

## 猪 ESR 基因位点多态性与繁殖性状相关分析

朱志明<sup>1</sup>, 林长光<sup>1</sup>, 李盛霖<sup>1</sup>, 陈晖<sup>1</sup>, 郑嫩珠<sup>1</sup>, 缪中纬<sup>1</sup>,  
孙世坤<sup>1</sup>, 刘亚轩<sup>2</sup>, 叶贤慧<sup>2</sup>

(1. 福建省农业科学院畜牧兽医研究所, 福建 福州 350013;

2 福建光华农牧开发有限公司, 福建 福州 350001)

**摘要:** 采用 PCR-RFLP 技术检测长白猪、大白猪以及长大杂种的 ESR 基因位点多态性, 并分析 ESR 各基因型与繁殖性状的相关性。结果表明, 3 个猪群在该位点均存在多态性, A 等位基因频率占有优势均在 0.75 以上, 而 B 等位基因频率较低, 均小于 0.25。不同基因型与初产胎次、经产胎次母猪的各繁殖性状(总产仔数、产活仔数、初生窝重、断奶成活数) 呈 AA<AB<BB 趋势; 与总体胎次母猪的繁殖性状(总产仔数、产活仔数、初生窝重) 也呈 AA<AB<BB 趋势; 其中经产胎次及总体胎次的总产仔数基因型 AA 与 AB 之间差异显著( $P < 0.05$ )。

**关键词:** ESR 基因; 多态性; 繁殖性状; PCR-RFLP

中图分类号: Q 789; S 828

文献标识码: A

### Polymorphism of swine ESR gene and its correlation with reproductive traits

ZHU Zhiming<sup>1</sup>, LIN Changguang<sup>1</sup>, LI Shenglin<sup>1</sup>, CHEN Hui<sup>1</sup>, ZHENG Neirzhu<sup>1</sup>, MIAO Zhongwei<sup>1</sup>,  
SUN Shikun<sup>1</sup>, LIU Yaxuan<sup>2</sup>, YE Huixian<sup>2</sup>

(1. Institute of Animal Husbandry and Veterinary Medicine, Fujian Academy of Agricultural Sciences,  
Fuzhou, Fujian 350013, China; 2. Fujian Guanghua Agricultural and Animal Husbandry  
Technological Development Co. Ltd, Fuzhou, Fujian 350001, China)

**Abstract:** The polymorphism of ESR gene in Landrace, Large White and Landrace × Large White was detected by using PCR-RFLP. The correlation between the genotypes of ESR gene and reproductive traits was analyzed. The result indicated that ESR locus existed polymorphism in the 3 swine populations. The allele frequency was higher than 0.75, and the B allele frequency lower than 0.25. The reproductive traits (Total Number Alive, or TNB; Number Born Alive, or NBA; Birth Weight, or BW; Number Born Weaning, or NBW) of the first and later parities were affected by various genotype. They tended to be AA<AB<BB. In addition, the reproductive traits (TNB, NBA, and BW) of all parities were also affected by various genotype with the same trend, i.e., AA<AB<BB. The TNB of the later parity and all parities was significantly different between AA and AB genotype ( $P < 0.05$ ).

**Key words:** ESR gene; polymorphism; reproductive trait; PCR-RFLP

猪的生产效率是养猪业的总体经济效益获得提高的关键, 而产仔性能的高低直接影响猪的生产效率, 因此, 产仔数这一重要经济性状一直倍受遗传育种专家的重视。猪繁殖性状的遗传力很低, 只有 0.1 左右, 又属限性性状, 通过常规育种方法对猪繁殖性状的遗传改良十分有限, 因此开发和利用选育标记来提高猪的繁殖性能倍受育种学家的重视。近年来, 随着分子生物学技术的迅速发展, 从分子

