

猪 ESR 基因位点多态性与繁殖性状相关分析

朱志明¹, 林长光¹, 李盛霖¹, 陈 晖¹, 郑嫩珠¹, 缪中纬¹,
孙世坤¹, 刘亚轩², 叶贤慧²

(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 Zhi-ming¹, LIN Chang-guang², LI Sheng-lin¹, CHEN Hui¹, ZHENG Nen-zhu¹, MIAO Zhong-wei¹,
SUN Shi-kun¹, LIU Ya-xuan², YE Hui-xian²

(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^[1]。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: zzm10203@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^[2-3]。

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^[4],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,引物由上海生物工程技术有限公司合成。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 Mg²⁺)2.0 μL,dNTP 终浓度为 0.6 mmol·L⁻¹,Taq DNA 聚合酶 1.0 U,正反向引物各 0.4 μmol·L⁻¹,加 dd H₂O 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 H₂O 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:

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

其中 Y: 性状观察值;μ: 群体均值;G_j: 基因型效应;L_k: 品种效应;P_i: 胎次效应;e_{j_{jk}}: 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

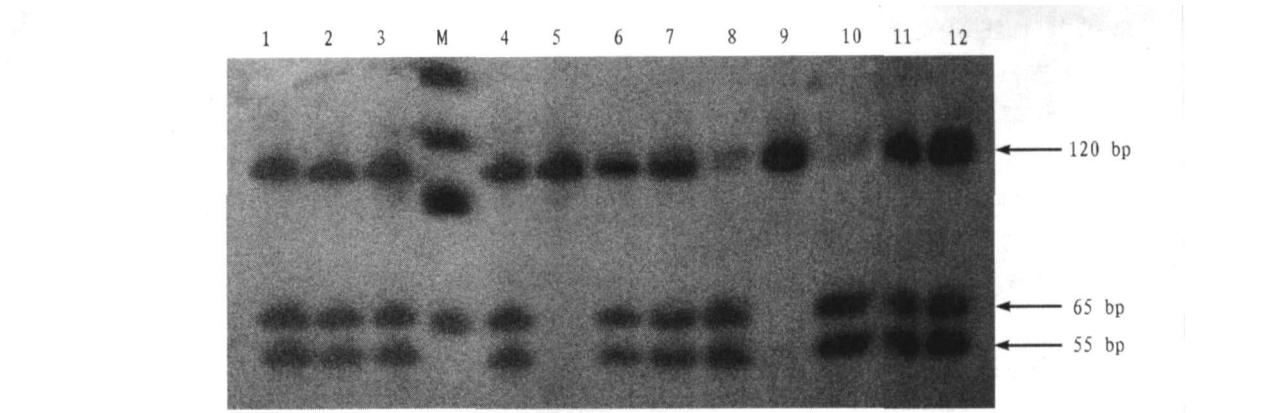
使用特异性引物对长白、大白及其长大杂种进行了 PCR 扩增,PCR 扩增所得目的带(120 bp)经 Pvu 酶切后,出现了 3 种带型(图 1):120 bp 纯合子(AA 型);120 bp,65 bp,55 bp 杂合子(AB 型);65 bp,55 bp 纯合子(BB 型),与预期结果一致。

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 0.616 2、0.554 1 和 0.666 7;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 ^a	9.467±0.134	13.915±0.297	9.127±0.098
	AB	264	10.727±0.184 ^b	9.792±1.024	13.887±0.368	9.061±0.121
	BB	7	11.286±1.132 ^{ab}	9.553±0.174	17.343±2.236	9.143±0.693
总体胎次	AA	570	10.004±0.125 ^a	9.239±0.117	13.369±0.257	8.974±0.089
	AB	345	10.501±0.161 ^b	9.510±0.150	13.351±0.329	8.980±0.115
	BB	12	10.917±0.863 ^{ab}	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^[6-7], 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^[8], 长白猪 B 等位基因频率为 0.12; 柳淑芳等报道^[3], 长白猪 B 等位基因频率为 0.08。Drogemuller 和 Nogueral 等报

道^[9-10], 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 BB 3 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^[11]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效基因, 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^[6-8, 12-14]。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, 造成的可能原因是 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 vertebrate [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 β 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 β 基因多态性检测及其与繁殖性状的相关分析 [J]. *福建农业学报*, 2006, 21 (4): 330-333.

[5] SHORT T H, ROTHSCILD 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, 21-33.

[12] ROTHSCILD M F, JACOBSON C, VASKE D A, et al. A Major gene for litter size in pigs [C]. *Proc 5th world Congron Genet Appl Livest Prod*, 1994, 21: 225-228.

[13] ROTHSCILD 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)