



COLEGIO DE POSTGRADUADOS

INSTITUCIÓN DE ENSEÑANZA E INVESTIGACIÓN EN CIENCIAS AGRÍCOLAS

CAMPUS MONTECILLO

POSTGRADO DE RECURSOS GENÉTICOS Y PRODUCTIVIDAD

G A N A D E R Í A

**POLIMORFISMO DE LOS GENES RECEPTORES DE
ESTROGENO (ESR) Y PROLACTINA (PRLR) Y SU
ASOCIACIÓN CON PROLIFICIDAD Y
PRODUCTIVIDAD DE LA CERDA**

ALBERTO BARRERAS SERRANO

T E S I S

PRESENTADA COMO REQUISITO PARCIAL
PARA OBTENER EL GRADO DE

DOCTOR EN CIENCIAS

MONTECILLO, TEXCOCO, EDO. DE MÉXICO

2008

La presente tesis, titulada: “POLIMORFISMO DE LOS GENES RECEPTORES DE ESTROGENO (ESR) Y PROLACTINA (PRLR) Y SU ASOCIACIÓN CON PROLIFICIDAD Y PRODUCTIVIDAD DE LA CERDA”, realizada por el alumno: **ALBERTO BARRERAS SERRANO**, bajo la dirección del Consejo Particular indicado, ha sido aprobada por el mismo y aceptada como requisito parcial para obtener el grado de:

DOCTOR EN CIENCIAS

**RECURSOS GENETICOS Y PRODUCTIVIDAD
GANADERÍA**

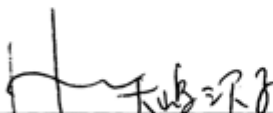
CONSEJO PARTICULAR

CONSEJERO:



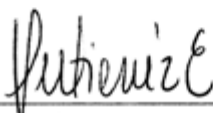
DR. JOSE G. HERRERA HARO

ASESOR:



DRA. SAWAKO OSHIMA HORI KATSURAGUI

ASESOR:



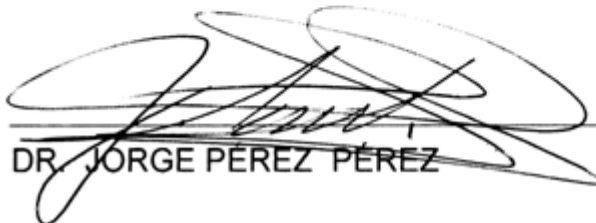
DRA. MARIA ALEJANDRA GUTIERREZ ESPINOSA

ASESOR:



DRA. MA. ESTHER ORTEGA CERRILLA

ASESOR:



DR. JORGE PÉREZ PÉREZ

Montecillo, Texcoco, México, Noviembre de 2008

POLIMORFISMO DE LOS GENES RECEPTORES DE ESTROGENO (ESR) Y PROLACTINA (PRLR) Y SU ASOCIACIÓN CON PROLIFICIDAD Y PRODUCTIVIDAD DE LA CERDA

Alberto Barreras Serrano, Dr.
Colegio de Postgraduados, 2008.

Los genes receptor de estrógeno (ESR) y receptor de prolactina (PRLR) fueron investigados como genes candidatos para características reproductivas. Dos localidades fueron incluidas en este estudio: Mexicali, Baja California y Navojoa, Sonora. Los genotipos para los genes ESR y PRLR fueron obtenidos de muestras sanguíneas de 136 hembras del sitio 1 (Baja California) y 300 provenientes del sitio 2 (Sonora). Los grupos genéticos utilizados fueron Yorkshire (Y), Landrace (L), Duroc (D), y cruza YL. Se estimaron las frecuencias genotípicas y alélicas por gen y las asociaciones de los genotipos con caracteres de prolificidad y productividad. Los polimorfismos fueron identificados por medio del método PCR-RFLP. Se probó independencia del alelo A entre grupos genéticos y equilibrio Hardy-Weinberg por gen utilizando la prueba de chi-cuadrada. Se analizaron 590 registros para las variables total nacidos vivos (TNV), tamaño de camada al nacer (TCN) y al destete (TCD), peso de la camada al nacer (PCN) y al destete (PCD) para asociación empleando un modelo lineal mixto para cada gen. Los efectos de aditividad y dominancia fueron estimados en cada gen por cada carácter reproductivo. Las frecuencias del alelo B del gen ESR fueron de 0.32, 0.29, 0.09 y 0.46, en general, y para los grupos D, L y Y, respectivamente. No se observaron genotipos BB para ESR gen en este estudio. Para el gen PRLR, la frecuencia del alelo A fue en general 0.46 con variación entre grupos genéticos. Las frecuencias genotípicas y alélicas para ambos genes entre razas fueron diferentes ($P < 0.05$). No diferencias fueron observadas entre genotipos para el gen ESR. TCN y PCN fueron mejores en AB vs. AA. L mostró ser mayor a Y y D para TCD y PCD. Para el gen PRLR, YL presentaron mejor comportamiento para TNV. Los individuos de genotipo AA en D fueron mejores para TCD sin diferencias entre genotipos. Diferencias entre genotipos para TCN en hembras de primer parto fueron evidentes, con los mayores valores en BB (10.40 lechones) para el gen PRLR. La substitución de B por A en el gen ESR para TCN, TCD y PCD fue de 0.29 y 0.12 lechones y 0.25 kg respectivamente, pero no diferente de cero ($P > 0.05$). Para el gen PRLR, efectos aditivos para el alelo A resultó en un incremento negativo de 2.26 lechones (TCN), y positivo de 0.42 kg por camada para PCN. Efectos de dominancia para TCN y PCN fue de -2.67 lechones y -0.56 kg, respectivamente.

Palabras clave: gen ESR y PRLR, prolificidad, efectos aditivos y de dominancia, cerdos.

ESTROGEN RECEPTOR (ESR) AND PROLACTIN RECEPTOR (PRLR) GENES POLYMORPHISM AND THEIR ASSOCIATION WITH PROLIFICACY AND PRODUCTIVITY TRAITS IN SOWS

Alberto Barreras Serrano, Dr.
Colegio de Postgraduados, 2008.

The estrogen receptor (ESR) and prolactin receptor (PRLR) genes were investigated as candidate gene for swine reproductive traits. Two sites were included: Mexicali, Baja California and Navojoa, Sonora. The genotypes of ESR and PRLR genes were obtained from 136 sows from site 1 and 300 sows from site 2. Four genetic groups: Yorkshire (Y), Landrace (L) Duroc (D), and YL crossbreed were used to calculate genotypic and allelic frequencies for the ESR and PRLR genes and estimate associations with prolificacy and productivity traits. The polymorphisms were identified by means of the PCR-RFLP method. Allelic frequencies between each breed and Hardy-Weinberg equilibrium by gene were tested by chi-square test. 590 records of the following traits: total number of born piglets (TNB), number of weaned piglets (NW), litter weight at birth (LWB) and weaning weight of piglets (WW) were analyzed for association utilizing a mixed linear model by gene. Additive and dominance effects were estimated in each gene on reproductive traits. The frequencies of B allele in general, D, L and Y were 0.32, 0.29, 0.09 and 0.46, respectively for ESR gene. The BB genotype was not found in the population under study. For PRLR gene, the frequency of A allele was in general 0.46, with variation between genetic groups. The allelic and genotypic frequencies for both genes between breeds were different ($P < 0.05$). No differences were observed among genotypes for ESR gene, TNB and LWB were better on AB vs. AA. L was showed to be better to Y and D in NW and WW. In PRLR gene, YL showed the best performance for NBA. AA genotype in D showed the best performance for NWP but no differences were found among genotypes. Differences in first parity were observed between genotypes for TNB, with highest value in BB (10.40 piglets) for PRLR gene. The replacement of B for A allele in ESR gene at TNB, NW and LWB was 0.29 and 0.12 piglets and 0.25 kg respectively, but not different from zero ($P > 0.05$). In general for PRLR gene, additive effect per allele A resulted in a negative increase of 2.26 pigs (TNB), and positive of 0.42 kg (LWB) per litter. For TNB and LWB, dominance effect was -2.67 pigs and -0.56 kg, respectively.

Key Word: ESR and PRLR genes, prolificacy, additive and dominance effects, Pigs.

Dedico esta tesis a:

Yamil Citlalli, Alberto Adrian, Oscar Eduardo e Irma Carolina;

Porque su amor es mi razón principal para entender que la gracia de Dios existe

AGRADECIMIENTOS

Al Programa de mejora del profesorado (Promep)-SEP por el financiamiento inicial para la realización de mis estudios doctorales en el Colegio de Postgraduados.

A Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología; por su financiamiento de un año de mis estudios y por ser una institución comprometida para el desarrollo de México.

Al Colegio de Postgraduados; por ofrecerme una formación académica de excelencia en sus instalaciones, respetable y de compromiso con México. (Número de matrícula 1044050).

A la Universidad Autónoma de Baja California por su apoyo económico para el desarrollo del proyecto de investigación en las instalaciones del Instituto de Investigaciones en Ciencias Veterinarias y darme la oportunidad de continuar con mi formación académica en posgrado.

Con gran respeto, a mi consejero Dr. José G. Herrera Haro, profesor investigador titular del Colegio de Postgraduados, por su amistad, sus conocimientos, paciencia, disponibilidad, apoyo logístico, calidad humana, apoyo incondicional y compromiso en la formación de recursos humanos.

A todos y cada uno de los profesores del Colegio de Postgraduados y de la Universidad Autónoma de Baja California por el apoyo brindado durante la investigación.

Al Dr. Eduardo Sánchez López por su amistad y apoyo incondicional para el desarrollo de mi programa doctoral.

A mis amigos y compañeros; con quien he contado y espero contar hoy y siempre.

CONTENIDO

	Página
INTRODUCCIÓN GENERAL.....	1
1. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	2
2. OBJETIVOS.....	4
3. HIPÓTESIS.....	4
4. REVISIÓN DE LITERATURA.....	5
4.1. La productividad del cerdo.....	5
4.2. Indicadores de productividad en la cerda.....	5
4.3. Mejoramiento genético animal	7
4.4. Genética molecular aplicada en la producción animal	12
4.5. Importancia de los genes candidatos.....	18
4.6. Genes candidatos para características reproductivas	20
4.7. Gen receptor de estrógeno (ESR).	20
4.8. Gen receptor de prolactina (PRLR).....	25
4.9. Selección asistida por marcadores	27
4.10. Efectos medios de sustitución.....	35
5. LITERATURA CITADA	37
CAPÍTULO I. ESR GEN POLYMORPHISM AND ASSOCIATION WITH PROLIFICACY TRAITS IN YORKSHIRE, DUROC AND LANDRACE PIGS.....	46
1.1. ABSTRACT.....	46
1.2 . ZUSAMMENFASSUNG	47
1.3. INTRODUCTION	48
1.4. MATERIAL AND METHODS.....	49
1.5. RESULTS	52

1.6. DISCUSSION	59
1.7 REFERENCES	62
CAPÍTULO II. PROLACTIN RECEPTOR (PRLR) GEN POLYMORPHISM AND ASSOCIATIONS WITH REPRODUCTIVE TRAITS IN PIGS.....	65
2.1. ABSTRACT.....	65
2.2. INTRODUCTION	66
2.3. MATERIALS AND METHODS	68
2.4 RESULTS AND DISCUSSION.....	71
2.5 CONCLUSION.....	80
2.6 REFERENCES	82
CAPÍTULO III. POLIMORFISMO DEL GEN RECEPTOR DE ESTRÓGENO (ESR) Y SU ASOCIACIÓN CON PROLIFICIDAD Y PRODUCTIVIDAD DE LA CERDA.	85
3.1. RESUMEN.....	85
3.2. ABSTRACT.....	86
3.3. INTRODUCCIÓN.....	87
3.4. MATERIALES Y MÉTODOS.....	88
3.5. RESULTADOS	92
3.6. DISCUSIÓN.....	101
3.7. CONCLUSIONES.....	106
3.8. LITERATURA CITADA.....	106
CONCLUSIONES GENERALES.....	110

LISTA DE CUADROS

	Página
Cuadro 1. Índice de herencia para características de la cerda	9
Cuadro 2: Resultados de estimación de efectos aditivos y de dominancia para total nacidos vivos (TNV), según varios autores.....	36
Table 1.1. Genotypic and allelic frequencies of the estrogen receptor gene (ESR) in pigs of Baja California, México.	54
Table 1.2. Least square means (mean±s.e.) for different genotypes and general of the estrogen receptor gene (ESR) for reproductive traits in sows.	54
Table 1.3. Least square means (mean±s.e.) for total number of born (TNB), number of weaned piglets (NW), litter weight at birth (LWB) and weaning weight of piglets (WW) for different genotypes of the estrogen receptor gene (ESR), within genetic group.....	56
Table 1.4. Least square means (mean±s.e.) for total number of born (TNB), number of weaned piglets (NW), litter weight at birth (LWB) and weaning weight of piglets (WW) for different genotypes of the estrogen receptor gene (ESR), within parity number (PN).	56
Table 1.5. Gene substitution effects and standard errors for total number of born (TNB), number of weaned piglets (NW), litter weight at birth (LWB) and weaning weight of piglets (WW) for the estrogen receptor gene (ESR) by genetic group and in general.	58
Table 2.1. Frequency of the prolactin receptor (PRLR) genotypes and alleles among sows by genetic group at Baja California and Sonora, México.	71
Table 2.2. Least square means (mean ± s.e.) for reproductive traits in sows, by genotype and general for the prolactin receptor gene (PRLR).....	73
Table 2.3. Least squares means and standard errors for the interaction genetic group x PRLR genotype on reproductive traits ^{a/} in sows.....	75

Table 2.4. Least squares means and standard errors for the prolactin receptor (PRLR) genotype effects on reproductive traits ^{al} of sows by parity number (PN).....	78
Table 2.5. Additive (a) effects of favorable allele and dominance (d) effects estimated for reproductive traits ^{al} of sows by genetic group and in general.	79
Cuadro 3.1. Frecuencia genotípica y alélica para el gen receptor de estrógeno (ESR) en cerdos por grupo genético.....	93
Table 3.1. Frequency of the estrogen receptor (ESR) genotypes and alleles in sows by genetic groups.....	93
Cuadro 3.2. Medias de mínimos cuadrados (media \pm e.e.) para características reproductivas en hembras porcinas, por genotipo y en general para el gen receptor de estrógeno (ESR).....	94
Table 3.2. Least square means (mean \pm s.e.) for reproductive traits in sows, by genotype and general for the estrogen receptor (ESR) gene.....	94
Cuadro 3.3. Medias de mínimos cuadrados y errores estándar para la interacción grupos genéticos x genotipo para el gen ESR para caracteres reproductivos en hembras porcinas.	95
Table 3.3. Least squares means and standard errors for the interaction genetic group x ESR genotype for reproductive traits in sows.....	95
Cuadro 3.4. Medias de mínimos cuadrados (media \pm e.e.) por genotipos para el gen ESR para caracteres reproductivos dentro de número de parto (NP) en hembras porcinas.....	98
Table 3.4. Least squares means and standard errors for the estrogen receptor (ESR) genotype effects on reproductive traits ^{al} of sows by parity number (PN).....	98
Cuadro 3.5. Efectos medios de substitución del alelo A por B, junto con su error estándar, para caracteres reproductivos por grupo genético y en general, para el gen ESR.....	100
Table 3.5. Substitution average effects of A for B allele and standard errors for reproductive traits of sows by genetic group and in general, for ESR gene.....	100

LISTA DE FIGURAS

	Página
Figura 1. Representación esquemática del principio genético del RFLP.	16
Figura 2. Representación esquemática de la función del ESR	21
Figura 3. Estructura del receptor de estrógeno porcino y sus exones relacionados. (Bokenkamp <i>et al.</i> , 1994).....	23
Figura 4. Estructura del PRLR. (Bole-Feysot <i>et al.</i> , 1998).	26
Figure 1.1. Banding patterns of ESR gene.....	53

Algunos consejos para Investigadores Jóvenes:

- 1. Estudie los métodos de sus predecesores.*
- 2. Trabaje duro*
- 3. No tema en probar nuevas ideas.*
- 4. Discuta sus ideas libremente con otros.*
- 5. Admita sus errores. El progreso viene de corregir errores.*
- 6. Siempre sea optimista. La Naturaleza es benigna.*
- 7. Disfrute su trabajo científico. Puede ser una gran diversión.*

C. R. Henderson, 1911-1989

INTRODUCCIÓN GENERAL

La mejora genética de características reproductivas, como tamaño de camada en cerdos, es de gran importancia para los porcinocultores debido a que un incremento en el número de lechones destetados reduce los costos totales de producción de animales para abasto (Tess *et al.*, 1983). Entonces, la eficiencia económica de los sistemas de producción porcina descansa en la prolificidad y productividad de la hembra. El número de lechones nacidos vivos constituye una medida directa de prolificidad, mientras que el peso total de la camada conforma un indicador de la productividad de la cerda. Ambos la prolificidad y la productividad son características de importancia económica, las cuáles muestran variación cuantitativa dentro de las poblaciones animales, siendo reguladas en su expresión por factores genéticos y ambientales. Cuando una característica es de naturaleza cuantitativa es controlada por la acción aditiva de muchos pares de genes, cada uno de ellos contribuyendo con pequeños efectos (Falconer y Mackay, 1996).

Los valores para tamaño de camada, como indicador de prolificidad, presentan una media de 9 a 11 lechones y un valor de dispersión (DE) de 2.5 a 3.0 lechones. Además presenta un índice de herencia entre 10 a un 15%, que es realmente bajo (Haley *et al.*, 1988; Johnson *et al.*, 1999), por lo cual los programas de selección de las hembras deben apoyarse en el comportamiento de su progenie, sin embargo, la respuesta ha sido variable debido a su bajo valor del índice de herencia y por ser un carácter limitado al sexo.

El desarrollo y aplicación de técnicas de biología molecular han permitido identificar y aislar genes individuales específicos o regiones del genoma asociados con una o un complejo de características como las reproductivas y que pueden asociarse a genes mayores o con efecto múltiple conocidos como QTL (Quantitative Trait Loci) o loci para caracteres cuantitativos (van der Werf, 2000).

La selección de características de importancia económica puede ser apoyada por el uso de marcadores de ADN o genes candidatos, cuyos estudios permiten identificar genes relacionados con caracteres cuantitativos que son una alternativa en la detección de QTLs. Esta información puede ser incorporada en programas de selección para mejorar caracteres reproductivos, dentro de un esquema de selección asistida con marcadores, la cual, en comparación con esquemas tradicionales de selección, incrementa la intensidad de la selección, reduce el intervalo entre generaciones y por consecuencia incrementa el progreso genético, que redundará en un mayor beneficio económico al sistema de producción.

1. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

El gen receptor de estrógeno (ESR) ha sido identificado como gen candidato para tamaño de camada (Rothschild *et al.*, 1991, 1996), este gen regula la síntesis de estrógeno, el cual participa en la actividad reproductiva de la hembra, influye en la proliferación y diferenciación del epitelio vaginal, captura del ovocito y proliferación del endometrio uterino, otorga efecto materno durante la gestación (Geisert *et al.*, 1990), crecimiento del feto (Hafez, 1996), peso promedio de los fetos en el útero, así como peso de la camada al nacer (Isler *et al.*, 1999). Se ha observado un efecto aditivo positivo para el alelo B, oscilando desde 0.31 a

0.42 lechones nacidos vivos por camada (Short *et al.*, 1997) a 1.15 en animales de primer parto (Rothschild *et al.*, 1996).

Otro gen candidato es el gen receptor de prolactina (PRLR), receptor específico para prolactina, hormona hipofisaria que participa en diferentes actividades endocrinas y es esencial para una reproducción exitosa (Vincent *et al.*, 1998). El mecanismo de acción de la prolactina está mediado por la unión a su receptor (Van Rens *et al.*, 2003). En el cerdo, el gen PRLR se encuentra en el cromosoma 16 (Vincent *et al.*, 1997). El número de receptores de prolactina en el endometrio incrementan a partir del día 12 de la gestación, este incremento es estimulado por la producción de estrógeno del feto, lo que permite una reorientación de la secreción de prostaglandinas F2 α en apoyo a la función de cuerpo lúteo (Pope, 1994). Lo anterior evidencia el importante papel de PRLR en la preparación y mantenimiento de un ambiente adecuado para la preñez en cerdas. Se ha descrito un polimorfismo en el exón 10 del gen PRLR que se ha asociado a un mayor número de lechones nacidos (Vincent *et al.*, 1998), número de pezones en la hembra (Putnová *et al.*, 2002; van Rens y van der Lende, 2002), edad a la pubertad y la tasa de ovulación (van Rens *et al.*, 2003). Individuos de genotipo AA muestran mayor número de lechones nacidos vivos (Rothschild *et al.*, 1998; Vincent *et al.*, 1998). Efectos aditivos oscilan de entre 0.0 a 0.59 lechones para tamaño de camada al nacer y de 0.0 a 0.71 lechones por camada para número total de nacidos vivos (Vincent *et al.*, 1998).

2. OBJETIVOS

El objetivo de este estudio fue estimar las frecuencias genotípicas y alélicas de los genes receptor de estrógeno (ESR) y receptor de prolactina (PRLR), así como estimar la asociación entre los polimorfismo de los genes ESR y PRLR con caracteres de prolificidad y productividad en hembras de raza Yorkshire (Y), Landrace (L), cruzas YL y Duroc. Las variables estudiadas fueron: tamaño de camada al nacimiento (TCN) y al destete (TCD), total de nacidos vivos (TNV), peso de la camada al nacimiento (PCN) y al destete (PCD).

3. HIPÓTESIS

Existe polimorfismo en los genes candidatos receptor de estrógeno y receptor de prolactina entre y dentro de los grupos genéticos: Yorkshire, Landrace, cruzas YL y Duroc.

Existe desequilibrio de ligamiento entre los genotipos de los genes candidatos receptor de estrógeno y receptor de prolactina con tamaño de camada al nacimiento (TCN), y al destete (TCD), total de nacidos vivos (TNV), peso de la camada al nacimiento (PCN) y al destete (PCD), independientemente del grupo genético.

4. REVISIÓN DE LITERATURA

4.1. La productividad del cerdo

La productividad del cerdo está regulada por varios factores asociados principalmente con el control del comportamiento reproductivo de la hembra. Los de mayor importancia son: edad al primer servicio, alta prolificidad por parto, lactancias cortas y un intervalo destete-servicio fértil reducido (Aumaitre *et al.*, 1976). De estos, la prolificidad de la hembra determina en mayor grado la eficiencia económica del sistema de producción. Este carácter se mide por el número de lechones nacidos vivos, peso de la camada al nacimiento y al destete, tamaño de la camada al destete y el número de camadas por año (Cole y Garrett, 1980; Bichard y David, 1985; Bolet y Legault, 1982; Gianola, 1988; Legault, 1985). El número de lechones nacidos vivos es una medida de prolificidad, mientras que el peso total de la camada es un indicador de la productividad de la cerda. La prolificidad y la productividad de la cerda muestran variación cuantitativa dentro de la población y su expresión depende de la información genética del animal y del ambiente en que se desarrolló (Falconer y Mackay, 1996).

4.2. Indicadores de productividad en la cerda

Cada característica tiene un rango de valores óptimo, el cual puede variar entre granjas, razas y niveles de nutrición y por causas de naturaleza ambiental.

- 1) Ciclo reproductivo de la hembra: 140-160 días.
- 2) Edad a pubertad: 180-220 días.
- 3) Edad a primer servicio: 200-246 días.

- 4) Porcentaje anual de reemplazos: 30%-35%.
- 5) Porcentaje anual de desechos: 30%-35%.
- 6) Porcentaje de fertilidad a primer servicio: 80%-85%.
- 7) Porcentaje de fertilidad a parto: 80%-98%.
- 8) Porcentaje de repetición del servicio: hembras de primer parto: 20%, Hembras de 2 o más partos: 5%.
- 9) Días abiertos: 30 a 48 días con 25 a 35 días de lactancia.
- 10) Días de destete al primer servicio: clima templado 4 a 7 días, clima cálido 7 a 15 días.
- 11) Días de destete a servicio efectivo: 7-15 días.
- 12) Intervalo entre partos: 138-156 días.
- 13) Número de lechones nacidos vivos por hembra por parto: 8 a 12 lechones.
- 14) Número de lechones nacidos muertos por camada: 0.13 a 0.81 lechones por camada.
- 15) Lechones nacidos en total por camada: 8 a 13 lechones.
- 16) Lechones nacidos en total por hembra por año:

Con lactancia de:	Rango
3-4 semanas	19 a 21 lechones
5-6 semanas	18 a 21 lechones
7-8 semanas	17 a 20 lechones

- 17) Peso individual al nacimiento: 800 a 1800 g.
- 18) Peso de la camada al nacimiento: 11 a 12 Kg. con 8.9 lechones.
- 19) Días de lactancia: 21-28 días.
- 20) Porcentaje de mortalidad durante la lactancia: 2% a 10%.

- 21) Lechones destetados por hembra por parto: 7 a 9 lechones.
- 22) Lechones destetados por hembra por año: 15 a 22 lechones.
- 23) Peso individual del lechón al destete: 5-7 kg.
- 24) Peso de la camada al destete: 40-80 kg.
- 25) Días Mercado: 165-190 días.
- 26) Kilogramos de peso al mercado: 90-100 kg.
- 27) Conversión alimenticia: 2.5 - 3.1 kg.
- 28) Ganancia de peso:

Edad semanas	Peso (kg)
4	6.5
8	15
12	27
16	42
20	60
24	90

- 29) Ganancia diaria de peso:

Kg peso	Ganancia esperada
1-5	0.20
5-10	0.25
10-20	0.45
20-50	0.70
50-110	0.82

- 30) Número de partos por hembra por año: 2.0-2.5

4.3. Mejoramiento genético animal

Se define como la aplicación de los principios de la genética de poblaciones, para el diseño y conducción de programas que buscan la obtención

de animales con mejores características productivas que la población de la cual se derivan (Herrera *et al.*, 2003), esta aplicación incorpora otras disciplinas tales como la bioquímica, la fisiología, y la estadística. Además, como una tecnología, la mejora animal recurre a recursos y procesos industriales para la mejora de factores ambientales no-genéticos. El papel del mejoramiento en la agricultura se ve afectado por la tasa de mejora que pueda ser ofrecido. En ese sentido, considera las diferentes restricciones biológicas presentes en los animales. Por lo que la respuesta o progreso que se logre en la mejora genética va a depender del conocimiento de la genética, del desarrollo de una tecnología apropiada y de su utilización (Land, 1985). Mientras que la mejora depende de los cambios que ocurren en las características biológicas de los animales, la dirección de los cambios dependen no de la biología sino de quien determina el valor financiero relativo.

Variación en las características de prolificidad. El número de lechones nacidos vivos de 9 a 11, no ha cambiado en varias décadas, por ello se han desarrollado varias estrategias para su mejora (Bidanel *et al.*, 1994), desde cambios en el manejo de los reproductores, definición de sistemas de cruzamiento (Rothschild 1996), desarrollo de programas de selección; sin embargo, esta respuesta ha sido muy variable, debido a su bajo índice de herencia (Cuadro1).

Además, por ser un carácter limitado al sexo (Haley *et al.*, 1988), medido después de que la hembra alcanza su madurez sexual (Roehe and Kennedy, 1993, Johnson *et al.*,1999), una respuesta moderada puede significar grandes

beneficios económicos, para el porcicultor (Rothschild *et al.*, 2000; Linville *et al.*, 2001).

Cuadro 1. Índice de herencia para características de la cerda

Carácter		Rango de valores %
Edad a la pubertad	medio	30-40
Tamaño de la camada al nacer	bajo	5-15
Tamaño de la camada al destete	bajo	5-15
Peso de la camada al destete	bajo	10-20
Peso al destete	bajo	10-20
Ganancia post-destete	medio	25-40
Tasa ovulatoria	bajo	< 3
Capacidad uterina	bajo	< 3
Tasa de sobrevivencia	bajo	< 3

Warwick and Legates, 1984

Objetivos de selección en cerdos. Los programas de selección tienen como objetivo identificar el mérito genético de los reproductores y maximizar el progreso genético en caracteres de interés económico para el productor. En la selección por tamaño de camada, es común obtener una baja respuesta genética (Boylan *et al.*, 1961); a este respecto, una combinación de selección directa más migración de líneas hiperprolíficas resultó en un incremento en tamaño de camada de 1.4 lechones después de 17 generaciones de selección (Bolet *et al.*, 2001).

En cerdos, los esquemas de selección han sido orientados hacia una mayor tasa ovulatoria (Johnson *et al.*, 1999), capacidad uterina (Bennett and

Leymaster, 1990), tasa de sobrevivencia (Ferguson *et al.*, 1985) y número de lechones destetados (Peterson, 1989). Sin embargo, se han obtenido bajas tasas de mejora, a consecuencia de la reducida varianza aditiva de esta característica, sin embargo, algunos investigadores como Peterson (1989) han logrado incrementar el tamaño de camada, tasa de sobrevivencia, y peso de la camada al destete, al utilizar diferentes grupos genéticos.

La mejora en la eficiencia reproductiva puede enfocarse a una selección basada en una menor edad al primer servicio, ya que esta característica presenta un índice de herencia (0.33) moderado (Rothschild and Bidanel, 1998), pudiendo ser un excelente candidato a selección. Al respecto, Lamberson *et al.*, (1991) reportaron respuestas a esta característica, después de ocho generaciones de selección, desde -1.64 hasta -3.32 días de edad al primer servicio. Esto pudiera representar una oportunidad de selección de este carácter, ignorando el bajo valor de herencia asociado a tamaño de camada; sin embargo, una selección de edad al primer servicio no garantiza los éxitos en los servicios a hembras de primer parto, además de tener poco valor económico para ser incluida en programas de selección.

Además de la prolificidad de la hembra, los sistemas de producción porcina basan su eficiencia económica en lograr una rápida y eficiente tasa de crecimiento de las camadas, reducido consumo de alimento, bajo espesor individual de grasa y alta calidad de la carne.

Correlación entre caracteres reproductivos. La existencia de asociaciones entre los caracteres reproductivos: tamaño de camada con peso al nacer y

sobrevivencia pre-destete (sobrevivencia de los lechones hasta el destete) puede limitar la mejora genética en tamaño de camada. La correlación genética entre tamaño de camada y tasa de sobrevivencia pre-destete es negativa en la mayoría de las razas de cerdo (Rothschild y Bidanel, 1998; Knol, 2001). Además, un peso al nacer bajo se traduce en disminución de la tasa de crecimiento antes y después del destete, por lo que Quiniou *et al.* (2002) recomiendan seleccionar lechones más pesados. La importancia de pesos al nacer altos y tasa de sobrevivencia se ha determinado en varios estudios (Fireman and Siewerdt, 1997; Daza *et al.*, 1999) lo que ha llevado al planteamiento de un aumento en la tasa de sobrevivencia a través de una mejora genética en el peso al nacer. Sin embargo, resultados contradictorios son reportados por Siewerdt y Cardellino (1996) y Grandinson *et al.* (2000), quienes encontraron una correlación genética negativa entre estas dos características. Estos resultados fueron confirmados por Knol (2001) quien evaluó diferentes estrategias de selección para mejorar tasa de sobrevivencia, llegando a la conclusión de que una selección individual para aumento del peso al nacer no produce un aumento significativo sobre la sobrevivencia de los lechones. Una selección directa para sobrevivencia de los lechones puede afectar más en la composición corporal, que sobre el peso al nacer. Knol *et al.* (2002) sugieren que no es el promedio de peso al nacer, sino la variación de esta característica dentro de la camada lo que incide sobre los problemas con los lechones pequeños. Lechones muy pequeños al nacer tienen una mayor probabilidad de morir como resultado de traumas, enfriamiento o

hambre, en comparación de sus compañeros de camada de mayor tamaño y más competitivos (Van der Lende *et al.*, 2001).

La presencia de una correlación genética negativa entre el peso al nacer y tasa de sobrevivencia ha sido reportada por Leenhouders *et al.* (2002). Estos autores establecen que una selección para tasa de sobrevivencia de los lechones puede traducirse en una disminución en los promedios de peso al nacer, peso de la placenta y un aumento en el porcentaje de grasa en canal y en la madurez de los lechones al nacimiento. Este aumento de la madurez provocó mejor capacidad para hacer frente a los riesgos durante el parto y durante los primeros días de vida, lo que se traduce en mayor tasa de sobrevivencia pre-destete. Mersmann *et al.* (1984) sugirieron que un aumento en las reservas corporales contribuyó a un aumento en la sobrevivencia, debido a una mejor termorregulación y disponibilidad de energía directamente utilizable.

4.4. Genética molecular aplicada en la producción animal

El desarrollo actual de técnicas de la biología molecular permite detectar variabilidad genética a nivel de la molécula de ADN, a través del uso de marcadores moleculares. Estos marcadores genéticos se han utilizado como métodos de diagnóstico molecular en sanidad animal, detección de portadores, identificación genética, análisis de trazabilidad y diversidad genética, construcción de mapas genómicos y la búsqueda de efectos génicos individuales de naturaleza cuantitativa (*locus* de rasgo cuantitativos o QTL) o cualitativa. La mayor parte de estos marcadores se han desarrollado a partir de la estrategia de genes candidatos, en la que se conoce previamente la función del gen y en

consecuencia resulta previsible su influencia en el carácter estudiado (Becerra y Paredes, 2000).

Los marcadores genéticos, en producción animal, han proporcionado información para realizar prácticas de mejora genética, como pruebas de paternidad, estudios de descendencia, selección asistida para rasgos productivos; detección de genes ligados a características productivas, identificación de animales portadores de enfermedades o mutaciones, programas de cruzamiento y selección, determinación de distancia genéticas y diversidad entre poblaciones e individuos (Schnabel *et al.*, 2000; Rodríguez-Zas *et al.*, 2002; Uffo, 2003).

Un marcador molecular se define como una región del genoma, que generalmente es de posición conocida, que presenta polimorfismo y se hereda de forma mendeliana. El polimorfismo genético hace referencia a la existencia de varios alelos de un gen en la población; es decir es una variación en la secuencia de un lugar determinado del ADN entre los individuos de una población. Aquellos polimorfismos que afectan a la secuencia codificante o reguladora y que producen cambios importantes en la estructura de la proteína, pueden traducirse en los diferentes fenotipos observados (Ferreira y Grattapaglia, 1998).

Los atributos ideales de un marcador son: (a) polimorfismo, (b) herencia mendeliana no epistática, (c) no influenciado por el ambiente, (d) simplicidad en la identificación y análisis, (e) codominancia y (f) posibilidad de detección en las primeras fases de desarrollo del individuo. Un polimorfismo puede consistir en la sustitución de una simple base nitrogenada (por ejemplo, la sustitución de una adenina por una citocina o puede ser más complicado (por ejemplo, la repetición

de una secuencia determinada de ADN, donde un porcentaje de individuos tenga cierto número de copias de una determinada secuencia) (Ferreira y Grattapaglia, 1998).

La capacidad de identificar marcadores moleculares en las diferentes especies, permite conocer los genes que codifican para características cuantitativas de interés para el productor. Algunos estudios han evidenciado relaciones entre alelos y el comportamiento fenotípico de algunas características en varias especies animales. Estos estudios apoyan la idea de adicionar información genotípica a los registros de producción, para incrementar la respuesta a la selección, lo cual se conoce como selección asistida por marcadores moleculares (Dekkers, 2004).

Tipos de marcadores biológicos utilizados. Se conocen dos tipos de marcadores genéticos, los de tipo I o marcadores morfológicos, que corresponden a genes que tienen una función definida y una secuencia nucleotídica, conservada entre las distintas especies de mamíferos, los cuales son muy utilizados para estimar la variación morfológica de una población y los marcadores de tipo II o marcadores moleculares, que corresponden a secuencias anónimas de ADN, generalmente son de tipo microsatelital y sin conservación entre especies, los cuales se dividen en marcadores bioquímicos y marcadores de ADN (Becerra y Paredes, 2000).

Los primeros marcadores moleculares que se desarrollaron fueron los isoenzimas, que son proteínas y los RFLPs que emplean ADN.

Isoenzimas. Son enzimas que catalizan la misma reacción bioquímica, sin embargo, presentan algunas diferencias en la cadena de aminoácidos, las cuales se pueden detectar mediante electroforesis. Constituyen la primera generación de marcadores moleculares. Las isoenzimas generalmente son marcadores codominantes, sin embargo el número es muy limitado y se restringe a regiones codificantes del genoma. Son polimorfismos detectados mediante electroforesis, por cambio de un aminoácido en el péptido producido durante la traducción, causando un cambio en la estructura tridimensional de la proteína.

EI RFLP (Restriction Fragment Length Polymorphism) o Polimorfismos de Longitud de Fragmentos de Restricción es uno de los métodos para examinar la variación de secuencias de ADN, y consiste en la utilización de endonucleasas de restricción. Esta técnica explota las variaciones en las secuencias del ADN por cambios de bases, adiciones o deleciones de fragmentos de ADN en estos sitios, modifican la distancia entre pares de bases de los sitios de restricción y generan fragmentos polimórficos. Los RFLP son marcadores dialélicos y codominantes por lo cual, durante la lectura de los resultados se pueden encontrar los tres genotipos posibles (Asmussen y Clegg, 1985; Ferreira y Grattapaglia, 1998).

Las diferencias entre los fragmentos encontrados entre los individuos son debidas a un simple cambio de un nucleótido, que ocurre en una cadena de ADN. Anteriormente se utilizaban con el genoma completo, pero en la actualidad se utilizan en fragmentos previamente amplificados mediante PCR (PCR-RFLP) mejorando así la exactitud de la técnica. Ya obtenido el fragmento de restricción, se coloca en gel de agarosa y se detecta por electroforesis (Gerbens *et al.*, 1997).

