maps to the IGF2 locus. *Nature Genetics*. 21. 157-158.
- Jishueng, W., Yuehuan, L., Ningying, X. 2009. Histological characteristics of *musculus longissimus dorsi* and their correlation with restriction fragment length polymorphism of the myogenin gene in Jinghua x Pietrain F2 crossbred pigs. *Meat Science*. 81. 108-115.
- Kitzmann, M., Carnac, G., Vandromme, M., Primig, M., Lamb, N. J. C. 1998. The muscle regulatory factors MyoD and Myf-5 undergo distinct cell cycle-specific expression in muscle cells. *Journal of Cell and Biology*. 142. 1447-1459.
- Klosowska, D., Kuryl, J., Elminowska-Wenda, G., Kapelanski, W., Walasik, K., Pierrzchala, M., Cieslak, D., Bogucka, J. 2004. A relationship between the PCR-RFLP polymorphism in porcine MYOG, MYOD1 and MYF5 genes and microstructural characteristics of *m. longissimus lumborum* in Pietrain x (Polish Large White x Polish Landrace) crosses. *Czech Journal of Animal Science*. 49. 99-107.
- Knoll, A., Nebola, M., Dvořák, J., Čepica, S. 1997. Detection of a DdeI PCR-RFLP within intron 1 of the porcine MYOD1 (MYF3) locus. *Animal Genetics*. 28. 321.

- Knoll, A. 1998. Detekce polymorfismu DNA ve vztahu k mapování QTL u prasat. DP. Mendelova univerzita v Brně. Agronomická fakulta. 117s.
- Kratochvílová, H. 2011. Charakteristika svalových vláken ve vztahu k jakostním abnormalitám masa a vybraným genetickým markerům. DP. Česká zemědělská univerzita v Praze. Agronomická fakulta. 101s.
- Larzul, C., Lefaucher, L., Ecolan, P., Gogue, J., Talmant, A., Sellier, P., Le Roy, P., Monin, G. 1997. Phenotypic and genetic parameters for *longissimus muscle* fiber characteristics in relation to growth, carcass, and meat quality traits in large white pigs. *Journal of Animal Science*. 75. 3126-3137.
- Lefaucheur, L., Edom, F., Ecolan, P., Butlerbrowne, G. S. 1995. Pattern of muscle fiber type formation in the pig. *Developmental Dynamics*. 203. 27-41.
- Li, N., Jiang, Y.L., Fan, X., Xiao, R.L. 2002. Associations of T-A mutation in the promoter region of myostatin gene with birth weight in Yorkshire pigs. *Asian-Australian Journal of Animal Science*. 15. 1543-1545.
- Magri, K.A., Benedict, M.R., Ewton, D.Z., Florini, J.R. 1994. Negative feedback-regulation of insulin-like growth factor-II gene-expression on differentiating myoblasts in-vitro. *Endocrinology*. 135.53-62.
- Malek, M., Dekkers, J.C.M., Lee, H.K., Baas, T.J., Rotchild, M.F. 2001. A molecular genome scans analysis to identify chromosomal regions influencing economic traits in the pig. I. Growth and body composition. *Mammalian Genome*. 12. 630-636.
- Marvan, F., Hampl, A., Hložánková, E., Kresan, J., Massanyi, L., Vernerová, E. 1992. Morfologie hospodářských zvířat. Česká zemědělská univerzita v Praze a Mendelova zemědělská a lesnická univerzita v Brně. 328s. ISBN 80-902-0226-0.
- McPherron, A.C., Lawler, A.M., Lee, S.J. 1997. Regulation of skeletal muscle mass in mice by a new TGF-beta superfamily member. *Nature*. 387. 83-90.
- McPherron, A.C., Lee, S.J. 1997. Double muscling in cattle due to mutations in the myostatin gene. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA*. 94. 12457-12461.