水平探讨影响猪产仔性能的机制成为可能, 为种猪的遗传改良提供了新的机遇。

雌激素受体 (Estrogen Receptor, ESR) 是一种配体激活转录因子家族中的核酸受体, 具有转录调控蛋白质的功能, 影响着雌激素受体在雌性脊椎动物组织的表达与调控<sup>[1]</sup>。结合了配体的 ESR 与特定的 DNA 序列如雌激素应答元件 (Estrogen Response Elements, EREs) 相互作用可以改变雌

收稿日期: 2007-05-23 初稿; 2007-06-22 修改稿

作者简介: 朱志明 (1979-), 男, 硕士研究生, 研究实习员, 研究方向: 动物分子生物学与育种 (E-mail: zzml0203@163.com)。

通讯作者: 陈晖, (1949-), 女, 研究员, 研究方向: 家禽遗传育种 (E-mail: chh5555@163.com)。

基金项目: 福建省发改委资助项目 ([2005] 527 号)

激素基因的转录, 从而通过对雌性第二性征、繁殖周期、生殖力、妊娠维持的影响, 在胚胎的生长发育中起重要作用<sup>[2-3]</sup>。

本研究采用 PCR-RFLP 的方法, 以福建光华农牧开发有限公司种猪场生产中保持的外种猪(长白、大白及长大杂种)为研究对象<sup>[4]</sup>, 探讨 *ESR* 基因多态性及其对母猪繁殖性状的影响, 旨在对现有种猪群进行高产系选育提供可靠的依据。

## 1 材料和方法

### 1.1 试验材料

所用血样采自福建光华农牧开发有限公司种猪场, 其中长白 99 头和大白 74 头及其杂种长大母猪 123 头, 共计 296 头。耳静脉采血, EDTA 抗凝, 置于 -20℃ 保存, 苯酚-氯仿抽提法提取猪基因组 DNA, TE 溶解, -20℃ 保存备用。

### 1.2 引物设计

根据文献报道[5]设计引物, 引物由上海生工生物工程技术服务有限公司合成。引物序列如下:

PF: 5'-CCT GTT TTT ACA GTG ACT TTT ACA GAG-3'

PR: 5'-CAC TTC GAG GGT CAG TCC AAT TAG-3'

### 1.3 PCR 扩增

扩增总体系: 总体积为 20 μL, DNA 模板约 50~100 ng, 10×PCR 缓冲液(含 Mg<sup>2+</sup>)2.0 μL, dNTP 终浓度为 0.6 mmol·L<sup>-1</sup>, Taq DNA 聚合酶 1.0 U, 正反向引物各 0.4 μmol·L<sup>-1</sup>, 加 dd H<sub>2</sub>O 至 20 μL。

PCR 程序: 94℃, 5 min; 30× (94℃, 30 s; 56℃, 30 s; 72℃, 30 s); 72℃, 8 min。1% 琼脂糖凝胶电泳检测。

### 1.4 酶切鉴定

酶切反应总体系为 20 μL: PCR 产物 10 μL; Pvu II 内切酶 5U; 10×缓冲液 2.0 μL; 加 dd H<sub>2</sub>O 至 20 μL。放置 37℃ 水浴 3~4 h; 用 8% 非变性聚丙烯酰胺(PAGE)电泳检测酶切产物, 硝酸银染色, 检测 PCR 扩增产物的多态性, 根据带型判断基因型。

### 1.5 基因型分析

经 PAGE 检测, 根据条带出现的数目和位置确定 3 种基因型, 有 120 bp 的条带, 命名为 AA 基因型; 有 120 bp、65 bp 和 55 bp 的命名为 AB 基因型; 有 65 bp 和 55 bp 的命名为 BB 基因型。

### 1.6 数据收集与分析

用于基因型效应分析的母猪繁殖性状包括产活仔数(NBA)、总产仔(TNB)、断奶成活数(NBW)、初生窝重(BW)等。采用方差分析的最小二乘法, 使用 SPSS11.5 软件中的一般线性模型(General Linear Model, GLM)进行数据统计分析。所用模型如下:

$$\text{模型 1: } Y = \mu + G_j + L_k + e_{jk}, \quad \text{模型 2: } Y = \mu + G_j + L_k + P_i + e_{ijk}$$