Sin embargo, es una técnica muy laboriosa, difícil de automatizar, requiere de infraestructura adecuada para mantener las sondas, y trabajar con sustancias radiactivas, lo que los hace relativamente costosos.

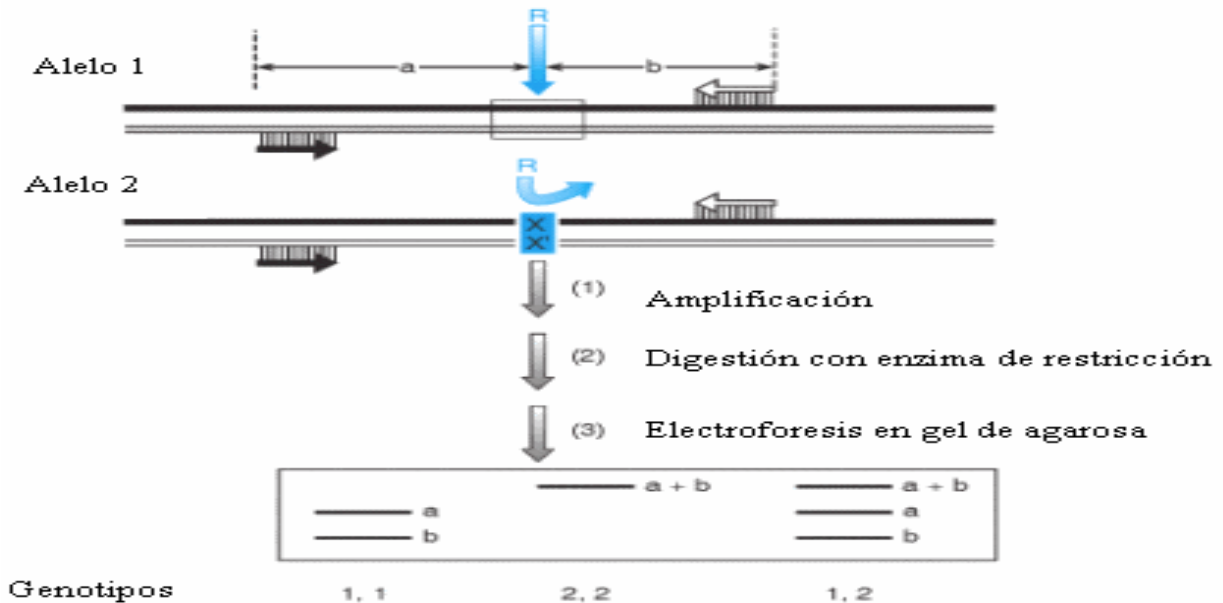


Figura 1. Representación esquemática del principio genético del RFLP.

Mullis *et al.* (1986) desarrollaron una técnica para la amplificación específica de un segmento corto y concreto de DNA *in vitro* haciendo uso de una polimerasa de ADN, desoxinucleósidos trifosfato, ADN y oligonucleótidos específicos que flanquean el segmento a amplificar. A esta técnica la denominaron reacción en cadena de la polimerasa (PCR). Se pueden producir grandes cantidades de ADN específico partiendo de tan sólo una molécula de ADN. Esta técnica podía ser ejecutada sobre varias muestras a la vez y requería tan sólo unas horas para terminar. A partir de la descripción original, se simplificó y mejoró el protocolo mediante el uso de una polimerasa de ADN termoestable

aislada de la bacteria *Thermus aquaticus* (*Taq*). Se trata de una enzima que permanece activa a temperaturas superiores a 90°C, necesarias para desnaturalizar el ADN. A la par del desarrollo del termociclador, la *Taq* polimerasa reduce el trabajo necesario para llevar a cabo la reacción. Todos los componentes pueden, por lo tanto, ser añadidos al comienzo de la reacción sin necesidad de suplementar la enzima en cada ciclo. Durante los últimos años esta técnica ha impulsado el análisis y conocimiento de los ácidos nucleicos consolidándose como una herramienta poderosa en el desarrollo de técnicas de Biología molecular. Las polimerasas del ADN llevan a cabo la síntesis de una cadena complementaria de ADN en dirección 5'→3' usando un molde de cadena simple, pero empezando a partir de un punto de doble cadena con un extremo 3' libre. El PCR se basa en este principio, emplea dos secuencias de oligonucleótidos llamados primers o cebadores, cada una complementaria a una región concreta del ADN molde, que flanquean la zona de interés, de manera que un primer o cebador se une a una cadena y el otro a la complementaria en la otra región. Cuando la *Taq* polimerasa, una vez desnaturalizado el ADN y realizada la hibridación de los primers, encuentra un extremo 3' de doble cadena, inicia la síntesis de una hebra complementaria en dirección hacia la zona donde se encuentra la secuencia del otro primer y viceversa. El ADN se desnaturaliza de nuevo y se repite la hibridación de los primers en los mismos lugares y, además, sobre las cadenas

nuevas recién sintetizadas. La *Taq* polimerasa interviene de nuevo, con la diferencia de que en este nuevo ciclo tiene el doble de cadenas de ADN molde. Al repetir los ciclos secuencialmente hay un incremento exponencial de copias de la misma región. Los requerimientos de la reacción son simples: a) desoxinucleósidos trifosfatos que proporcionan energía y nucleótidos para la síntesis de la nueva cadena, b) polimerasa de ADN, c) primers o cebadores, d) tampón adecuado con sales, generalmente de magnesio. Los desoxinucleótidos y primers se disponen en exceso. Los ciclos de calentamiento y enfriamiento (desnaturalización, hibridación y síntesis) se repiten hasta que la reacción se desequilibra y disminuye el rendimiento o la calidad del producto sintetizado. Generalmente de 30 a 35 ciclos son suficientes para producir de 100 ng a 1 µg de ADN a partir de una copia simple de ADN molde (Julio, 2003).

4.5. Importancia de los genes candidatos

La expansión de la tecnología del mapeo del genoma porcino, gracias a la ayuda de técnicas de genética molecular, ha permitido detectar y aislar genes individuales específicos o regiones del genoma asociados a una o a un complejo de características como las de tipo reproductivas (Rothschild, 1998).

Una estrategia utilizable es la del gen candidato, la cual se utiliza para identificar genes marcadores potenciales que pueden resultar ligados a características de importancia económica. Consiste en seleccionar un gen basándose en la función biológica, bioquímica o patológica particular que se trate

y que se supone que afecta su comportamiento (Rothschild y Soller 1997); enseguida se identifican los polimorfismos para cada gen (Rothschild *et al.*, 2000) y posteriormente se evalúa la asociación entre el marcador y la característica de interés en pos de buscar una relación. Los estudios sobre genes candidatos no requieren ningún experimento de cruzamiento, pueden ser aplicables bajo cualquier situación comercial.

A la fecha varios genes mayores han sido identificados con esta estrategia de genes candidatos, la cual es más poderosa que el uso de QTLs (Isler, 2003), ya que la localización de genes candidatos puede ser más fácilmente determinada y con mayor precisión a una base nucleótida polimórfica específica. La mayor desventaja de un gen candidato es la de conocer con antelación la secuencia y función sobre el gen de interés antes de iniciar un estudio.

En la actualidad, los animales son seleccionados directamente con base a genes individuales con efectos mayores en características cuantitativas, mejoran de esta manera la precisión en los programas de selección (Rothschild *et al.*, 1996). Un programa de selección busca incrementar la frecuencia de alelos favorables en la población. En la industria porcina se han iniciado programas de selección para mejorar caracteres reproductivos (Rothschild, 1998), con ayuda de estrategias de genes candidatos y esquemas de selección asistida en marcadores (SAM), tal es el caso de tamaño de camada (Vincent *et al.*, 1998). Los esquemas de selección asistida pueden incrementar la tasa de progreso genético en caracteres de importancia económica hasta un 20% (Johnson *et al.*, 1996; Rothschild *et al.*, 2000). Combinada con métodos de selección tradicional, que

hacen uso de información de producción y genealogía. Los esquemas SAM son efectivos en características como tamaño de camada, por ser limitada al sexo, poseer bajo índice de herencia y obtener información de la hembra hasta que alcanza su madurez sexual (Soller, 1994). El uso de marcadores genéticos permiten identificar a una edad temprana a los machos y a las hembras con alelos favorables, lo que mejora la intensidad de la selección, reduce el intervalo entre generaciones y aumenta el progreso genético (Drogemuller *et al.*, 2001).

4.6. Genes candidatos para características reproductivas

El número de genes y marcadores asociados a un incremento en la eficiencia reproductiva incluyen el gen receptor de estrógeno (Rothschild *et al.*, 1996), receptor de prolactina (Vincent *et al.*, 1998), y retinol ligada a proteína-4 (Rothschild *et al.*, 2000). Además, hay evidencia de que el marcador microsatélite Sw444 tiene efecto sobre la tasa de ovulación y longitud uterina (Wilkie *et al.*, 1996). Rathje *et al.* (1997) descubrieron posibles QTL en el cromosoma 8, 4, 13, and 15 influyendo tasa de ovulación. Cassady *et al.* (2001) encontraron QTLs en el cromosoma 9 para tasa de ovulación, en el cromosoma 11 para cerdos completamente formados, en el cromosoma 7 para edad a la pubertad. Asociaciones significativas han sido documentadas entre genes candidatos con tamaño de camada (ESR, PRLR, RBP4), (Rothschild, 2003).

4.7. Gen receptor de estrógeno (ESR).

El gen ESR se encuentra en la región de p (1p25-p24) porcina del cromosoma 1 (Rothschild *et al.*, 1996). El receptor de estrógeno es un receptor nuclear, que

funciona como un factor de transcripción activado ligando (Katzenellenbogen, 1996). Después de la unión del ligando con el estrógeno, el complejo receptor-ligando se unirá al ADN del elemento de respuesta hormonal, con lo que se modula la expresión del gen objetivo, ya sea por represión o por el aumento de la transcripción (Figura 2). Su expresión se relaciona fisiológicamente como hormona esteroidea, la cual a través de sus receptores juegan un papel integral en el proceso reproductivo (O'Malley 1990).

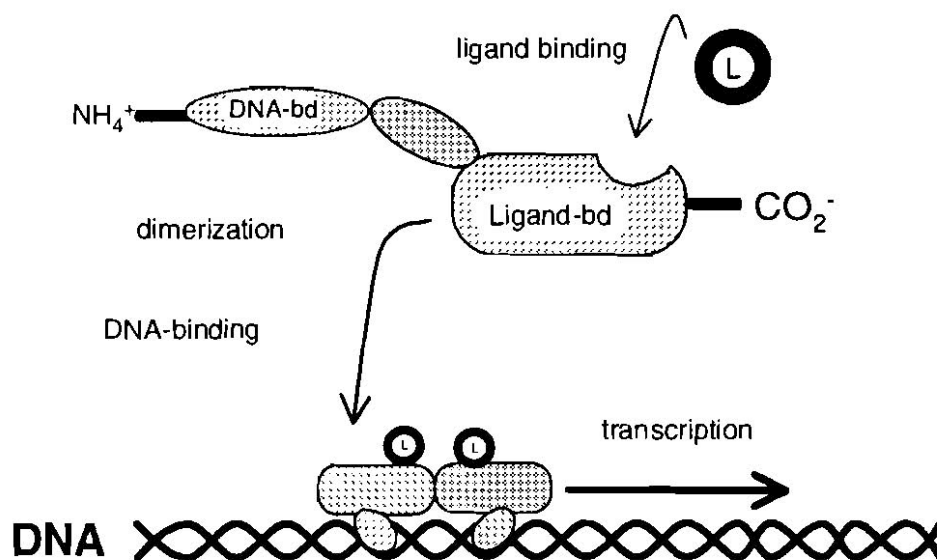


Figura 2. Representación esquemática de la función del ESR

Sobre la base de homología de secuencia de aminoácidos con otros receptores esteroideos, ESR puede dividirse en seis regiones (A, B, C, D, E, F, Krust et al., 1986), que son codificados por ocho diferentes exones del gen ESR, y que representan diferentes dominios funcionales. La región A/B está localizada en el lado amino terminal de la proteína y es la región menos conservada entre los

distintos receptores nucleares. Este dominio, N-terminal y codificado por el exón 1, contiene una función de activación de la transcripción genética (Activation Function 1 o AF-1) y varios sitios de fosforilación, que son importantes en el proceso de activación de la proteína especialmente en los procesos donde el receptor es activado en ausencia de hormona (Ignar-Trowbridge *et al.*, 1992).

Adyacente se encuentra la región de unión al ADN o dominio C, codificado por los exones 2 y 3, es la más conservada entre los diferentes receptores nucleares compuesta por nueve residuos de cisteínas que son invariablemente conservados entre los diferentes receptores esteroideos, de los cuales, ocho están coordinados alrededor de dos iones de Zn^{2+} para formar dos dedos de zinc que le confieren al receptor la capacidad de unirse específicamente al ADN. La unión a una secuencia específica en el ADN está determinada por la composición de aminoácidos localizada entre estos dos dedos de zinc, conocida como la caja P (P-box) (Freedman, 1992). Entre la región de unión al ADN y el dominio E/F, se encuentra la región D o región de bisagra, codificada por el exón 4, la cual no ha sido bien caracterizada y que participa en la unión a la proteína chaperona de golpe de calor hsp90 (heat shock protein 90), la cual permanece unida al receptor mientras éste se encuentre en un estado inactivo. Finalmente, en el extremo carboxiterminal se encuentra la región E/F o dominio de unión al ligando (LBD), donde se une la hormona (E2). Esta región es codificada por los exones 5-8 y a pesar que es conservada entre los diferentes receptores esteroideos es altamente específica para su hormona, es decir que el receptor de estrógeno une estrógeno con alta afinidad, pero no otras hormonas esteroideas. Otras funciones de este

dominio incluyen otra función de activación de la transcripción o AF-2 (Activation Function 2), dimerización, interacción con otras proteínas co-activadoras o co-represoras de la transcripción, fosforilación y localización nuclear. En los cerdos la longitud total del ESR es de 595 aminoácidos, con los dominios A, B, C, D, E y F, con longitudes de aminoácidos de 38, 142, 83, 39, 251, y 42 respectivamente (Figura 3; Bokenkamp et al, 1994).

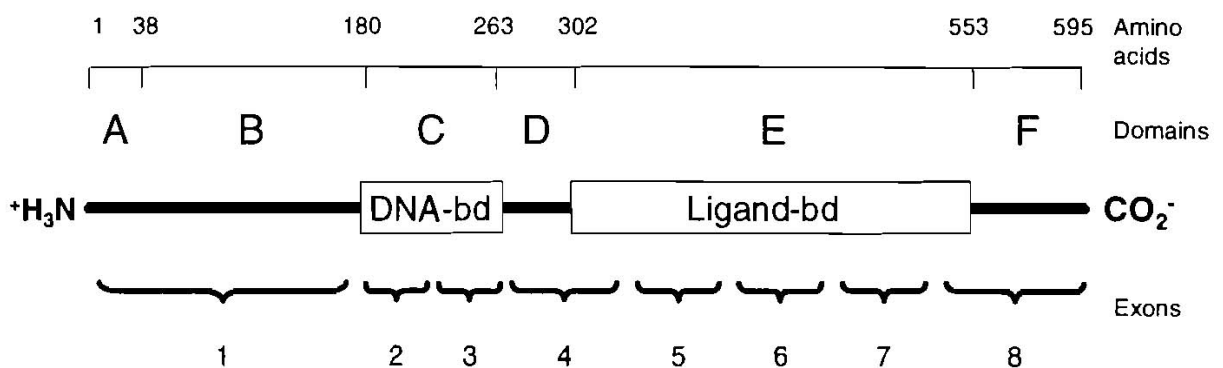


Figura 3. Estructura del receptor de estrógeno porcino y sus exones relacionados. (Bokenkamp et al., 1994).

Entre los procesos en los que interviene se encuentran: a). mortalidad en embriones (Pope, 1994), b). efecto materno durante la gestación (Geisert et al., 1990), crecimiento del feto (Hafez, 1996), peso medio de fetos-útero, así como peso de la camada al nacer (Isler et al., 1999). El estrógeno presenta relación con la preñez y su función es medida a través de su receptor, entonces este gen puede ser considerado para el estudio del tamaño de la camada en cerdos (Drogemuller et al., 2001), ya que existe una asociación del locus ESR y un gen mayor afectando tamaño de camada (Rothschild et al., 1996).

Rothschild *et al.* (1994 y 1996) y Short *et al.* (1997) señalan la presencia de efectos aditivos importantes para el alelo B del gen receptor del estrógeno en el tamaño de la camada. Como gen-candidato, el gen receptor de estrógeno (ESR) ha mostrado un gran efecto aditivo positivo oscilando desde 0.4 a 0.6 lechones nacidos vivos por camada para el grupo genético Large White, a 1.25 lechones nacidos vivos por camada en animales cruzados con Meisham (Rothschild *et al.*, 1996; Short *et al.*, 1997). Isler *et al.* (2002) señalan que el genotipo B tiene mayor asociación con la prolificidad, presenta baja frecuencia en la población y afirman que con un esquema de SAM pudiera incrementarse la tasa de progreso genético para prolificidad.

Existe poca atención en el efecto del gen ESR sobre peso al nacer, tamaño de camada al destete, y peso al destete. (Isler *et al.*, 2002). Efecto favorable para grasa dorsal y consumo diario promedio fue asociado al alelo B, con un efecto desfavorable hacia número de lechones Rothschild *et al.* (1996). Drogemuller *et al.* (2001) no encontraron asociaciones importantes entre los genotipos para ESR y TNB, NBA, espesor de la grasa dorsal y ganancia diaria promedio en poblaciones Landrace, Duroc, y líneas sintéticas Large White/Duroc.

Goliasova y Wolf, (2004) evaluaron el efecto del polimorfismo de *PvuII* del gen receptor del estrógeno en características productivas y tamaño de la camada en cerdos Large White checos, utilizando 1250 hembras y 3600 camadas. El locus del receptor del estrógeno se afectó ($P < 0.05$) entre partos. Además, no se observó efecto ($P > 0.05$) de la dominancia para prolificidad. El peso de la camada al destete, no mostró efecto aditivo significativo por el locus del ESR, sin embargo,

existió efecto dominante negativo (-1.5 kilogramos), donde las camadas de las hembras AB fueron similares a las de hembras BB.

Gibson *et al.* (2002) evaluaron el polimorfismo en el sitio de reconocimiento de *PvuII* para el gen ESR no encontrando asociación significativa con caracteres de productividad en las hembras, en una población de Large White F2 con Meishan.

4.8. Gen receptor de prolactina (PRLR).

La prolactina (PRL) es una hormona peptídica primariamente secretada por la pituitaria anterior en respuesta a factores como los estrógenos. En hembras porcinas, PRL se asocia en el control de la esteroidogénesis folicular y luteal. Su receptor presenta una forma corta de 310 aminoácidos, clonado primeramente a partir de hígado de ratas (Boutin *et al.*, 1988) y una forma larga de 610 aminoácidos, clonado a partir de ovario de ratas (Zhang *et al.*, 1990).