- Meuwissen, T. H. E., Goddard, M.E. 1996. The use of marker haplotypes in animal breeding schemes. *Genet. Select. Evol.* 28. 161–176.
- Miner, J.H., Wold, B. 1990. Herculin, a 4th member of the MyoD family of myogenic regulatory genes. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA.* 87. 1089-1093.
- Mitchell, G., Heffron, J. J. A. 1982. Porcine stress syndromes. *Advances in Food Research.* 28. 167-230.
- Nussbaum, L.R., McInnes, R.R., Willard, H. 2004. *Klinická genetika*. Vydání 6. Triton. 492s. ISBN 80-7254-475-6.
- Najbrt, R., Červený, Č., Kaman, J., Mikyska, E., Štraha, O., Štěrba, O. 1980. *Veterinární anatomie 1*. Statní zemědělské nakladatelství Praha. 524s.
- Nesvadbová, M. 2012. *Expres a variabilita genů ovlivňující růst a vývoj svalové tkáně u prasat*. DP. Mendelova univerzita v Brně. Agronomická fakulta. 139s.
- Nezer, C., Moreau, L., Brouwers, B., Coppeters, W., Detilleux, J., Hanset, R., Karim, L., Kvazs, A., Le Roy, P., Georges, M. 1999. An imprinted QTL with major effect on muscle mass and fat deposition maps to the IGF2 locus in pigs. *Nature Genetics.* 21. 155-156.
- Olson, E. 1990. MyoD family: a paradigm for development? *Genes Development.* 4. 1454-1461.
- Peter, J. B., Bainard, R. J., Edgerton, V. R., Gillespie, C. A., Stempel, K. E. 1972. Metabolic profiles of free fiber type of skeletal muscle in guinea pigs and rabbits. *Biochemistry.* 11. 2627-2633.
- Picard, B., Lefaucher, L., Berri, C., Duclos, M. J. 2002. Muscle fibre ontogenesis in farm animal species. *Reproduction Nutrition Development.* 42. 415-431.
- Pinton, P., Schibler, L., Crihiu, E., Gellin, J., Yerle, M. 2000. Localization of 113 anchor loci in pigs: improvement of the comparative map for humans, pigs, and goats. *Mammalian Genome.* 11. 306-315.
- Pipek, P., Pour, M. 1998. *Hodnocení jakosti živočišných produktů*. Česká zemědělská univerzita v Praze. 1. vyd. 139s. ISBN 80-213-0442-1.

- Scherthan, H., Cremer, T., Arnason, U., Weier, H.U., Lima-de-Faria, A. and Fronicke, L. 1994. Comparative chromosome painting disclose homologous segments in distantly related mammals. *Nature Genetics*. 6. 342–347.
- Rehfeldt, C., Stickland, N. C., Fiedler, I., Wegner, J. 1999. Environmental and genetic factors as sources of variation in skeletal muscle fibre number. *Basic and Applied Myology*. 9. 235-253.
- Rehfeldt, C., Fiedler, I., Dietl, G., Ender, K. 2000. Myogenesis and postnatal skeletal muscle cell growth as influenced by selection, *Livestock Production Science*. 66.177-188.
- Rehfeldt, C. 2005. Prenatal events that determine the number of muscle fibres are important for lean growth and meat quality in pigs. *Archiv Tierzucht, Dummerstorf*. 48 (Special Issue). 11-22.
- Rehfeldt, C., Kuhn, G. 2006. Consequences of birth weight for postnatal growth performance and carcass quality in pigs as related to myogenesis. *Journal of Animal Science*. 84 (E.Suppl.). E113-E123.
- Rehfeldt C., Mau M., Wimmers K. 2010. Regulatory Aspects of Fetal Growth and Muscle Development Relating to Postnatal Growth and Carcass Quality in Pigs. *Managing the Prenatal Environment to Enhance Livestock Productivity*. 203-244. ISBN 978-90-481-3134-1.
- Rothschild, M. F., and M. Soller. 1997. Candidate gene analysis to detect genes controlling traits of economic importance in domestic livestock. 8. 13-20.
- Rothschild, M.F., Hu, Z.L., Jiang, Z.H. 2007. Advances in QTL mapping in pigs. *International Journal of Biological Science*. 3. 192-197.
- Rothschild, M.F., Ruvinsky, A. 2011. *The genetics of the pig - 2nd Edition*. CAB International. 507s. ISBN-13: 978 1 84593 756 0
- Ryu, Y. C., Choi, Y. M., Lee, S. H., Shin, H. G., Choe, J. H. L., Kim, J.M., Hong, K. C, Kim, B. C. 2008. Comparing the histochemical characteristics and meat quality traits of different pig breeds. *Meat Science*. 80. 363-369.