其中 Y: 性状观察值;  $\mu$ : 群体均值;  $G_j$ : 基因型效应;  $L_k$ : 品种效应;  $P_i$ : 胎次效应;  $e_{ijk}$ : 随机残差效应。其中模型 1 用于初产分析, 模型 2 用于经产及所有胎次分析。

## 2 结果与分析

### 2.1 ESR 基因酶切检测结果

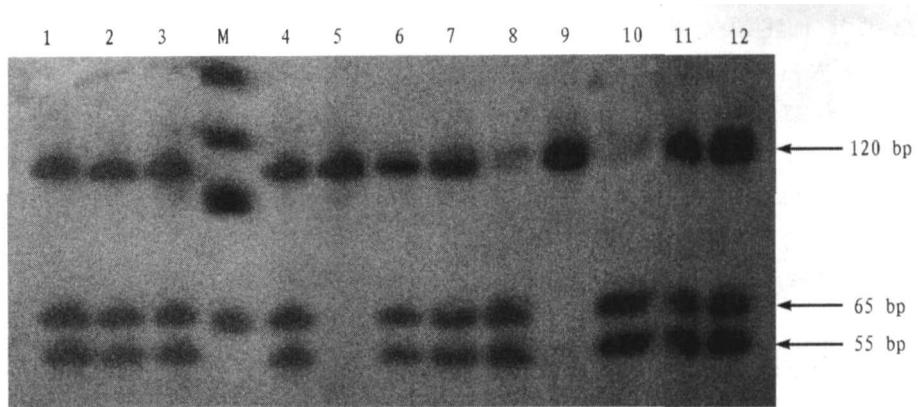
使用特异性引物对长白、大白及其长大杂种进行了 PCR 扩增, PCR 扩增所得目的带(120 bp)经 Pvu 酶切后, 出现了 3 种带型(图 1): 120 bp 纯合子(AA 型); 120 bp, 65 bp, 55 bp 杂合子(AB 型); 65 bp, 55 bp 纯合子(BB 型), 与预期结果一致。

### 2.2 3 个猪群 *ESR* 基因频率及基因型频率

对 3 个猪群 *ESR* 基因个体进行 PCR-Pvu RFLP 检测, 分型后计算出各品种的基因型频率和基因频率(表 1)。由表 1 可以看出: 3 个猪群中不同基因型的分布极不平衡, AA 基因型在长白、大白以及长大杂种猪群中占有优势, 其频率分别达到 0.6162、0.5541 和 0.6667; 而 BB 基因型在 3 个猪群仅检测到 1 或 2 头, 所占频率很小, 为 0.01~0.03。3 个猪群中都是 A 等位基因频率占有优势, 均在 0.75 以上, 而 B 等位基因频率较低。对表 1 结果进行显著性检验( $t=11.170$ ), 不同猪种间 A、B 等位基因频率存在极显著差异( $P<0.01$ )。

### 2.3 *ESR* 基因多态位点与繁殖性状相关性分析

对 *ESR* 基因多态位点与所有母猪繁殖性状进行相关性分析(表 2)。从表 2 可以看出, 该位点多态性与初产胎次、经产胎次母猪的各繁殖性状(总产仔数、产活仔数、初生窝重、断奶成活数)呈 AA<AB<BB 趋势; 与总体胎次母猪的繁殖性状(总产仔数、产活仔数、初生窝重)也呈 AA<AB<BB 趋势; 其中经产胎次及总体胎次的总产仔数基因型 AA 与 AB 之间差异显著( $P<0.05$ )。



5、9为AA基因型, 1、2、3、4、6、7、11、12为AB基因型, 8、10为BB基因型,

 $M$ 为pUC19 DNA/ $Msp$  ( $Hpa$  II) 标记图1  $Pvu$  II 酶切检测结果Fig 1  $Pvu$  II enzymatic digestion test result表1 3个猪群体 $ESR$ 基因频率及基因型频率Table 1 Genotype distribution and allele frequency of  $ESR$  in 3 pig lines