El receptor de prolactina pertenece a la misma familia del receptor de hormona de crecimiento (Clevenger *et al.*, 1998), y han sido detectados en varios tejidos incluyendo cerebro, ovario, placenta y útero en diferentes mamíferos (Kelly *et al.*, 1991). Los receptores de prolactina en células luteales incrementan durante la preñez en la hembra porcina (Jammes *et al.*, 1985). El gen receptor de la prolactina (PRLR) está localizado en la región q del cromosoma 16 (Vincent *et al.*, 1997), y es un fuerte gen candidato para características reproductivas en cerdos.

El receptor de la prolactina es una proteína simple ligada a la membrana. Contiene un dominio extracelular, transmembranal e intracelular. Su estructura se muestra en la Figura 4. Una interacción de los estrógenos y la prolactina es

responsable por la redirección de la secreción de la prostaglandina F luteolítica (PGF₂) de una ruta endócrina, hacia el estroma endometrial y vascular, a una ruta exócrina, hacia el lumen uterina (Gross et al., 1990). Por lo tanto, PGF₂ es secuestrado en el lumen uterino no siendo disponible, via la vascularidad útero-ovárica, para ejercer su efecto luteolítico.

Asociaciones entre genotipos del gen PRLR y características reproductivas han sido reportadas para seis líneas PIC (basadas en Large White, Landrace, Duroc, Meishan, Landrace × Pietrain y Large White × Chinese Meishan) (Rothschild et al., 1998; Van Rens et al., 2003), Large White sintética, Landrace sintética, líneas sintéticas Meishan (Vincent et al., 1998; Southwood et al 1999); Duroc (Drogemüller et al., 2000) y hembras cruzas Large White × Meishan F2 (Van Rens and Van Der Lende 2002).

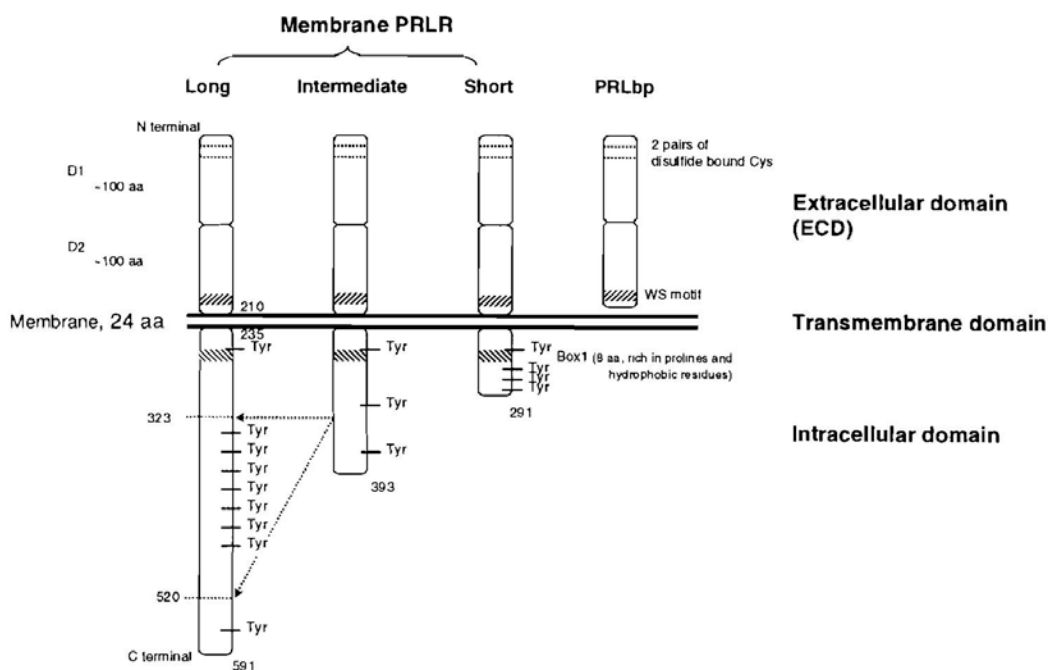


Figura 4. Estructura del PRLR. (Bole-Feysot et al., 1998).

Los genotipos AA de este gen han mostrado asociación con tamaño de camada. En primeras camadas, los individuos de genotipo AA presentaron mayores números de lechones nacidos vivos (Rothschild *et al.*, 1998; Vincent *et al.*, 1998; Southwood *et al.*, 1999). Linville *et al.* (2001) no encontró ninguna asociación.

4.9. Selección asistida por marcadores

La selección tradicional como estrategia de mejoramiento incorpora la expresión fenotípica como fuente de información de la variabilidad existente, como objetivo y como criterio de selección. El constante progreso en la tecnología de la información ha hecho posible tanto la separación de los efectos genéticos y ambientales, como la estimación de valores de cría aprovechando toda la información genética disponible en lugar de únicamente sobre la base de los datos fenotípicos. La teoría del índice de selección se basa en la combinación de varios caracteres o fuentes de información, de tal manera de maximizar la precisión del índice como predictor del objetivo de la selección. Lofgren *et al.* (1994) y Short *et al.* (1994) han mejorado tamaño de la camada en cerdos de aplicar índices de selección y los mejores predictores linealmente insesgados (BLUP). En la actualidad el tamaño de la camada puede ser mejorado mediante el uso de aplicaciones BLUP (por ejemplo, STAGES, Schinckel *et al.*, 1986; PEST, Groeneveld *et al.* 1990; PIGBLUP, Long *et al.*, 1992) en programas de selección.

Sin embargo, y aún después de estos esfuerzos, el progreso genético sobre tamaño de camada no ha sido significativo, así por ejemplo en cerdas Landrace de origen alemán, en 1935 se tenía un promedio de 10.5 lechones al

nacer y alcanzó su punto máximo entre 1960 y 1970 con 10.9 lechones. Desde entonces, el tamaño de camada se redujo a 10.3 en 1999 (Steinheuer *et al.*, 2003). Estas dificultades en la mejora de tamaño de la camada son atribuibles a su bajo índice de herencia, que se estima en promedio a 0.09 para el número de lechones nacidos vivos (Hanenberg *et al.*, 2001; Lamberson, 1990; Rothschild y Bidanel, 1998). Además, de ser un carácter limitado al sexo y no ser medible sino hasta la madurez sexual. Estas restricciones biológicas pueden ser superadas por la aplicación de métodos de genética molecular, en particular la inclusión de marcadores genéticos en estrategias de selección. La esencia de la utilización de marcadores genéticos en programas de mejoramiento es que éstos marcan regiones cromosómicas y hacen posible seguir la herencia de estas regiones de progenitores a la progenie. Por lo tanto, si conocemos los segmentos del cromosoma que contienen alelos deseables, los marcadores pueden ser utilizados en la identificación de animales que han heredado estos alelos aunque no se disponga de registros fenotípicos o de información sobre la progenie (Visscher *et al.*, 1998).

Con la identificación de marcadores moleculares asociados a loci que codifican tanto para características cualitativas como para características cuantitativas (QTL), se plantea la posibilidad de realizar selección asistida por marcadores. En la industria porcina se ha desarrollado esquemas de selección asistida por marcadores (Rothschild y Plastow, 1999; y Rothschild, 2000). Esta se basa en: i) conjugar la variabilidad fenotípica y genotípica como fuente de información de la variabilidad existente, y ii) utilizar como criterio de selección una

variable genética, en este caso marcadores moleculares asociados a la característica de interés.

La genética molecular, junto con análisis genéticos cuantitativos, permitirían detectar los de mayor efecto o bien regiones genómicas más o menos acotadas en las que se encuentren uno o varios genes con efecto significativo sobre el carácter cuantitativo (QTL), donde la detección de QTL se realiza empleando dos rutas: 1. Gen Candidato: Gen que interviene en algún proceso fisiológico conocido, relacionado con el carácter en estudio. 2. Marcadores: Secuencias de ADN vecinas de algún gen que afecta a un carácter cuantitativo.

Dentro de las características deseables de los marcadores se encuentran: elevada variabilidad, especificidad para una sola zona del genoma, distribuidos por todo el genoma, asociados con los QTL. Para realizar selección asistida por marcadores moleculares se requiere del conocimiento del número, ubicación y efectos de los loci que afectan caracteres cuantitativos (QTL) de interés.

La Selección Asistida por Marcadores (SAM) consiste en combinar la información aportada por los marcadores que predice (como un índice), el efecto de los QTL y la información del rendimiento del animal, para elegir entre los candidatos aquellos que deberán ponerse a prueba, mejorando la precisión de la selección al permitir un incremento de la intensidad de selección y reducción del intervalo generacional.

El uso de los esquemas SAM es particularmente eficaz para los caracteres de escaso índice de herencia como fertilidad y resistencia a las enfermedades, en QTL marcados que tienen un efecto importante (de 0.5 a 1 de desviación típica

genética), cuando los caracteres se expresan en un solo sexo o tardíamente en la vida del animal (selección lechera), y cuando son difíciles de medir (resistencia a las enfermedades). Una posibilidad de aplicar SAM está en la selección sobre tamaño de la camada directamente después del nacimiento del individuo sobre la base de la información del marcador genético (Soller, 1994). Una selección aplicada únicamente en base a la información fenotípica será menos eficiente para aquellas características que pueden ser registradas en etapas tempranas de desarrollo a través de genotipos (Dekkers y Hospital, 2002).

Los marcadores genéticos disponibles para SAM pueden localizarse dentro de un gen (marcador intragénico) o cercano al gen (marcador intergénico). Cuando no son disponibles los marcadores intragénicos, marcadores situados a una distancia menor de 5 cM al gen pueden ser utilizados (Moreau *et al.*, 1998). Las desventajas de estos marcadores intergénicos son la posible pérdida del gen con efectos favorables, debido a la recombinación y a la existencia de diferentes fases de ligamiento entre los alelos del marcador y el gen con la mutación causal. Entonces, la existencia de un desequilibrio de ligamiento genético entre un alelo marcador y un locus para un carácter dentro de una familia o de una población es una condición necesaria para la utilización de marcadores ligados. El desequilibrio de ligamiento se define como la condición en la cual la frecuencia de un haplotipo particular para dos loci es significativamente diferente de aquella esperada bajo apareamiento aleatorio. La frecuencia esperada es el producto de las frecuencias alélicas observadas en cada locus (Dekkers y Hospital, 2002). La evidencia de desequilibrio de ligamiento puede ser detectable si el animal fundador de una

familia es heterocigótico para el marcador ligado, lo cual lo hace un factor limitante, por lo que es preferible un ligamiento más cercano entre el marcador y el carácter para evitar la recombinación y favorecer el desequilibrio de ligamiento en una población. Esto nos lleva a que marcadores intragénicos sean más adecuados para su aplicación en esquemas de SAM en comparación con aquellos marcadores intergénicos. Para éstos últimos, es demasiado arriesgado el utilizar solo la información del marcador sin considerar la evaluación fenotípica, sobre todo si los efectos del marcador sobre un carácter fueron detectados inicialmente en una población distinta o de antecedentes genéticos diferentes (Dekkers y Hospital, 2002).

La identificación del genotipo de un marcador debe ser seguido de la evaluación estadística de las posibles variantes alélicas sobre la característica (Milán, 2000). Efectos aditivos asociados al marcador pueden ser empleados en la selección de animales y la decisión de apareamiento con el fin de incrementar la frecuencia de genotipos favorables en la población, sin embargo pueden estar presentes en acción sobre el locus para el carácter, efectos epistáticos y pleiotrópicos con un efecto menor y variante entre poblaciones (Linville et al., 2001).

Una revisión sobre estrategias de mejoramiento haciendo uso de información sobre genes y fenotipos se presenta en Visscher et al. (1998) y Dekkers y Hospital (2002). Dos de estas estrategias son selección recurrente y programas de introgresión. La selección recurrente es el principal camino para la mejora genética en los animales y tiene por objeto la mejora de una raza o línea

como fuente de germoplasma superior para la producción comercial a través de selección dentro de raza o dentro de línea (Dekkers y Hospital, 2002). El objetivo de un programa de introgresión es la introducción de alelos de loci para caracteres particulares de una raza o línea (el donante) a otra (el receptor), con la ayuda de marcadores genéticos, por retrocruzas repetidas hacia una línea superior (Visscher et al., 1998).

En la estimación del valor de cría empleando la teoría de los índices de selección, utilizando información sobre marcadores moleculares, el caso más sencillo es el índice de Lande y Thompson (1990), en el cuál suponemos conocidos: a) los valores de cada marcador (valor molecular= m) y b) el fenotipo del individuo (z)

Según la teoría de Índices de selección, se deduce que

$$I = zh^2 \frac{1 - p}{1 - h^2 p} + m \frac{1 - h^2}{1 - h^2 p}$$

siendo $p = \frac{\sigma_m^2}{\sigma_a^2}$ la proporción de la varianza aditiva asociada a los marcadores

La respuesta obtenida mediante un índice es mayor que cuando se selecciona fenotípicamente o a través de los marcadores únicamente.

$$R = i\sigma_I = ih^2\sigma_z \sqrt{\frac{p}{h^2} + \frac{(1-p)^2}{1-ph^2}}$$

Según esta fórmula, la respuesta a la selección combinada de fenotipo y marcadores es eficiente cuando el índice de herencia es bajo y la varianza genética asociada a los marcadores es considerable.

Zhang y Smith (1993) y Gimelfarb y Lande (1994) demostraron que la eficacia no es siempre mayor a medida que aumenta el número de marcadores, pudiendo disminuir cuando los efectos de los QTL no han estado bien estimados. Además, si la evaluación genética se ha hecho vía BLUP, la ventaja de incluir información molecular es menos evidente y el desequilibrio de ligamiento va desapareciendo a lo largo de las generaciones, por lo que hay que reevaluar la aportación de los marcadores en cada generación.

Limitaciones del esquema de SAM y marcadores moleculares. La limitación de la aplicación de esquemas SAM está dada por un alto costo y problemas de logística. Además, si la frecuencia del polimorfismo es demasiado bajo, es necesario contar con ligamiento entre marcador y carácter. Para características con bajo índice de herencia es necesario contar con información fenotípica precisa.

Evaluación Genética para un solo QTL. El modelo para las observaciones:

$$y = Xb + Wq + Zu + e$$

Con efectos fijos en b , efectos del QTL en q y efectos poligénicos en u . La matriz de diseño W relaciona observaciones a los genotipos QTL

Esperanza: $E(y) = Xb + E(Wq)$

Varianza: $\text{var}(y) = \text{var}(Wq) + Z \text{var}(u) Z' + \text{var}(e)$

$\text{var}(u) = A \sigma_a^2$, donde σ_a^2 es la varianza (poli) génica aditiva.

QTL puede ser efecto fijo o aleatorio

Un modelo con ambos efectos: QTL y poligénicos, puede definirse como un modelo de herencia mixto, ya que el QTL no es necesariamente lo mismo que efecto poligénico.

Si consideramos QTL como efectos fijos: $E(Wq) = Wq$ y $\text{var}(Wq)=0$.

$$\begin{bmatrix} X'X & X'Z & X'W \\ Z'X & Z'Z + A^{-1}\lambda_U & Z'W \\ W'X & 0 & D \end{bmatrix} \begin{bmatrix} b \\ u \\ q \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} X'y \\ Z'y \\ W'y \end{bmatrix} - \begin{bmatrix} r \\ 0 \\ 0 \end{bmatrix}$$

$$D = \begin{bmatrix} \sum W_{i1} & 0 & 0 \\ 0 & \sum W_{i2} & 0 \\ 0 & 0 & \sum W_{i3} \end{bmatrix} \quad r = \begin{bmatrix} \sum W_{i1} \hat{u}_j(1) \\ \sum W_{i2} \hat{u}_j(2) \\ \sum W_{i3} \hat{u}_j(3) \end{bmatrix}$$

D es una sumatoria de probabilidades de genotipos más que productos cruzados de los coeficientes en W. Entonces, el método de Meuwissen y Goddard utiliza una sumatoria de tres regresiones sobre genotipos conocidos, cada uno ponderado por la probabilidad de tener ese genotipo.

Predicción del Valor de cría utilizando información de marcadores (según Mrode y Thompson, 2005). El modelo para las observaciones:

$$y = Xp + Zu + Wv + e$$

donde y es el vector de observaciones, p es el vector de efectos fijos, u es el vector aleatorio de efectos genéticos aditivos debidos a loci no ligados a un locus marcador, v es el vector aleatorio con efectos alélicos en MQTL y e son los efectos residuales. Las matrices X, Z, y W son las matrices de incidencia

$$\text{var}(u) = A_u \sigma_u^2, \text{var}(v) = G_v \sigma_v^2, \text{var}(e) = I \sigma_e^2,$$

$$\text{cov}(u,v) = \text{cov}(u,e) = \text{cov}(v,e) = 0$$

Las ecuaciones de modelos mixtos son:

$$\begin{bmatrix} X'X & X'Z & X'W \\ Z'X & Z'Z + A_u^{-1}\alpha_1 & Z'W \\ W'X & W'Z & W'W + G_v^{-1}\alpha_2 \end{bmatrix} \begin{bmatrix} p \\ u \\ v \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} X'y \\ Z'y \\ W'y \end{bmatrix}$$

donde $\alpha_1 = \sigma_e^2 / \sigma_u^2$, y $\alpha_2 = \sigma_e^2 / \sigma_v^2$

4.10. Efectos medios de sustitución

El efecto medio de sustitución de un gen es la desviación media con respecto al promedio de la población de los individuos que recibieron dicho gen de un progenitor, el gen recibido del otro progenitor habiendo provenido al azar de la población. De otra manera, si una cantidad de gametos que llevan un alelo favorable se unen al azar con gametos de la población, entonces la desviación media de los genotipos resultantes con respecto a la media de la población es igual al efecto medio del gen con el alelo favorable. El concepto de efecto medio es más fácil de entender en la forma del efecto medio de la sustitución de un gen, el cuál puede usarse más convenientemente cuando sólo están bajo consideración dos alelos a un locus. Por ejemplo, si se pudieran cambiar, digamos genes A2 por A1 al azar en la población, se podrían anotar el cambio resultante en el valor, éste sería el efecto medio de la sustitución de un gen. Es igual a la diferencia entre los efectos medios de los genes involucrados en la sustitución (Falconer y Mackay, 1996). El efecto medio o la sustitución de un gen está en función de la frecuencia génica y por tanto, es una propiedad de la población y del gen. La utilidad del concepto de efecto medio proviene del hecho de que los progenitores pasan a su progenie sus genes y no sus genotipos. Por lo tanto, son los efectos medios de los genes de los progenitores los que determinan el valor

genotípico medio de su progenie y al valor de un individuo, juzgado por el valor medio de su progenie, se le llama valor reproductivo o de cría del individuo, el cuál a diferencia del efecto medio, éste puede ser medido. Un resumen de estimaciones de efectos aditivos junto con estimaciones de efectos de dominancia para los genes ESR y PRLR se presentan en el cuadro 2.