- Soller, M., Andersson L. 1998. Genomics approaches to the improvement of disease resistance in farm animals. *Revue scientifique et technique*. 17. 329-345.
- Solomon, M. B., Campbell, R. G., Steele, N. C. 1990. Effect of sex and exogenous porcine somatotropin on longissimus muscle fiber characteristics of growing pigs. *Journal of Animal Science*. 68. 1176-1181.
- Soumilion, A., Erkens, J. H. F., Lenstra, J. A., Rettenberger, G., Te Pas, M.F.W. 1997. Genetic variation in the porcine myogenin gene locus. *Mammalian Genome*. 8. 564-568.
- Steinhauser L. et al. 2000. *Produkce masa*. Vydání 1. LAST. Brno. 464 s. ISBN 80 900260 7 9.
- Šmarda, J. 2005. *Metody molekulární biologie*. Masarykova univerzita v Brně. 188s. ISBN 97 880 21038 417
- Te Pas, M. F. W., Vissher, A. H. 1994. Genetic regulation of meat production by embryonic muscle formation-a review. *Journal of Animal Breeding and Genetics*. 111. 404-412.
- Te Pas, M. F. W., Soumillion, A., Van Den Bosh, T. J., Veninga, G., Meuwissen, T. H. E. 1996. Association between polymorphism in the porcine myogenin gene locus and growth traits. EAAP 47th Annual Meeting. Lillehammer. Norway.
- Te Pas, M.F.W., Soumilion, A., Harders, F.L., Verburg, F.J., Van Den Bosch, T.J., Gauesloot, P., Meuwissen, T.H.E. 1999a. Influences of myogenin genotypes on birth weight, growth rate, carcass weight, backfat thickness and lean weight of pigs. *Journal of Animal Science*. 77. 2352-2356.
- Te Pas, M.F.W., Harders, F.L., Soumilion, A., Born, L., Meuwissen, T.H.E. 1999b. Genetic variation in the porcine MYF5 gene locus. Lack of association with meat production traits. *Mammalian Genome*. 10. 123-127.
- Te Pas, M. F. W., Everts, M. E., Haagsman, H. P. 2004. *Muscle development of livestock animals -Physiology, Genetics and Meat Quality*. CABIPublishing. 411s. ISBN 0 85199 811 9.
- Urbanski, P., Flisikowski, K., Starzinski, R.R., Kuryl, J., Kamyczek, J. 2006. A new SNP in the promoter region in the porcine MYF5 gene has no effect on its transcript level in *musculus longissimus dorsi*. *Journal of Applied Genetics*. 47. 59-61.

Urbanski, P., Klosowska, D., Kapelanski, W., Elminowska-Wenda, G., Pierzchala, M., Walasik, K., Bogucka, J., Wyszynska-Koko, J., Kuryl, J. 2007 A relationship between the polymorphism in the coding and 5' regions of the porcine MyoD genes and microstructure traits of longissimus lumborum muscle. *Animal Science Papers and Reports*. 25. 249-258.

Urban, T. Virtuální svět genetiky - principy genetiky kvantitativních znaků . MZLU Brno [online]. 2008. [cit. 2013-04-01]. Dostupné z <http://user.mendelu.cz/urban/vsg3/ctl/ctl2.html>>.

Van Laere, A.S., Nguyen, M., Braunschweig, M., Nezer, C., Collette, C., Moreau, L., Archibald, A.L., Haley, C.S., Buys, N., Andersson, G., Georges, M., Andersson, L. 2003. A regulatory mutation in IGF2 causes a major QTL effect on muscle growth in the pig. *Nature*. 425. 832-836.

Verner, J. 2007. Analýza genů MyoD rodiny, IGF2 a myostatinu v produkci kvalitního vepřového masa. DP. Mendelova univerzita v Brně. Agronomická fakulta. 96s.

Vykoukalová, Z., Knoll, A., Dvořák, J., Rohrer, G. A., Čepica, S. 2003. Linkage and radiation hybrid mapping of the porcine MYF6 gene to chromosome 5. *Animal Genetics*. 34. 238 -240.

Webb, A. J., Carden, A. E., Smith, C., Imlah, P. 1982. Porcine stress syndrome in pig breeding. *Proceedings of the second world congress on genetics applied to livestock production*. Madrid. 5. 588-608.

Weintraub, H., Davis, R., Tapscott, S., Thayer, R., Krause, M., Benezra, R., Blackwell, T. K., Turner, D., Rupp, R., Hollenberg, S., Zhuang, Y., Lassar, A. 1991. The MyoD gene family: nodal point during specification of the muscle cell lineage. *Science*. 251. 761-766.

Weisz, F., Urban, T., Chalupová, P., Knoll, A. 2011. Association analysis of seven candidate genes with performance traits in Czech Large White pigs. *Czech Journal of Animal Science*. 56 (8). 337-344.

Wyszynska-Koko, J., Kuryl, J. 2004. Porcine MYF6 gene: Sequence, homology analysis, and variation in the promoter region. *Animal Biotechnology*. 15. 159-173.

Wyszinska-Koko, J., Pierzchala, M., Flisikowski, K., Kamyczek, M., Rozycki, M., Kuryl, J. 2006. Polymorphisms in coding and regulatory regions of the porcine MYF6 and MYOG genes and expression of the MYF6 gene in *m. longissimus dorsi* versus productive traits in pigs. *Journal of Applied Genetics*. 47. 131-138.

Yerle, M., Lahbib-Mansais, Y., Pinton, P., Robic, A., Goureau, A., Milan, D. and Gellin, J. 1997. The cytogenetic map of the domestic pig. *Mammalian Genome*. 8. 592-607.

Zhou, Z., Bornemann, A. 2001. MRF4 protein expression in regenerating rat muscle. *Journal of Muscle Research and Cell Motility*. 22. 311-316.