品种	基因型频率			基因频率	
	AA	AB	BB	A	B
长白	0.6162(61/99)	0.3737(37/99)	0.0101(1/99)	0.8031	0.1969
大白	0.5541(41/74)	0.4189(31/74)	0.0270(2/74)	0.7636	0.2364
长大杂种	0.6667(82/123)	0.3171(39/123)	0.0163(2/123)	0.8252	0.1748

表2  $ESR$ 基因多态位点与繁殖性状相关分析Table 2 Correlation between polymorphism of  $ESR$  gene and reproductive traits

	基因型	胎数	总产仔数	产活仔数	初生窝重	断奶成活数
初产	AA	157	9 614±0 234	8 605±0 230	11 937±0 497	8 579±0 194
	AB	85	9 821±0 321	8 614±0 316	11 642±0 683	8 795±0 274
	BB	5	10 035±0 255	9 600±1 289	14 220±2 716	6 600±1 047
经产	AA	411	10 153±0 148 <sup>a</sup>	9 467±0 134	13 915±0 297	9 127±0 098
	AB	264	10 727±0 184 <sup>b</sup>	9 792±1 024	13 887±0 368	9 061±0 121
	BB	7	11 286±1 132 <sup>ab</sup>	9 553±0 174	17 343±2 236	9 143±0 693
总体胎次	AA	570	10 004±0 125 <sup>a</sup>	9 239±0 117	13 369±0 257	8 974±0 089
	AB	345	10 501±0 161 <sup>b</sup>	9 510±0 150	13 351±0 329	8 980±0 115
	BB	12	10 917±0 863 <sup>ab</sup>	9 833±0 803	16 042±1 738	8 083±0 575

注: 同一列上标不同小写字母表示差异显著( $P<0.05$ )。

### 3 讨 论

#### 3.1 基因频率在不同猪种的分布状况

兰旅涛和叶昌辉等报道<sup>[6~7]</sup>, 外来品种(长白、大白)B等位基因频率分别为0.21、0.30及0.08、0.24; Wu等报道<sup>[8]</sup>, 长白猪B等位基因频率为0.12; 柳淑芳等报道<sup>[3]</sup>, 长白猪B等位基因频率为0.08。Drogemuller和Noguerol等报

道<sup>[9~10]</sup>, 德国和西班牙长白猪B等位基因频率都低于0.1。本试验结果表明 $ESR$ 基因在大白、长白及长大杂种母猪中都存在多态性, 分别出现AA、AB和BB3种基因型, 其基因频率及基因型频率各不相同。从本研究的检测结果来看, 大白、长白及长大杂种母猪 $ESR$ 基因座中AA基因型占有优势, 罕有BB基因型; B等位基因频率较低(低于0.25), A等位基因频率较高且占有绝对优

势,这一结果与上述研究结果基本相符。Wei等<sup>[11]</sup>报道了欧美大白猪B等位基因频率为0.55~0.75,高于本试验结果,原因可能是Wei等研究的大白猪群属PIC公司,该公司从1994年就开始采用ESR基因进行标记辅助选择,从而使这个控制猪产仔数的优势等位基因B得到提高。从另一方面也说明,本研究所用种猪可能缺乏系统性选择和培育。

### 3.2 各基因型与不同猪种繁殖性状间的关系

国内外许多研究者将ESR基因作为影响产仔数的主要基因,其相关研究结果都表明,无论是中国地方猪种还是外国猪种,BB型是优良基因型,B等位基因是优势基因<sup>[6~8, 12~14]</sup>。本研究中,以长白、大白及长大杂种为研究对象,通过对ESR基因对头胎母猪和经产胎次母猪繁殖性状进行效应分析,发现该位点BB基因型总产仔数、产活仔数、初生窝重、断奶成活数均优于AB、AA基因型,AB基因型优于AA基因型(AA<AB<BB趋势),其中经产胎次及总体胎次的总产仔数基因型AA与AB之间差异显著( $P<0.05$ ),但AA或AB与BB之间差异并不显著,造成的原因可能是BB基因型个体在所检测的数目较少。从本研究性状关联分析的初步结果来看,B等位基因有助于提高母猪的繁殖性能,尤其是产仔性能的提高,这与前人报道的结果基本相符。