Cuadro 2: Resultados de estimación de efectos aditivos y de dominancia para total nacidos vivos (TNV), según varios autores.

Gpo. genético	registros	Efectos aditivos (a) y de dominancia (d)	Referencia
<i>Gen receptor de estrógeno (ESR)</i>			
Líneas PIC con Meishan	276 C	a = 0.8 (P < 0.01) d = 0.6 (P < 0.01)	Rothschild <i>et al.</i> (1996)
Línea sintética Large White	4262 H 9015 C	a = 0.31 (P < 0.01) d = 0.14 (P < 0.05)	Short <i>et al.</i> (1997)
5 pob. Origen Chino y razas de Europa	262 H	a = 0.315 a 1.79 (P < 0.001) dependiendo de la raza	Chen <i>et al.</i> (2000)
3 Líneas PIC	523 H	a = 0.474 (NS) d = 1.58 (NS)	Linville <i>et al.</i> (2001)
F2 cruzas Large White x Meishan	275 H	AB vs AA tuvieron +1.22 TNV por camada (P < 0.05)	Van Rens <i>et al.</i> (2002)
<i>Gen receptor de prolactina (PRLR)</i>			
5 Líneas PIC	1077 H 2714 C	a = -0.33 a 0.47 (P < 0.05) d = -0.33 a 0.63 (P < 0.01) dependiendo de línea	Vincent <i>et al.</i> (1998)
5 Líneas PIC	2615 C	a = 0.1 a 0.9	Southwood <i>et al.</i> (1999)
Landrace Alemán, Duroc y líneas sintéticas	2159 H 8336 C	a= 0.71 (p < 0.05) para Duroc	Drögemüller <i>et al.</i> (2001)
3 Líneas PIC	524 H	a = -0.007 (NS) d = -0.466 (NS)	Linville <i>et al.</i> (2001)

H =hembras, C=camada

NS =No significativo (P>0.05)

PIC (Pig Improvement Company, Franklin, USA)

5. LITERATURA CITADA

- Asmussen, M. A; M. T. Clegg. 1985: Multiallelic RFLP in genetic counseling: population genetic considerations. *Hum. Hered.* 35:129-142.
- Aumaitre, A., Dagorn, J., Legault, C. and Le Denmat, M. 1976. Influence of farm management and breed type on sow's conception--weaning interval and productivity in France. *Livest. Prod. Sci.*, 3: 75-83.
- Becerra V.V. y M. Paredes C. 2000. Uso de Marcadores Bioquímicos y Moleculares en Estudios de Diversidad Genética. *Agricultura Técnica* 60: 270 – 281.
- Bennett GL, and Leymaster KA. 1989. Integration of ovulation rate, potential embryonic viability and uterine capacity into a model of litter size in swine. *J Anim Sci* 67: 1230-1241.
- Bichard, M., David, P.J. 1985. Effectiveness of genetic selection for prolificacy in pigs. *J.Reprod. Fert. Suppl.*, 33: 127-138.
- Bidanel JP, Milan D, Chevalet C, Woloszyn N, Bourgeois F, Caritez JC, Gruand J, Le Roy P, Bonneau M, Lefaucheur L, Mourot J, Prunier A, Desautes C, Mormede P, Renard C, Vaiman M, Robic A, Gellin J, Ollivier L. 1998. Détection de locus à effets quantitatifs dans le croisement entre les races porcines Large White et Meishan. Dispositif expérimental et premiers résultats. In: 30èmes Journées de la Recherche porcine en France, Paris, February 3- 5 1998, 117-125, ITP, Paris.
- Bidanel, J.P., J. Gruand, and C. Legault. 1994. An overview of twenty years of selection for litter size in pigs using "hyperprolific" schemes. *Proceedings of the Fifth World Congress on Genetics Applied to Livestock Production.* 17:512-515.
- Blowe, C. D., K.E. Boyette, M.S. Ashwell, E.J. Eisen, O.W. Robison and J.P. Cassady. 2006. Characterization of a line of pigs previously selected for increased litter size for RBP4 and follistatin. *J. Anim. Breed. Genet.*, 123, 389-395.
- Bokenkamp D, Jungblut PW, and Thole HH 1994. The C-terminal half of the porcine estradiol receptor contains no post-translational modification: determination of the primary structure. *Mol Cell Endocrinol*104:163-172.
- Bole-Feysot C, Goffin V, Edery M, Binart N, and Kelly PA 1998. Prolactin (PRL) and its receptor: Actions, signal transduction pathways and phenotypes observed in PRL receptor knockout mice. *Endocrin Rev* 19:225-268.

- Bolet G., J.P. Bidanel, L. Ollivier. 2001. Selection for litter size in pigs. II. Efficiency of closed and open selection lines. *Genet. Sel. Evol.* 33: 515-528
- Bolet, G., Legault, C. 1982. New aspects of genetic improvement of prolificacy in pigs. *Proc. of 2nd World Congress on Genetics Applied to Livestock Production, Madrid, V: 548-567.*
- Boutin J.M., Jolicoeur C., Okamura H., Gagnon J., Edery M., Shirota M., Banville D., Dusanter-Fourt I., Djiane J., Kelly P.A. 1988. Cloning and expression of the rat prolactin receptor, a member of the growth hormone/prolactin receptor gene family. *Cell* 53: 69-77.
- Boylan, W. J., W. E. Rempel and R. E. Comstock. 1961. Heritability of litter size in swine. *J. Anim. Sci.* 20:566-568.
- Cassady JP, Johnson RK, Pomp D, Rohrer GA, van Vleck LD, Spiegel EK, Gilson KM. 2001. Identification of quantitative trait loci affecting reproduction in pigs. *J. Anim. Sci.* 79, 623-633
- Chen KF, Huang LS, Li N, Zhang Q, Luo M, Wu CX. 2000. The genetic effect of estrogen receptor (ESR) on litter size traits in pig. *Yi Chuan Xue Bao* 27, 853-857
- Clevenger CV, DO Freier, and JB Kline. 1998. Prolactin receptor signal transduction in cells of the immune system. *J Endocrinol* 157: 187–197.
- Cole, H.H., and W.N. Garrett. 1980. *Animal Agriculture. The Biology, Husbandry, and Use of Domestic Animals.* 2nd. Ed. W.H. Freeman and Co. San Francisco, CA. 419 p.
- Dávalos A. G. 2002. *Detección de QTL de Importancia Económica y Análisis de Genes Candidatos en Poblaciones Porcinas Comerciales Españolas.* Tesis Doctoral; Ballaterra, Barcelona.
- Daza A, Evangelista JNB, Gutierrez-Barquin MG. 1999. The effect of maternal and litter factors on piglet mortality rate. *Ann. Zootechn.* 48, 317-325
- Dekkers JM, Hospital F. 2002. The use of molecular genetics in the improvement of agricultural populations. *Nat. Rev. Genet.* 3, 22-32
- Dekkers, J. C. M. 2004. Commercial application of marker- and gene-assisted selection in livestock: Strategies and lessons. *J. Anim. Sci.* 82: E313–E328.
- Drogemuller, C., H. Hamann and O. Distl. 2001. Candidate gene markers for litter size in different German pig lines. *J. Anim. Sci.*, 79, 2565–2570.

- Falconer, D. S., and T. F. C. Mackay. 1996. Introduction to Quantitative Genetics. 4th ed. Addison Wesley Limited, Edinburg Gate, Harlow Essex, U.K. 325 p. ISBN-13: 978-0582243026
- Ferguson, P.W., W.R. Harvey, and K.M. Irvin. 1985. Genetic, phenotypic, and environmental relationship between sow body weight and sow productivity traits. *J Anim Sci.* 60:375-384.
- Ferreira, M. E. y D. Grattapaglia. 1998. Introdução ao uso de marcadores moleculares em análise genética. EMBRAPA. 220p.
- Fireman FAT, Siewerdt F. 1997. Efeito do peso ao nascer sobre a mortalidade de leitões do nascimento ate 21 dias de idade. *R. Bras. Zootec.* 26, 479-484
- Freedman, L. P. 1992. Anatomy of the steroid receptor zinc finger region. *Endocr Rev* 13: 129-45.
- Geisert RD, Zavy MT, Moffatt RJ, Blair RM, and Yellin T. 1990. Embryonic steroids and the establishment of pregnancy. *J of Rep and Fertility* 40(suppl): 293-305
- Gerbens, F.; Rettenberger, G.; Lenstra, J.A.; Veerkamp, J.H.; Te Pas, M.F.W. 1997. Characterization, chorosomal localization, and genetic variation of the porcine heart fatty acid-binding protein gene. *Mammalian Genome* 8. 328-332.
- Gianola, D. (1988) Aspectos metodológicos de la evaluación genética por la prolificidad en el ganado porcino. I Congreso Monográfico Internacional SEPOR/88. Lorca.
- Gibson JP, Jiang ZH, Robinson JA, Archibald AL, Haley CS. 2002. No detectable association of the ESR Pvull mutation with sow productivity in a Meishan x Large White F2 population. *Anim. Genet.* 33, 448-450
- Gimelfarb A, Lande R. 1994. Simulation of marker-assisted selection in hybrid populations. *Genet Res* 63:39-47
- Goliasova, E.; J. Wolf. 2004. Impact of the ESR gene on litter size and production traits in Czech Large White pigs. *Anim. Gen.* 35: 293-297.
- Grandinson, K., Lund, M. S., Rydhmer, L. and Strandberg, E. 2002. Genetic parameters for the piglet mortality traits crushing, stillbirth and total mortality, and their relation to birth weight. *Acta Agric. Scand., Sect. A, Animal Sci.* 52: 167-173.
- Groeneveld, E. (1990) PEST User Manual (Vers. 3.1) FAL, Germany

- Gross TS, Mirando MA, Young KH, Beers S, Bazer FW, Thatcher WW. 1990. Reorientation of prostaglandin F secretion by calcium ionophore, estradiol, and prolactin in perfused porcine endometrium. *Endocrinology* 127, 637-642
- Hafez ESE .1996. *Reproducción e Inseminación Artificial de los Animales Domésticos*. Ed Mc Graw-Hill Interamericana México
- Haley CS, Avalos E, and Smith C. 1988. Selection for litter size in the pig. *Animal Breeding Abstracts* 56:317-332.
- Hanenberg EH, Knol EF, Merks JW. 2001. Estimates of genetic parameters for reproduction traits at different parities in Dutch Landrace pigs. *Livest. Prod. Sci.* 69, 179-186
- Hernández L. S. H., C. Lemus, R. A. Morales y J. G. Herrera. 2006. Efecto de Genes Candidatos Sobre Características Reproductivas de hembras Porcinas. *Revista Científica, FCV-LUZ / Vol. XVI, N° 6, 648 – 654.*
- Herrera H.J.G., C. Lemus F., y A. Barreras S. 2003. *Mejoramiento Genético Animal. Un enfoque aplicado*. Colegio de Postgraduados, Montecillo, Edo. de México. 151 p.
- Ignar-Trowbridge, D. M., Nelson, K. G., Bidwell, M. C., Curtis, S. W., Washburn, T. F., McLachlan, J. A., and Korach, K. S. 1992. *Proc Natl Acad Sci USA* 89: 4658-4662
- Isler BJ, Irvin KM, Neal SM, Moeller SJ, Davis ME, and Meeker DL. 1999. The effect of the estrogen receptor gene on litter traits in swine. *Res and Rev Poultry and Swine OARDC special circular* 171 50-53.
- Isler BJ, Irvin KM, Neal SM, Moeller SJ, Davis ME. 2002. Examination of the relationship between the estrogen receptor gene and reproductive traits in swine. *J. Anim. Sci.* 80, 2334- 2339
- Jammes H, Schirar A, and Djiane J. 1985. Differential patterns in luteal prolactin and LH receptors during pregnancy in sows and ewes. *J Reprod Fert* 73:27-35.
- Johnson, R. K., M. K. Nielsen, and D. S. Casey. 1999. Responses in ovulation rate, embryonal survival, and litter traits in swine to 14 generations of selection to increase litter size. *J. Anim. Sci.* 77:541–557.
- Johnson, R., T. Rathje, y G. Rohrer. 1996. A complete genome search for quantitative trait loci (QTL) affecting reproductive traits in pigs. *Research Investment Report*. National Pork Producers Council, Iowa, U.S.A.

- Julio S.H. 2003. Descripción, situación actual y estrategias de conservación de la raza bovina colombiana criolla Casanare. Tesis Doctoral. Facultad de Veterinaria. Universidad de Córdoba. España.
- Katzenellenbogen, BS. 1996. Estrogen receptors: bioactivities and interactions with cell signaling pathways. *Biology of Reproduction*, 54: 287-293
- Kelly PA, J Djiane, MC Postel-Vinay, and M Edery. 1991. The prolactin/growth hormone receptor family. *Endocr Rev* 12: 235–251.
- Knol EF, Leenhouwers JI, van der Lende T. 2002. Genetic aspects of piglet survival. *Livest. Prod. Sci.* 78, 47-55
- Knol EF. 2001. Genetic Aspects of Piglet Survival. Wageningen University, Wageningen, The Netherlands, Ph.D. dissertation
- Krust A, Green S, Argos P, Kumar V, Walter P, Bornert J-M, and Chambon P. 1986. The chicken oestrogen receptor sequence: homology with v-erbA and the human oestrogen and glucocorticoid receptors. *EMBO J* 5:891-897.
- Lamberson, W.R., R.K. Johnson, D.R. Zimmerman, and T.E. Long. 1991. Direct responses to selection for increased litter size, decreased age at puberty, or random selection following selection for ovulation rate in swine. *J Anim Sci.* 69:3129-3143.
- Lamberson, WR. 1990. Genetic parameters for reproductive traits. In: *Genetics of Swine*, Ed. Young LD, University of Nebraska, Lincoln
- Land, R.B. 1985. Knowledge for animal breeding. *Phil. Trans. R. Soc. Lond. B* 310, 243-289
- Lande, R. 1981. The minimum number of genes contributing to quantitative variation between and within populations. *Genetics* 149,1069-1080.
- Lande, R.; Thompson, R. 1990. Efficiency of marker assisted selection in the improvement of quantitative traits. *Genetics* 124,743-756.
- Leenhouwers, J. I., E. F. Knol, P. N. de Groot, H. Vos, and T. van der Lende. 2002. Fetal development in the pig in relation to genetic merit for piglet survival. *J. Anim. Sci.* 80:1759–1770.
- Legault, C., 1985. Selection of breeds, strains and individual pigs for prolificacy. *J Reprod Fertil Suppl*, 33: 151-166.
- Linville RC, Pomp D, Johnson RK, Rothschild MF. 2001. Candidate gene analysis for loci affecting litter size and ovulation rate in swine. *J. Anim. Sci.* 79, 60-67

- Lofgren DI, Stewart TS., 1994. Optimal contemporary group structure to maximize genetic progress through genetic evaluation of swine. *J Anim Sci.* 72:2254-2259.
- Long T, H Brandt, B Tier and SW Fuch. 1992. Introducing the 2th generation of PIGBLUP. In Proc of the 11th Conference of the Australian Association of Animal Breeding and Genetics: 433-435.
- Mersmann HJ, Stone RT, Yen JT, Lindvall RN. 1984. Factors affecting growth and survival of neonatal genetically obese and lean swine: cross fostering experiments. *Growth* 48, 209- 220
- Milan, D. 2000. Notion du gene candidat. INRA Productions Animales, serie "Genetique moleculaire: principes et application aux populations animales", 119–123.
- Moreau L, Charcosset A, Hospital F, Gallais A. 1998. Marker-assisted selection efficiency in populations of finite size. *Genetics* 148, 1353-1365
- Mrode, R.A. 2005. Linear models for the prediction of animal breeding values. 2nd ed. CABI Pub. UK. 163-192.
- Mullis, K., Facoma, F., Scharf, S., Snikl, R., Horn, G., Erlich, H. 1986. Specific amplification of DNA in vitro: the polymerase chain reaction. *Cold Spring Harbor Symposium Quantitative Biology* 51:260.
- O'Malley, B, 1990. The steroid receptor superfamily: More excitement predicted for the future. *Mol Endocrinol*, 4: 363-369.
- Ollivier, L., L. A. Messer, M. F. Rothschild and C. Legault. 1997. The use of selection experiments for detecting quantitative trait loci with an application to the INRA hyperprolific pig. *Genet. Res.*, 69, 227–232.
- Peterson, G.A. 1989. Evaluation of sow productivity index selection in landrace and Duroc swine. *Animal Breeding Abstracts*. 59:52.
- Pope WF. 1994. Embryonic mortality in swine. In: *Embryonic Mortality in Domestic Species*, pp53-77 Eds. Zavy MT, Geisert RD. CRC Press, Boca Raton
- Putnová L, A Knoll, J Dvorak, and S Cepica. 2002. A new *Hpa*II PCR-RFLP within the porcine prolactin receptor (PRLR) gene and study of its effect on litter size and number of teats. *J Anim Breed Genet* 119: 57-63.
- Quiniou N., J. Dagorn, D. Gaudre. 2002. Variation of piglets' birth weight and consequences on subsequent performance. *Livestock Production Science* 78: 63–70
- Rathje TA, Rohrer GA, Johnson RK. 1997. Evidence for quantitative trait loci affecting ovulation rate in pigs. *J. Anim. Sci.* 75, 1486-1494

- Rodriguez-Zas, S. L.; Southey, B.R; Heyen, D .W, Lewin, H.A. 2002. Detection of quantitative trait loci influencing dairy traits using a model for longitudinal data. *J Dairy Sci.*, 85: 2681-91.
- Roehe R. and B. W. Kennedy. 1993. Effect of Selection for Maternal and Direct Genetic Effects on Genetic Improvement of Litter Size in Swine. *J. Anim. Sci.* 71:2891-2904.
- Rothschild M.F., 2003 Advances in pig genomics and functional gene discovery. *Comparative and Functional Genomics* 4, 266-270.
- Rothschild MF and Bidanel JP. 1998. Biology and genetics of reproduction. In: *The Genetics of the Pig*, pp 313-343 Eds. Rothschild MF and Ruvinsky A. CAB International, New York
- Rothschild MF, Jacobson C, Vaske D, Tuggle C, Wang L, Short T, Eckardt G, Sasaki S, Vincent A, McLaren D, Southwood O, Van der Steen H, Mileham A, and Plastow G. 1996. The estrogen receptor locus is associated with a major gene influencing litter size in pigs. *Proc Natl Acad Sci USA* 93:201-205.
- Rothschild MF, Jacobson C, Vaske DA, Tuggle CK, Short TH, Sasaki S, Eckardt GR and McLaren DG. 1994. A major gene for litter size in pigs. *Proc World Congr Genet Appl Livest Prod* 21 :225-228.
- Rothschild MF, Larson RG, Jacobson C, Pearson P. 1991. Pvu II polymorphisms at the porcine oestrogen receptor locus (ESR). *Anim Genet* 22:448.
- Rothschild MF, Vaske DA, Tuggle CK, Messer LA, McLaren DG, Short TH, Eckhardt GR, Mileham AJ, and Plastow GS in collaboration with O1 Southwood and HAM van der Steen. 1995. Estrogen receptor locus is a major gene for litter size in the pig. 46th Ann Mtg Eur Assoc Anim Prod; 5pp.
- Rothschild MF, Vincent AL, Tuggle CK, Evans G, Short TH, Southwood O1, Wales R, and Plastow GS. 1998. A mutation in the prolactin receptor gene is associated with increased litter size in pigs. 26th International Conference on Animal Genetics, ISAG (International Society for Animal Genetics), August 9-14, 1998, Auckland, NZ;pp 105 (Abstr).
- Rothschild, M. F. and M. Soller, 1997. Candidate gene analysis to detect traits of economic importance in domestic livestock. *Probe*, 8: 13-20.
- Rothschild, M.F. 2000 Advances in pig molecular genetics, gene mapping and genomics. X Reunión de Mejora Genética. En (<http://etsia.upv.es/acteon>) Caldes, España.

- Rothschild, M.F. y Plastow, G.S. 1999. Advances in pig genomics and industry applications. *AgBiotechNet*. 1: 1–7.
- Rothschild, M.F., Plastow, G. S. 1999 Advances in pig genomics and industry applications. *AgBiotechNet*, 10: 1-8.
- Schinckel AP, Harris DL, Stewart TS, Lofgren DL. 1986, Swine testing and genetic evaluation system for the purbred swine associations. In: 3rd WCGALP, Lincoln, Vol. 10, 98- 109
- Schnabel RD, Ward TJ, Derr JN. 2000. Validation of 15 Microsatellites for Parentage Testing in North American Bison, *Bison bison* L. and Domestic Cattle. *Anim Gen* 31:360-366.
- Short TH, Rothschild MF, Southwood 01, McLaren DG, De Vries A, Van der Steen H, Eckardt GR, Tuggle CK, Helm J, Vaske DA, Mileham AJ, and Plastow GS. 1997. Effect of the estrogen receptor locus on reproduction and production traits in four commercial pig lines. *J Anim Sci* 75:3138-3142.
- Short TH, Wilson ER, McLaren DG. 1994. Relationships between growth and litter traits in pig dam lines. In: of 5th WCGALP, Guelph, Vol. 17, 413-416.
- Siewerdt F, Cardellino RA. 1996. Genetic parameters of piglet mortality from birth to 21days of age in the Landrace breed. *Revta Soc. Bras. Zootec.* 25, 902-909
- Soller M. 1994. Marker assisted selection – an overview. *Anim. Biotech.* 5, 193-207
- Southwood 01, Van der Steen HAM, Mileham AJ, Plastow GS, Cuthbert-Heavens D. 1995. Evaluation of the oestrogen receptor (ESR) gene in Meishan synthetic pigs. 46th Ann Mtg Eur Assoc Anim Prod;53 (Abstr).
- Southwood OI, Short TH, Plastow GS, Rothschild MF. 1999. A genetic marker for litter size in Landrace based pig lines. In: 50th EAAP, Zürich, August 22-26.
- Steinheuer R., C. Drögemüller, H. Hamann, K.U. Götz and O. Distl 2003. Einfluss von Kandidatengeneffekten auf die Anzahl lebend geborener und aufgezogener Ferkel bei Besamungsebern der Deutschen Landrasse. *Züchtungskunde* 75: 204–213.
- Tess MW, Bennett GL, Dickerson GE. 1983. Simulation of genetic changes in life cycle efficiency of pork production II. Effects of components on efficiency. *J. Anim. Sci.* 56, 354- 368
- Uffo, O. 2003. Aplicación de los marcadores al estudio de la biodiversidad del ganado bovino cubano, Tesis en opción al grado de Doctor en Ciencias

Veterinarias, Centro Nacional de Sanidad Agropecuaria, CENSA, La Habana, Cuba.

- Van der Lende T, Knol EF, Leenhouwers JI. 2001. Prenatal development as a predisposing factor for perinatal losses in pigs. *Reprod. Suppl.* 58, 247-261
- van der Werf, J. 2000. Marker assisted selection. *In: Kinghorn, B., J. van der Werf, and M. Ryan (eds). Animal Breeding. Use of New Technologies.* University of Sydney Press, Sydney, Australia, pp: 120-130.
- Van Rens BTTM, de Groot PN, van der Lende T. 2002. The effect of estrogen receptor genotype on litter size and placental traits at term in F2 crossbred gilts. *Theriogenology* 57, 1635-1649
- Van Rens BTTM, GJ Evans, and T van der Lende, 2003. Components of litter size in gilts with different prolactin receptor genotypes. *Theriogenology* 59: 915–926.
- Vincent AL, Evans G, Short TH, Southwood OI, Plastow GS, Tuggle CK, and Rothschild MF. 1998. The prolactin receptor gene is associated with increased litter size in pigs. *6th WCGALP* 27: 15-18.
- Vincent AL, Wang L, Tuggle CK, Robic A, Rothschild MF. 1997. Prolactin receptor maps to pig chromosome 16. *Mammalian Genome* 8: 793-794
- Visscher, P.M., Haley, C.S., 1998. Strategies for marker-assisted selection in pig breeding programmes. *In: Proceedings 6th World Congress on Genetics Applied to Livestock Pro-* 503–510.
- Vos, P., R. Hogers, M. Bleeker, M. Reijans, T. Van de Lee, M. Hornes, A. Frigters, J. Pot, J. Peleman, M. Kuiper and M. Zabeau. 1995. AFLP: a new technique for DNA fingerprinting. *Nucleic Acid Research.* 23, 4407-4414.
- Warwick, E.J., J. Legates. 1984. *Cría y Mejora del Ganado.* 3ra. Edición. Ed McGraw Hill. México.
- Wilkie, P.J., A.A. Paszek, G.H Flickinzer, G.A. Rohrer, L.J. Alexander, C.W. Beattie, and L.B. Schook. 1996. Scan of 8 porcine chromosomes for growth, carcass, and reproductive traits reveals two likely quantitative trait loci. *Proceedings of the XXVth International Congress on Animal Genetics.* 187.
- Zhang R., Buczko E., Tsai-Moris C.H., Hu Z.Z., Dufau M.L. 1990 Isolation and characterization of two novel rat ovarian lactogen receptor cDNA species. *Biochemistry and Biophysics Research Communications* 168: 415-422.
- Zhang W, Smith C. 1993. The use of marker assisted selection with linkage disequilibrium: the effects of several additional factors. *Theor. Appl. Genet.* 86, 492-496

CAPÍTULO I. ESR GEN POLYMORPHISM AND ASSOCIATION WITH PROLIFICACY TRAITS IN YORKSHIRE, DUROC AND LANDRACE PIGS¹

1.1. ABSTRACT

A total of 191 litter records from 136 sows of three breeds: Yorkshire (Y), Landrace (L) and Duroc (D), were used to calculate genotypic and allelic frequencies for the gene ESR and estimate association with prolificacy traits. The traits in study were total number of born piglets (TNB), number of weaned piglets (NW), litter weight at birth (LWB) and weaning weight of piglets (WW). The polymorphism was identified by means of the PCR-RFLP method. Allelic frequencies between each breed and Hardy-Weinberg equilibrium were tested by chi-square test. The association between ESR genotypes with TNB, NW, LWB and WW was evaluated by a mixed linear model. Allele substitution effects were estimated by substituting for ESR genotype a covariate that included the number of B alleles present. The frequencies of B allele in general, D, L and Y were 0.32, 0.29, 0.09 and 0.46, respectively. The BB genotype was not found in the population under study. The allelic and genotypic frequencies between breeds were different ($P \leq 0.05$). TNB and LWB were better on AB vs. AA ($P > 0.05$). L was showed to be different ($P \leq 0.05$) to Y and D in NW and WW. The replacement of B for A allele at LWB, NW and LWB was 0.29 and 0.12 piglets and 0.25 kg respectively, but not different from zero ($P > 0.05$). Substitution of B for A allele at NW and WW, in Y breed, resulted in an increase of 1.74 piglets and 12.16 kg respectively ($P = 0.07$).

Key Word: polymorphism, estrogen receptor, additive, prolificacy, pig

¹ Artículo en revisión en *Archives of Animal Breeding*

1.2 . ZUSAMMENFASSUNG

Titel der Arbeit: **Polymorphismus des ESR Gen und dessen Zusammenhang mit Fruchtbarkeitsparametern bei Edelschwein, Duroc und Landrasse Schweinen.**

Im Rahmen dieser Studie wurden 191 Würfe von 136 Sauen der Herkünfte Edelschwein (Y), Duroc (D) und Landrasse (L) untersucht. Ziel war es die Genotyp- und Allelfrequenzen des Östrogenrezeptorgens (ESR) zu berechnen und die Beziehung zu ausgewählten Fruchtbarkeitsparametern zu schätzen. Als Fruchtbarkeitsparameter wurden die Anzahl geborener Ferkel (TNB) die Anzahl abgesetzter Ferkel (NW), das Wurfgewicht bei Geburt (LWB), und das Gewicht der Ferkel beim Absetzen (WW) ausgewählt. Der Polymorphismus wurde mittels PCR-RFLP-Methode nachgewiesen. Die Allelfrequenzen zwischen der Herkünften und das Hardy-Weinberg-Gleichgewicht wurden mittels Chi-quadrat test getestet. Die Beziehung zwischen ESR-Genotypen und TNB, NW, LWB und WW wurden mit Hilfe des Mixed-Linear-Models ausgewertet. Substitutionseffekte wurden geschätzt, in dem der ESR Genotyp durch eine Kovariante ersetzt wurde, die alle vorhandenen B-Allele enthielt. Die Frequenz der B Allele allgemein und bei D, L und Y betrug 0,32, 0,29, 0,09 und 0,46. Der BB-Genotyp konnte bei der hier untersuchten Population nicht nachgewiesen werden. Die Allel- und Genotypfrequenzen zwischen der Herkünften waren significant verschieden ($P \leq 0,05$). TNB und LWB waren auf AB besser als auf AA. L unterschied sich signifikant von Y und D in bezug auf NW und WW. Wurden das A-Allel durch das B-Allel ersetzt, so resultierte dies bezüglich LWB, NW und LWB in 0,29 Ferkeln

und 0,12 Ferkeln und 0,25 kg. Dieser Unterschied war jedoch nicht signifikant ($P > 0,05$). Die Substitution des A-Allel durch das B-Allel hinsichtlich NW und WW bei Sauen der Herkunft Y resultierte in einem Anstieg von 1,74 Ferkeln und 12,16 kg ($P = 0,07$).

Schlüsselwörter: Genpolymorphismus, Östrogenrezeptor, Allelsubstitution, Fruchtbarkeit, Sauen

1.3. INTRODUCTION

The economic efficiency of pig production systems is highly influenced by reproductive performance, especially by number of piglets born and weaned per litter (Chen *et al.*, 2000). Other important components of sow productivity are piglets birth weight and weaning weight per litter. The genetic improvement by selection on litter size is rather difficult because a low heritability (10 to 15%, Johnson *et al.*, 1999), be limited to sex and expressed in late stages of development in the animal (Kmiec *et al.*, 2002, Goliasova And Wolf, 2004).

Therefore the identification of candidate genes or genetic markers associated with litter size in populations of pigs, followed by the introduction of marker-assisted selection could potentially have a significant economic impact on pork industry. Estrogen receptor (ESR) gene which is localized on the first swine chromosome has been identified as a major gene associated to litter size in Meishan and Large White breed (Rothschild *et al.*, 1991). In females, it regulates the synthesis of estrogen, which plays an important role in reproductive physiological activity.

It influences the proliferation and differentiation of the vaginal epithelium as well as in the capture of oocyte and the proliferation of uterine endometrium. It also, regulates maternal effect during gestation (Geisert *et al.*, 1990), the growth of the foetus (Hafez, 1996), the average weight of fetuses in the uterus, as well as the weight of litter at birth (Isler *et al.*, 1999). It is observed for B allele a positive additive effect ranging from 0.31 to 0.42 piglets born alive per litter in Large White breed (Short *et al.*, 1997), to 1.15 in first farrowing sow crossing with Meishan (Rothschild *et al.*, 1996).

Isler *et al.* (2002) found a stronger association of BB genotype with prolificacy traits; however, the frequency of BB was low in the population. Moreover, Drogemuller *et al.* (2001) did not find a significant association between the ESR gene genotypes and TNB in Duroc and Landrace breeds. Little attention has had the effect of the ESR gene on piglet birth weight and piglet weaning weight (Isler, *et al.*, 2002).

The aim of this study was to determine the allelic and genotypic frequencies of ESR gene and estimate associations between genotypes of this gene and prolificacy traits in Yorkshire, Duroc and Landrace breed, in Baja California, Mexico.

1.4. MATERIAL AND METHODS

Blood samples and the records of 136 sows (26 of Duroc (D), 40 of Landrace (L) and 70 of Yorkshire (Y) breeds) were analyzed. Animals were located in the Swine Production Unit of the *Instituto de Investigaciones en Ciencias Veterinarias* of the *Universidad Autónoma de Baja California*, located in Mexicali,

Baja California. The sows came from a population of Canadian origin. Mexicali region is located at 32° 40' N latitude, 115° 28' W longitude and altitude of 10 m, in NW of Mexico. Climate is extreme, desert type and the average annual rainfall is less than 80 mm. There are two seasons: summer and winter. During the summer, the average temperature is 42°C, with no rains and relative humidity above 50%. In winter, the average temperature is 14°C, with rainfall during the months of December and January.

A total of 3 ml of blood was collected from each animal in tubes containing a buffer solution of sodium citrate as anticoagulant and used to prepare the package of white blood cells. Whole blood samples were centrifuged at 1000 rpm for 5 min, thereby eliminating the supernatant. NaCl solution at 0.2% was added to the sediment in a volume of 5 to 10 ml. Then, it was mixed and centrifuged to 2000-2500 rpm for 5 minutes. The white cells were recovered as a package and were washed using NaCl at 0.2%, then stored at -20°C (Short *et al.*, 1997). The extraction of DNA was done manually from whole blood using a kit (Ultra Clean™ DNA Blood Spin Kit, MO BIO Laboratories, Inc.).

For the extraction of DNA a volume of 10 µl of a lysis buffer (100 mM Tris-HCl, pH 7.6, EDTA 40 mM, pH 8.0, 0.5% SDS) was added, followed by a volume of 1/200 of proteinase K 20 mg ml⁻¹ and incubated at 37°C from 2 hr to overnight. To obtain a precipitate containing DNA was necessary to do one or two steps extraction of phenol (diluted solution with a buffer TE) and one step extraction with CHCl₃, then it was washed with two volumes of EtOH. DNA was washed with

EtOH 75% and re-suspended in sterile distilled water or TE buffered solution and stored at -20°C.

The genotypes of ESR gene were identified by means of the PCR-RFLP method. The polymerase chain reaction (PCR) was carried out in 0.2 ml tubes utilizing thermocycler iCycler (Bio-Rad). The reaction conditions were indicated by Short *et al.* (1997) with some modifications: 1 x PCR buffer (Toyobo, Japan), 2.5 mM MgCl₂, 0.2 mM dNTP, 20 pmol followed by primer (ESRF: 5'-CCTGTTTTTACAGTGACTTTTACAGAG-3'), 20 pmol of reverse primer (ESRR: CACTTCGAGGGTCAGTCCAATTAG-3'), 2.5 µl Taq DNA polymerase, and 100 ng of genomic DNA. The cycles were: 1 cycle at 94°C during 3 min, 35 cycles (94°C for 30sec, 55°C for 1 min, 72°C for 30 sec), 1 cycle at 72°C for 7 min, stopped to 4°C. After PCR, 5 µl of product was digested by 5 u of restriction enzyme PvuII (Fermentas Inc. USA). The product was resolved in a polyacrylamide gel at 1.2%. The pattern of digestion was captured by Polaroid photograph under ultraviolet light after staining with ethidium bromide. Two patterns (A and B alleles) were identified. The fragment of 120 bp resistant to enzyme PvuII represented the allele A, while the presence of two fractions to 55 bp and 65 bp represented the allele B.

The allelic and genotypic frequencies were calculated using the counting direct method. Standard error of allelic frequencies was calculated as $[p(1-p)/2n]^{1/2}$, where n was the sample size and p was the A allele frequency (Spiess, 1989). The hypothesis of independence of the presence of the A allele between genetic groups and Hardy-Weinberg equilibrium were tested using chi-square test. The weaning in piglets was reached at 21 days of birth.

A total of 191 litter records from 136 sows were included in the analyses. The effect of genotype of the ESR gene on total number of born (TNB), number of weaned piglets (NW), litter weight at birth (LWB) and weaning weight of piglets (WW) was analyzed by least squares. The association between ESR genotypes with TNB, NW, LWB and WW was evaluated using the following mixed linear model:

$$Y_{ijklm} = \mu + G_i + P_j + YS_k + ESR_l + S_{m(i)} + e_{ijklm}$$

where Y_{ijklm} was the phenotypic record of TNB, NW, LWB and WW, μ the general mean, G_i the effect of genetic group of sow ($i = Y, L, D$), P_j the effect of parity number ($j = 1, 2, 3+$), YS_k the effect of the subclass year-season of birth ($k = 1, 2, \dots, 6$), ESR_l the effect of the ESR genotype ($l = AA, AB$), $S_{m(i)}$ the random effect of sow within the genetic group NID ($0, \sigma_{sow}^2$), and e_{ijklm} the random error NID ($0, \sigma_e^2$). Fixed effects considered were genetic group of sow, the subclass year-season of birth, parity number, ESR genotype, and their interaction effects. All non-significant interactions ($P > 0.10$) were not included in the model. The analysis was performed using the MIXED procedure in SAS 9.1.3 (SAS, 2004). Differences of least square means for ESR genotypes were tested by t Bonferroni test (Kuehl, 2001). Allele substitution effects were estimated by substituting for ESR genotype a covariate that included the number of B alleles present and resolved with GLM procedure of SAS.

1.5. RESULTS

The polymorphism for ESR gene after the PCR-RFLP reaction is shown in Figure 1, in which a product of 120 bp that was digested with the PvuII restriction

enzyme corresponded to the AA genotype, while the observed three products of digestion: 120, 65 and 55 bp, corresponded to genotype AB. The BB genotype should show only two products: 65 and 55 bp. In general, AB genotype of ESR gene accounted for 63% of the total number of sows sampled. The BB genotype was not found in this study.

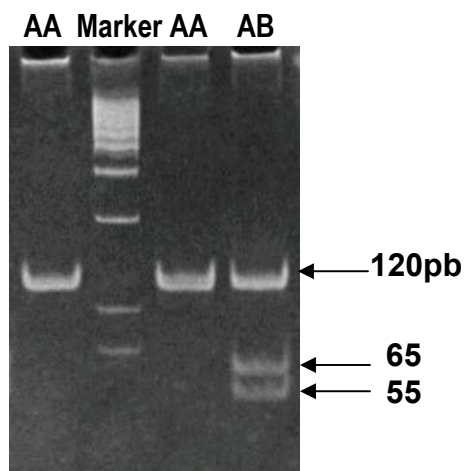


Figure 1.1. Banding patterns of ESR gene.