从本研究所得出的初步结果来看,3个猪群B等位基因频率均较低,在今后的种猪选育工作中,可以有目的地选留BB或AB基因型母猪进入育种核心群,提高优势等位基因B的频率,进一步提高种猪的繁殖性状,为现代养猪业带来巨大的经济效益。但是,由于各品种的遗传背景、各猪场的管理方式等条件不同,不能仅通过目前ESR基因的研究现状和本实验的研究结果,而凭借ESR基因型来选种。

### 参考文献:

- [1] STEPHEN G, PHILIPPE W, VIJAY K, et al. Human estrogen receptor cDNA: sequence, expression and homology to vertebrates [J]. Nature, 1986, 320 (13): 134~139.
- [2] DENNIS B L, JEFFERY S M, THOMAS S G, et al. Alteration of reproductive function but not prenatal sexual development after insertional disruption of the mouse estrogen receptor gene [J]. Proc Natl Acad Sci USA, 1993, 90: 9460~9446.
- [3] 柳淑芳, 杜立新, 张志. 猪FSH $\beta$ 亚基和ESR基因的研究进展 [J]. 山东农业大学学报(自然科学版), 2001, 32 (2): 229~233.
- [4] 李盛霖, 林长光, 朱志明, 等. 大白、长白及其杂交母猪FSH $\beta$ 基因多态性检测及其与繁殖性状的相关分析 [J]. 福建农学报, 2006, 21 (4): 330~333.
- [5] SHORT T H, ROTSCHILD O I, SOUTHWOOD D G, et al. Effect of the estrogen Receptor locus on reproduction and production traits in four Commercial Pig Lines [J]. J Anim Sci, 1997, 75 (12): 3138~3142.
- [6] 兰旅涛, 周利华, 李琳, 等. 3个外来种猪群ESR基因位点多态性及其与繁殖性能相关性分析 [J]. 江西农业大学学报, 2006, 28 (1): 115~118.
- [7] 叶昌辉, 杨关福, 吴珍芳. ESR基因在猪产仔数选育中的应用研究 [J]. 湖南农业大学学报(自然科学版), 2003, 39 (1): 47~49.
- [8] WU Z F, LIU D W, WANG Q L, et al. Study on the association between estrogen receptor gene (ESR) and Reproduction traits in landrace pigs [J]. Acta genetica sinica, 2006, 33 (8): 711~716.
- [9] NOGUERA J L, VARONA L, GOMEZ-RAYA L, et al. Estrogen receptor polymorphism in Landrace pigs and its association with litter size performance [J]. Livestock Production Science, 2003, 82 (1): 53~59.
- [10] DROGEMULLER C, HAMANN H, DISTL O. Candidate gene markers for litter size in different German pig lines [J]. Journal of Animal Science, 2001, 79 (10): 2565~2570.
- [11] WEI M, VAN DER STEEN H A M, MCLAREN D C, et al. Effect of estrogen receptor (ESR) locus on litter size of pigs [J]. International Academic Publishers, 1997, 21: 31~33.
- [12] ROTSCHILD M F, JACOBSON C, VASKE D A, et al. A Major gene for litter size in pigs [C]. Proc 5th world Congress Genet Appl Livest Prod, 1994, 21: 225~228.
- [13] ROTSCHILD M F, JACOBSON C, VASKE D A, et al. The estrogen receptor locus is associated with a major gene influencing litter size in pigs [J]. Proc Natl Acad Sci, 1996, 93: 201~205.
- [14] 陈克飞, 黄路生, 李宁, 等. 猪雌激素受体(ESR)基因对产仔数性状的影响 [J]. 遗传学报, 2000, 27 (10): 853~857.

(责任编辑:周琼)