Allele and genotypic frequencies calculated in general and for each genetic group are presented in Table 1. A allele was more abundant in contrast with B allele (0.68 vs. 0.32), with a standard error of .028. The genotypic and allelic distributions across the three genetic group did differ significantly ($P \leq 0.05$) from that expected according to Hardy-Weinberg rule. AA genotype showed higher frequency in the Landrace group and was less frequent in the Yorkshire group. Moreover, AB genotype was more frequent in Yorkshire with 91%, while in Duroc, the proportion of AA and AB genotypes was similar ($P > 0.05$).

TNB and NW, in general, showed higher values in AB genotype (Table 2) with an increase of 3.4 and 2.3% respect to AA genotype, however they did not differ ($P > 0.05$) between each other. Also, AB vs. AA genotype for LWB showed an increase of 1.9%, while for WW there was a decrease of 1%, with no-significative effect in ESR genotype ($P > 0.05$).

Table 1.1. Genotypic and allelic frequencies of the estrogen receptor gene (ESR) in pigs of Baja California, México.

Genetic group	n	AA	AB	A	B	S.E.
Duroc	26	0.42	0.58	0.71	0.29	0.063
Landrace	40	0.82	0.18	0.91	0.09	0.032
Yorkshire	70	0.09	0.91	0.54	0.46	0.042
Total	136	0.37	0.63	0.68	0.32	0.028

S.E. = standard error for alleles.

Table 1.2. Least square means (mean \pm s.e.) for different genotypes and general of the estrogen receptor gene (ESR) for reproductive traits in sows.

Trait	Genotype ^{a/}		
	AA	AB	General
TNB	9.22 \pm 0.42	9.53 \pm 0.29	9.42 \pm 0.24
NW	8.32 \pm 0.43	8.51 \pm 0.26	8.44 \pm 0.23
LWB	15.17 \pm 0.68	15.45 \pm 0.49	15.35 \pm 0.40
WW	53.82 \pm 2.69	53.31 \pm 1.62	53.50 \pm 1.34

where: n(AA)=72; n(AB)=119; n=191 litters, TNB = Total number of born, NW= number of weaned piglets, LWB = litter weight at birth, WW= weaning weight of piglets

^{a/}Comparing between genotypes was: NS Non-significative ($P > 0.05$).

In the analysis by genetic group for reproductive traits (Table 3), Duroc had the lowest values followed by Yorkshire, with the higher values found in the Landrace group, with not differences ($P>0.05$) between them to TNB and LWB. However, for NW and WW, Landrace showed the best performance and was different ($P\leq 0.05$) compared to the Yorkshire and Duroc groups.

Between the Yorkshire and Duroc groups no differences ($P>0.05$) were found for NW and WW. Looking at the performance of ESR genotypes within the genetic group (Table 3), the lowest value for TNB was for the AA genotype in Duroc, followed by BB genotype with 8.26 and 9.12, respectively. However, although Landrace had the greatest value in AB genotype with 10.43, there were no differences ($P> 0.05$) between them.

No differences were detected ($P> 0.05$) between AA and AB genotypes for the variables studied in Duroc and Landrace either. Differences between AB respect to AA genotype for TNB and NW was about 10%. In Duroc, AB genotype for LWB and WW variables was better 19 and 15% respectively, while for Landrace in this traits between genotypes results were similar. In the Yorkshire group AB genotype was better, 4.4% for TNB and LWB, but no different ($P> 0.05$) between genotypes. Although AB genotype exceeded to AA genotype in 7.8% for NW, no differences were found ($P> 0.05$) between genotypes. In the variable WW, animals of AB genotype showed 30% of increase and were different ($P \leq 0.05$) compared to AA genotype.

Reproductive performances of different parities are shown in Table 4.

Table 1.3. Least square means (mean \pm s.e.) for total number of born (TNB), number of weaned piglets (NW), litter weight at birth (LWB) and weaning weight of piglets (WW) for different genotypes of the estrogen receptor gene (ESR), within genetic group.

genetic group	genotype	n	TNB	NW	LWB	WW
Duroc	AA	15	8.26 \pm 0.80 a	7.48 \pm 0.83 a	13.64 \pm 1.38 a	44.14 \pm 5.32 a
	AB	20	9.12 \pm 0.70 a	8.27 \pm 0.73 a	16.23 \pm 1.21 a	50.88 \pm 4.65 a
Landrace	AA	47	9.55 \pm 0.53 a	8.94 \pm 0.51 a	15.72 \pm 0.86 a	60.11 \pm 2.80 a
	AB	11	10.43 \pm 1.15 a	9.86 \pm 1.11 a	15.61 \pm 1.88 a	58.91 \pm 6.00 a
Yorkshire	AA	10	9.17 \pm 1.18 a	7.83 \pm 1.04 a	14.67 \pm 1.95 a	41.33 \pm 6.44 b
	AB	88	9.58 \pm 0.36 a	8.44 \pm 0.32 a	15.31 \pm 0.59 a	53.49 \pm 1.98 a

Means in a column with different letters are statistically different ($p \leq 0.05$)

Table 1.4. Least square means (mean \pm s.e.) for total number of born (TNB), number of weaned piglets (NW), litter weight at birth (LWB) and weaning weight of piglets (WW) for different genotypes of the estrogen receptor gene (ESR), within parity number (PN).

PN	Genotype	n	TNB	NW	LWB	WW
1	AA	26	8.2 \pm 0.8 a	7.5 \pm 0.9 a	13.4 \pm 1.2 a	49.3 \pm 4.2 a
	AB	40	9.3 \pm 0.5 a	8.1 \pm 0.4 a	14.7 \pm 0.8 a	50.3 \pm 2.4 a
2	AA	23	10.4 \pm 0.6 a	9.4 \pm 0.7 a	18.1 \pm 1.0 a	60.0 \pm 4.2 a
	AB	36	9.2 \pm 0.5 a	8.6 \pm 0.6 a	15.9 \pm 0.9 a	57.5 \pm 2.9 a
3+	AA	23	9.0 \pm 0.8 a	8.3 \pm 0.8 a	14.4 \pm 1.3 a	54.6 \pm 6.7 a
	AB	43	10.3 \pm 0.7 a	9.2 \pm 0.7 a	17.0 \pm 1.2 a	55.2 \pm 4.1 a

Means in a column with different letters are statistically different ($p \leq 0.05$)

It has been observed that mean values of TNB and NW of the second parity and above were higher than the first former parity. AB genotype, in TNB, produced approximately 1 more piglet than AA genotype in parity 1 and 3+, but not in parity 2 where the AA genotype was the most favorable.

The mean value in NW was 0.6 higher in AB genotype for parity 1 y 3+, however in the parity 2, the performance was better for females with AA genotype (9.4 vs. 8.6) with no differences ($P > 0.05$) between genotypes. For LWB and WW variables, no differences were observed ($P > 0.05$) for parity, although the highest values were observed in parity 2. In the present study sows with AB genotype in the ESR gene had more piglets per parity. This tendency was observed especially in parity 1 and 3+ where the sows with AB genotype had higher TNB, NW, LWB and WW (Table 4).

One goal in the practice of animal breeding is the change in the average performance of a group of animals. This is possible if we can change gene frequencies looking for the increase of favorable alleles. Considering that the parents transmit genes and not genotypes to the next generation, it is necessary to know the value associated to the gene instead of that of genotype, i.e. the average effect of a gene, defined as the mean deviation from the population mean of individuals which received one allele from one parent, the allele received from the other parent comes at random from the population (Falconer and Mackay, 2001). When only two alleles at a locus are under consideration, the average effect of the gene-substitution is equal to the difference between the average effects of the two alleles involved in the substitution.

Effects of gene substitution and their standard errors are in Table 5. This study showed that the substitution of B for A allele at ESR locus had a effect on TNB and NW of 0.29 and 0.12 piglets, respectively. Moreover, on LWB was of 0.25 kg, while in WW resulted in a decrease of 0.52 Kg. In the analysis by genetic group, the Landrace group showed the highest value of gene substitution in TNB with 0.71 piglets but not different from zero ($P > 0.05$). For the NW variable, the substitution of B for A allele in the Yorkshire group was of 1.74 piglets ($P = 0.07$). There was no significance ($P > 0.05$) in the substitution of B for A allele in LWB for all the groups included, as well as for WW between the Duroc and Landrace groups. For the Yorkshire group, substitution by B of A allele showed significant effects on WW ($P=0.07$), in the order of 12.16 kg.

Table 1.5. Gene substitution effects and standard errors for total number of born (TNB), number of weaned piglets (NW), litter weight at birth (LWB) and weaning weight of piglets (WW) for the estrogen receptor gene (ESR) by genetic group and in general.

Genetic group	n	TNB	NW	LWB	WW
Duroc	35	0.66 ± 0.97 NS	0.93 ± 0.98 NS	2.21 ± 1.69 NS	7.54 ± 6.13 NS
Landrace	58	0.71 ± 1.22 NS	0.64 ± 1.08 NS	-0.35 ± 2.03 NS	-1.19 ± 6.63 NS
Yorkshire	98	0.52 ± 1.19 NS	1.74 ± 1.01 P=0.07	0.79 ± 1.98 NS	12.16 ± 6.74 P=0.07
General	191	0.29 ± 0.49 NS	0.12 ± 0.44 NS	0.25 ± 0.82 NS	-0.52 ± 2.95 NS

1.6. DISCUSSION

In our study the frequency of ESR-A allele was lower than that reported by Linville *et al.* (2001) in the United States and or Kmiec *et al.* (2002) in the Czech republic, but higher than the results obtained by Short *et al.* (1997) and Isler *et al.* (2002) in the United States. The BB genotype was not found in the population under study. The allelic frequencies observed in the Landrace was similar to those reported by Linville *et al.* (2001) and Kmiec *et al.* (2002).

In addition, the allelic frequencies observed in the Yorkshire group were similar to those reported by Isler *et al.* (1999 and 2002) and with small deviations respect to those found by Short *et al.* (1997) in Large White breed. The most frequent genotype was the heterozygous genotype AB in the ESR gene (Table 1). Similar results were published by Isler *et al.* (2002) who found highest frequency of heterozygous genotypes in Yorkshire pigs, Large White pigs and their crossbred sows.

Statistical evaluation of the data revealed no significant effects of ESR gene on reproductive traits. Isler *et al.* (1999) using Yorkshire pigs, found no differences ($P > 0.05$) between genotypes for number of weaned piglets. Similar results of not statistically significance between genotypes for prolificacy traits were reported by Korwin-Kossakowska *et al.* (1999) using Landrace in Poland.

Isler *et al.* (1999) reported greater weaning weight of piglets in those animals with BB genotype in comparison to those AB and AA genotypes, however not significant difference between genotypes ($P > 0.05$) were observed. In previous studies conducted in the United States, using Large White, genotypes for ESR

gene contributed significantly ($P \leq 0.05$) to variation in litter size (Rothschild *et al.*, 1995; Southwood *et al.*, 1995 ; Short *et al.*, 1997), with values of 0.42 piglets per litter for the B allele in substitution of A allele. Recently, Hernandez *et al.* (2006) reported significant effects ($P \leq 0.05$) among genotypes for number of weaned piglets and weaning weight of piglets favored by the B allele demonstrating that animals with AB genotype had a better reproductive performance compared with homozygous AA.

Other studies have shown B alleles as favorable in litter size (Isler *et al.*, 2002; Korwin-Kossakowska *et al.*, 2003; and Noguera *et al.*, 2003). However, there are other reports in which animals with genotype AA showed better performance in productivity (Van der Lend *et al.*, 2002). In the report of Kmiec *et al.* (2002), the highest values in prolificacy were observed in sows with AA genotype in contrast to AB genotype, with no statistical differences ($P > 0.05$) between genotypes because differences were less than 3%.

Significant results ($P \leq 0.05$) to ESR gene on litter size favored by the A allele were reported by Goliášová and Wolf (2004), with a value of substitution of B for A allele of 0.26. Van Rens and Van der Lender (2002) indicated that ESR alleles might be favorable on litter size, but unfavorable in pre-weaning productivity traits. In addition, the genotype could have effect on individual birth weight (Leeds *et al.*, 2001), but at the weaning phase, the genotypes could not show differences in individual weight. In this study, the best performance for prolificacy was in animals with AB, the results obtained in this study agree with those reported by Goliášová and Wolf (2004), De Vasconcellos (2005), and Hernandez *et al.* (2006).

A higher reproductive efficiency of heterozygous sows was described by Southwood *et al.* (1995) in Meishan sows. Matoušek *et al.* (2003) described dissimilar influence of the ESR gene on litter size in Large White. In their analysis, sows with AA genotype had a higher efficiency in one herd and sows with BB genotype in another herd.

Goliasova and Wolf (2004) found a negative additive effect of the B allele of the ESR gene in a population of Large White sows on litters size traits across parities as well as in the first, second and subsequent parities. First parity sows, with AA genotype increased 0.5 piglets at birth (TNB) compared to BB genotype. In subsequent parities this difference was also significant ($P \leq 0.05$). However Gibson *et al.* (2002) found no significant association with the ESR gene on productivity traits in a population of Large White F2 with Meishan breed.

Isler *et al.* (2002) assessed the relationship between ESR genotype and reproductive traits in Yorkshire and Large White, finding a significant association for LWB. Sows with AA genotype showed ($P = 0.04$) heavier litters at birth (14.44 ± 0.36 kg) than sows with BB genotype (13.43 ± 0.47 kg). Results showed tendencies of the ESR gene but they were not significant ($P > 0.05$) for WW. It was concluded that AA genotype may be associated positively to several reproductive characters.

Rothschild *et al.* (1996) and Short *et al.* (1997) reported additive effects for TNB in a range of 0.3 to 0.6, while Goliasova and Wolf (2004) only of 0.26, which are very similar to the general values in this study and in the Yorkshire and Duroc groups, but not in Landrace, which showed a value of 0.77 piglets.

This study revealed the existence of genetic polymorphism in pigs for the estrogen receptor gene (ESR), with a frequency for A and B alleles of 0.69 and 0.31, respectively. Only AA and AB genotypes were observed for this gene in pigs. The BB genotype was not found in the population under study. There were differences in genotypic frequencies between genetic groups, resulting in non-Hardy-Weinberg equilibrium. The analysis of the effect of ESR gene on prolificacy traits (TNB, NW) and productivity traits (LWB, WW) in sows showed not differences between AB and AA genotypes. Substitution of B for A allele at ESR locus for TNB, NW, LWB, and WW was estimated in 0.29, 0.12, 0.25 and -0.52, respectively, with a strong genetic variation between genetic groups.

1.7 REFERENCES

- Chen, K.F.; Huang, L.S.; Li, N.; Zhang, Q.; Luo, M.; Wu, C.X.: The genetic effect of estrogen receptor (ESR) on litter size traits in pig. Provincial Key Laboratory for Animal Biotechnology, Jiangxi Agricultural. (2000). Abstr.
- Cole, H.H.; Garrett W.N.: Animal Agriculture. The Biology, Husbandry, and Use of Domestic Animals. 2nd. (1980). Ed. W.H. Freeman and Co. San Francisco, CA.
- De Vasconcellos, G.I.A.: Identificao precoce de suinos prolificos por marcadores moleculares. Dissertacao de Mestrado. (2005). Universidade Federal de Santa Maria. Santa Maria, RS, Brasil.
- Drogemuller, C.; Hamann H.; Distl O.: Candidate gene markers for litter size in different German pig lines. J. Anim. Sci. 79 (2001), 2565-2570.
- Falconer, D. S.; Mackay T. F. C.: Introduction to Quantitative Genetics. 4th ed. (1996). Addison Wesley Limited, Edinburg Gate, Harlow Essex, U.K. 325 p.
- Geisert, R.D.; Zavy M.T.; Moffatt R.J.; Blair R.M.; Yellin T.: Embryonic steroids and the establishment of pregnancy. J. of Rep. and Fertility 40(suppl.) (1990), 293-305.

- Gibson, J.P.; Jiang Z. H.; Robinson J.A.; Archibald A.L.; Haley C.S.: No detectable association of the ESR PvuII mutation with sow productivity in a Meishan x Large White F2 population. *Anim Genet.* 33(6) (2002), 448-450.
- Goliasova, E.; Wolf J.: Impact of the ESR gene on litter size and production traits in Czech Large White pigs. *J. Anim. Genet.* 35(4) (2004), 293-297.
- Hafez, E. S. E. *Reproducción e Inseminación Artificial de los Animales Domésticos.* Ed. Mc. Graw-Hill Interamericana (1996). México.
- Hernández L.S.H.; Lemus F. C.; Alonso M. R.; Herrera H. J.G: Efecto de genes candidatos sobre características reproductivas de hembras porcinas. *Rev. Científica, FCV-LUZ/Vol XVI, No. 6* (2006), 648-654.
- Isler, B.J.; Irvin K. M.; Neal S.M.; Moeller S. J.; Davis. M. E.: Examination of the relationship between the estrogen receptor gene and reproductive traits in swine. *J. Anim. Sci.* 80 (2002), 2334-2339.
- Isler, B.J.; Irvin K.M.; Neal S.M.; Moeller S.J.; Davis M.E.; Meeker D.L.: The effect of the estrogen receptor gene on litter traits in swine. *Res. and Rev. Poultry and Swine OARDC special circular 171* (1999), 50-53.
- Johnson, R.K.; Nielsen M.K.; Casey D.S.: Responses in OR, ES, and LT in swine to 14 generations of selection to increase litter size. *J. Anim. Sci.* 77 (1999), 541-557.
- Kmiec, M.; Dvorak J.; Vrtkova I.: Study and relation between estrogen receptor (ESR) gene polymorphism and some pig reproduction performance characters in Polish Landrace breed. *Czech J. Anim. Sci.* 47 (5) (2002), 189-193.
- Korwin-Kossakowska, A.; Kury J.; Pierzchala M.: An analysis of relation between the polymorphism of estrogen receptor gene and some reproduction traits in Zlotnicka spotted X Polish Large White pigs. *Anim. Sci. Pap. Rep.* 17 (1999), 155-161.
- Kuehl, R.O.: *Diseños de Experimentos 2da. Ed.* (2001). Thomson S.A de C.V Mexico, D.F.
- Leeds, T.D.; Irvin K.M.; Moeller S.J.: The association between the estrogen receptor locus and growth, carcass, and developmental traits in pigs. *Res. and Rev.: Swine, OARDC special circular 185* (2001), 87-91.
- Linville, R. C.; Pomp D.; Johnson R. K.; Rothschild M. F.: Candidate gene analysis for loci affecting litter size and ovulation rate in swine. *J Anim Sci* 79 (2001), 60-67.

- Rothschild M.F.; Jacobson C.; Vaske D.; Tuggle C.; Wang L.; *et al.*: The estrogen receptor locus is associated with a major gene influencing litter size in the pig. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 93 (1996), 231-205.
- Rothschild M.F.; Vaske D.A.; Tuggle C.K.: Estrogen receptor is a major gene for litter size in the pig. In *Proc. of the European Ass. of Animal Production. Prague.* (1995), paper G5.2
- Rothschild M.F.; Larson R.G.; Jacobson C.; Pearson P.: PvuII polymorphisms at the porcine estrogen receptor locus (ESR). *Animal Genetics* 22 (1991), 448-448.
- SAS. *SAS/STAT 9.1 User's Guide* (2004), SAS Inst. Inc., Cary, NC. 5136 pp.
- Short, T. H.; Rothschild M. F.; Southwood O. I.; McLaren D. G.; De Vries A.; Van der Steen H.; Eckardt G. R; Tuggle C. K.; Helm J.; Vaske D. A.; Mileham A. J.; Plastow G. S: Effect of the estrogen receptor locus on reproduction and production traits in four commercial pig lines. *J. Anim. Sci.* 75: (1997), 3138-3142.
- Southwood, O. I.; Van der Steen, H.A.M.; Mileham A. J.; Cuthbert-Heavens D.: Evaluation of the oestrogen receptor (ESR) gene in Meishan synthetic and Large White pigs. In *Proc. of 46th Annual Meeting of the Eur. Assoc. Anim. Prod., Prague* (1995), 4-7.
- Spiess, E.B: *Genes in Populations.* (1989), John Wiley & Sons. New York.
- Van der Lende T.; Knol E.F.; Van Rens B.T.T.M.: New developments in genetic selection for litter size and piglet survival. *Thai J. of Vet. Med.* 32 (2002), 33-46.
- Van Rens B.T.T.M.; De Groot P.N.; Van der Lende T.: The effect of estrogen receptor genotype on litter size and placental traits at term in F2 crossbred gilts. *Theriogenology* 57 (2002), 1635-1649.

CAPÍTULO II. PROLACTIN RECEPTOR (PRLR) GEN POLYMORPHISM AND ASSOCIATIONS WITH REPRODUCTIVE TRAITS IN PIGS²

2.1. ABSTRACT

The prolactin receptor (PRLR) gene was investigated as candidate gene for swine reproductive traits. 335 sows of four genetic groups: Yorkshire (Y), Landrace (L) Duroc (D), and YL were included. The traits studied were: total number of born (TNB), number born alive (NBA), number of weaned piglets (NWP), litter weight at birth (LWB), and litter weight at weaning (LWW). The polymorphism was identified by PCR-RFLP. Allelic frequencies between each genetic group and Hardy-Weinberg equilibrium were tested by chi-square test. The association between PRLR genotypes with reproductive traits was evaluated by a linear model. Additive and dominance effects were estimated. The frequency of A allele was in general 0.46, with variation between genetic groups. D had the highest values for TNB. YL showed the best performance for NBA. AA genotype in D showed the best performance for NWP but no differences were found among genotypes L, YL, and L. Differences in first parity were observed between genotypes for TNB, with highest value in BB (10.40 piglets). In general, additive effect per allele A resulted in a negative increase of 2.26 pigs (TNB), and positive of 0.42 kg (LWB) per litter. For TNB and LWB, dominance effect was -2.67 pigs and -0.56 kg, respectively. For LWW, additive in L resulted in -8.37 kg while dominance effect was 8.37 kg.

Key Words: Prolactin receptor Gene, Litter Size, Reproduction, Pigs.

² Artículo aprobado para su publicación en el *Journal of Animal and Veterinary Advances*

2.2. INTRODUCTION

Reproductive performance determines the economic efficiency in pig production systems because of its effects on productivity. Litter size is the most important economically and the most easily measured reproductive trait. Much effort has been made for its improvement (Johnson *et al.*, 1999). However, as the heritability is low (10 to 15%, Johnson *et al.*, 1999), the trait is limited to sex and expressed in late stages of development in the animal (Goliasova and Wolf, 2004), thus traditional genetic improvement for increased litter size has resulted only in slow genetic gain (Rothschild, 1996). The identification of individual genes controlling litter size or genetic markers associated with such trait and its use in direct selection programs could contribute to an increased rate of genetic gain in pig populations.

The candidate gene approach proposed by Rothschild and Soller (1997) is a procedure used to identify genes with significant influence on the expression of a quantitative character for possible use in genetic improvement programs. A gene is selected to be a potential candidate gene because of the physiological role it regulates in a given process or pathway (Korwin-Kossakowska *et al.*, 2003).

Prolactin receptor (PRLR) is the specific receptor for prolactin, which is an anterior pituitary peptide hormone involved in many different endocrine activities and is essential for reproductive success (Vincent *et al.*, 1998). All actions of prolactin are mediated by its receptor (Van Rens *et al.*, 2003). The prolactin receptor, encoded by PRLR gene, is a member of the growth hormone/prolactin receptor gene family containing regions of identical sequences (Kelly *et al.*, 1991).

The prolactin and growth hormone receptors are homologous to receptors for members of the cytokine superfamily (Clevenger *et al.*, 1998). Swine ovaries and endometrium contain PRLRs, which are distributed in a pregnancy-dependent way (Young *et al.*, 1989). Endometrial prolactin receptor numbers increase on day 12 of pregnancy. The increase is stimulated by conceptus estrogen production, which allows for redirection of prostaglandin F_{2α} secretion to support corpus luteum function (Pope, 1994). This implies a potential role of PRLR in preparing and maintaining a proper environment for pregnancy in pigs. Thus, based on the physiological effects, PRLR gene is a strong candidate gene for reproductive traits in pigs.

The PRLR gene was mapped in porcine chromosome 16, with an AluI PCR-RFLP polymorphism identified in porcine 157 bp-long fragment of the gene (Vincent *et al.*, 1997). A positive association was reported between AA genotype and litter size. In first litters, the AA genotype was correlated with higher numbers of piglets born alive (Rothschild *et al.*, 1998; Vincent *et al.*, 1998). Allelic additive effects (a) ranged from zero to 0.59 and 0.71 pigs per litter for total number of piglets born and number born alive, respectively (Vincent *et al.*, 1998). Associations have been reported for Landrace (Vincent *et al.*, 1998) and Duroc (Drogemuller *et al.*, 2001).

The aim of this study was to determine the allelic and genotypic frequency of PRLR gene and to study its associations with reproductive traits in a sample of sows belonging to four different genetic groups. Reproductive traits investigated

were: total number of born, number born alive, number of weaned piglets, litter weight at birth, and litter weight at weaning.

2.3. MATERIALS AND METHODS

Animals. This study included 335 sows (6 of Duroc (D), 14 of Landrace (L), 15 of Yorkshire (Y), and 300 of Yorkshire x Landrace (YL) genetic groups) from NW region of México. A total of 300 sows belong from South of Sonora and 35 from Baja California State. All animals belonged to a population of Canadian origin. The NW region of México is characterized for an extreme climate, desert type, being the average annual rainfall less than 80 mm, with two seasons: summer and winter. During summer, the average temperature is 42°C. In winter, the average temperature is 14°C.

DNA samples. A total of 3 ml of blood was collected from each animal in tubes containing a buffer solution of sodium citrate as anticoagulant and used to prepare the package of white blood cells. Whole blood samples were centrifuged at 1000 rpm for 5 min and the supernatant was eliminated. A volume of 5 to 10 ml. of a solution of NaCl at 0.2% was added to the sediment. Then, It was mixed and centrifuged to 2000-2500 rpm for 5 minutes. White cells were recovered as a package and were washed using NaCl at 0.2%. The package was stored at -20°C. The extraction of DNA was done manually from whole blood using a kit (Ultra Cleanz™ DNA Blood Spin Kit, MO BIO Laboratories, Inc.). For the extraction of DNA a volume of 10 µl of a lysis buffer (100 mM Tris-HCl, pH 7.6, EDTA 40 mM, pH 8.0, 0.5% SDS) was added, followed by a volume of 1/200 of proteinase K 20 mgml⁻¹ being incubated at 37°C from 2 hr to overnight. After 1 or 2 steps extraction

of phenol (diluted solution with a buffer TE) and 1 step extraction CHCl_3 , a volume of 2 of EtOH was added to obtain a precipitate containing DNA, then DNA was washed with EtOH 75% and re-suspended in sterile distilled water or solution TE buffered for storage at -20°C .

Genotyping. The genotypes of PRLR gene were identified by means of the PCR-RFLP method. The polymerase chain reaction (PCR) was carried out in 0.2 ml tubes utilizing thermocycler iCycler (Bio-Rad) with primers whose sequences were proposed by Linville *et al.* (2001). Primers were as follows: the forward primer: 5' CGG CCG CAG AAT CCT GCT GC 3' and the reverse primer: 5' ACC CCA CCT TGT AAC CCA TCA TCC 3'. The PCR amplification (25 μL final volume) was performed using 30 ng of genomic porcine DNA, 10 \times PCR buffer, 2.5 μL each dNTP, 2 μL each primer, and 0.4 μL Taq DNA polymerase (Nova TaqTM DNA).

Conditions were 1 cycle at 94°C for 10 min, 40 cycles (94°C , 30 seg; 60°C , 60 seg; and 72°C , 30 seg), followed by 1 cycle at 72°C for 10 seg, stopped to 4°C . After PCR, 5 μl of product was digested by 0.8 μL of restriction enzyme *Alu* I (Fermentas Inc. USA), and the product was resolved in a agarosa gel at 2%. The AB and BB genotypes were distinguishable by the intensity of the 127-bp band, which was much darker in the AB genotype. A monomorphic band of size 35 bp comigrated with the 35-bp digestion product in the B allele.

Statistical Analysis. Allele frequencies were calculated using the counting direct method consisting in the count of an allele in a genetic group divided by twice the number of observations in that genetic group. Standard error of allelic frequencies was calculated as $[\frac{p(1-p)}{2n}]^{\frac{1}{2}}$, where n is the sample size and p is allele A

frequency (Spiess, 1989). The hypothesis of homogeneity of genotypic frequencies across genetic groups and Hardy-Weinberg equilibrium were tested using chi-square test. A total of 420 litter records from 335 sows were included in the analyses. The effect of genotype of the PRLR gene on total number of born (TNB), number born alive (NBA), number of weaned piglets (NWP), litter weight at birth (LWB), and litter weight at weaning (LWW) was analyzed by least squares. The weaning in piglets was reached at 21 days of birth.

The association between PRLR genotypes with TNB, NBA, NWP, LWB and LWW was evaluated using following linear model:

$$Y_{ijklm} = \mu + G_i + P_j + YS_k + PRLR_l + e_{ijklm}$$

where Y_{ijklm} is the phenotypic record of TNB, NBA, NWP, LWB and LWW, μ is the general mean, G_i is the effect of genetic group of sow ($i = D, L, YL, Y$), P_j is the effect of parity number ($j = 1, \geq 2$), YS_k is the effect of the subclass year-season of birth ($k = 1.2, \dots, 8$), $PRLR_l$ is the effect of the PRLR genotype ($l = AA, AB, BB$), and e_{ijklm} is the random error NID ($0, \sigma_e^2$). Moreover, all interaction effects were included. Those non-significant interactions ($P > 0.10$) were not included in the model. The analysis was performed using the GLM procedure in SAS 9.1.3 (SAS, 2004). Differences of least square means for PRLR genotypes were tested by Bonferroni's t test (Kuehl, 2001). Additive (a) and dominance (d) effects of PRLR genotypes were estimated adding regression coefficients into the linear model. For additive effect a covariate of the number of favorable alleles in the genotype (0, 1, or 2) while for dominance effect a covariate with values 0, 1, and 0 in substitution of

AA, AB, and BB genotypes were included in the model and estimated utilizing GLM procedure of SAS.

2.4 RESULTS AND DISCUSSION

In general, AB genotype of PRLR gene accounted for 54% of the total number of sows sampled. The AA genotype represented only 19% in this study. Allele and genotypic frequencies calculated in general and for each genetic group are presented in Table 1.

Table 2.1. Frequency of the prolactin receptor (PRLR) genotypes and alleles among sows by genetic group at Baja California and Sonora, México.

State	Genetic group	n	AA	AB	BB	A	B	S.E.
BC	Duroc	6	0.14	0.57	0.29	0.42	0.58	0.093
BC	Landrace	14	0.59	0.41	---	0.79	0.21	0.042
BC	Yorkshire	15	0.52	0.48	---	0.76	0.24	0.038
SON	YL ^{a/}	300	0.08	0.56	0.36	0.36	0.64	0.019
	Total	335	0.19	0.54	0.27	0.46	0.54	0.017

S.E. = standard error for alleles.

^{a/}YL= Yorkshire X Landrace

BC=Baja California, SON=Sonora

B allele was more abundant in contrast with A allele (0.54 vs 0.46), with standard error of .017. The genotypic and allelic distributions across the four genetic group did differ significantly ($P < 0.05$) from that expected according to Hardy-Weinberg rule.

AA genotype showed higher frequency in Landrace group and was less frequently in YL group. Moreover, AB genotype frequency was similar ($P > 0.05$) in Duroc and YL. The BB genotype was not found in Landrace and Yorkshire genetic groups. Gene frequencies were found to differ ($P < 0.05$) among breeds for PRLR; frequencies for the A allele were: Landrace = 0.79, Yorkshire = 0.76, YL = 0.36, and Duroc = 0.42.

The number of observed genotypes was not in Hardy-Weinberg equilibrium because the expected and observed genotype frequencies are significantly different. Independently of the genetic group, in our study the frequency of PRLR-A allele was higher than the results reported by Hernandez *et al.* (2006) in México, Kmiec and Terman (2006, 2004) and Korwin-Kossakowska *et al.* (2003) in Poland, but lower than Terman (2005), and similar to Putnová *et al.* (2002) in Large White pigs.

The allelic frequencies observed by genetic group indicate similarity to those reported by Vincent *et al.* (1997) for the Landrace group. However, frequency for the A allele in Duroc was lower than that reported by Vincent *et al.* (1997) with 0.79 in the United States, but higher in Yorkshire (0.76) to (0.37) of Vincent *et al.* (1997). Genotype at the PRLR locus has been shown to explain a significant portion of variation in litter size in Large White, Meishan and Landrace based lines (Vincent *et al.*, 1998). Prolactin affects production of progesterone and relaxin from the corpora lutea (Yangfan *et al.*, 1989).

Table 2 contains least square means and standard errors for TNB, NBA, NWP, LWB, and LWW in sows, by genotype, where BB genotype showed greater

TNB, NBA, and NWP values in comparison to AB and AA genotypes, however no significant differences between genotypes ($P > 0.05$) were observed. Similar results were published by Hernandez *et al.* (2006). In other studies, the PRLR locus was found to be associated with TNB and NBA (Rothschild *et al.*, 1998; Vincent *et al.*, 1998; Van Rens and Van der Lende, 2002).

Table 2.2. Least square means (mean \pm s.e.) for reproductive traits in sows, by genotype and general for the prolactin receptor gene (PRLR).

Trait ^{a/}	Genotype ^{b/}			
	AA	AB	BB	General
n	83	225	112	420
TNB	10.66 \pm 0.32	10.35 \pm 0.25	10.77 \pm 0.34	10.64 \pm 0.12
NBA	9.58 \pm 0.32	9.32 \pm 0.25	9.62 \pm 0.33	10.25 \pm 0.12
NWP	8.08 \pm 0.19	8.18 \pm 0.15	8.29 \pm 0.20	8.54 \pm 0.08
LWB	14.97 \pm 0.41	14.38 \pm 0.32	14.78 \pm 0.43	14.27 \pm 0.16
LWW	52.43 \pm 1.56	52.63 \pm 1.23	52.50 \pm 1.64	56.27 \pm 0.61

^{a/} TNB = total number of born, NBA = number born alive, NWP= number of weaned piglets, LWB = litter weight at birth, LWW= litter weight at weaning.

^{b/} NS ($P > 0.05$).

However when an interaction between genetic group x PRLR genotype was observed (Table 3), the result showed that the difference between AA and BB genotype was important ($P < 0.01$) for the number of weaned piglets, and litter weight at weaning in Duroc, where AA genotype showed better performance. A

similar trend was observed for NBA but with no differences ($P > 0.05$) between homozygote genotypes. For TNB trait, BB genotype showed a better reproductive performance compared to homozygous AA, however not significant differences between genotypes ($P > 0.05$) were observed. Van Rens and van der Lende (2002) working with Large White x Meishan F2 gilts, conducted a study to determine the effects of PRLR polymorphism on reproductive traits.

The polymorphism at PRLR tended to affect litter size with AA gilts having larger litters. This did not agree with the result of Drogemuller *et al.* (2001) where the B allele indicated an additive effect on NBA trait in Duroc. Isler *et al.* (2000) also found the B allele to be favorable. They found that it influences significantly the number of fetuses per uterine horn, average fetal weight and total fetal weight in Yorkshire x Large White crossbred pigs. The BB genotype was not found in Landrace and Yorkshire genetic groups in this study. For LWB trait in YL group, BB genotype showed a better ($P < 0.01$) reproductive performance compared with homozygous AA (15.2 vs 14.5 kg, respectively).

The results of this study agree partially with Vincent *et al.* (1998) whose showed that the A allele was significantly associated with increased litter size measured by TNB and NBA in three of five commercial lines involving Meishan, Large White, Landrace, and Duroc. For TNB and LWB traits, in Landrace group, differences between genotypes were observed ($P < 0.01$), with better performance in AA genotype. Similar results were shown between genotypes for litter size traits as reported by Putnová *et al.* (2002) using Landrace in Czech Republic which affected the first parities and mainly the numbers of weaned piglets.

Table 2.3. Least squares means and standard errors for the interaction genetic group x PRLR genotype on reproductive traits^{a/} in sows.

genetic group	Genotype	n	TNB	NBA	NWP	LWB	LWW
Duroc	AA	2	12.00 ± 1.79a	10.50 ± 1.75a	10.50 ± 1.06a	15.00 ± 1.60a	69.70 ± 8.52a
	AB	8	6.87 ± 0.89b	5.83 ± 1.01b	4.62 ± 0.53c	15.08 ± 0.61ab	33.01 ± 4.26d
	BB	4	12.75 ± 1.27a	9.25 ± 1.23a	7.75 ± 0.75b	15.02 ± 0.73ab	44.32 ± 6.02cd
Landrace	AA	27	11.33 ± 0.48a	9.92 ± 0.47a	8.92 ± 0.29ab	14.50 ± 0.66ab	56.24 ± 2.32abc
	AB	19	10.36 ± 0.58b	10.00 ± 0.56a	9.47 ± 0.34ab	13.75 ± 0.24b	64.61 ± 2.76ab
YL	AA	23	10.69 ± 0.53ab	10.69 ± 0.51a	8.50 ± 0.31ab	14.15 ± 0.30b	59.93 ± 2.51abc
	AB	169	10.42 ± 0.19ab	10.42 ± 0.19a	8.52 ± 0.11ab	15.26 ± 0.57ab	57.11 ± 0.92abc
	BB	108	10.65 ± 0.24ab	10.65 ± 0.23a	8.57 ± 0.14ab	15.20 ± 0.59ab	57.17 ± 1.16abc
Yorkshire	AA	31	11.12 ± 0.45a	9.67 ± 0.44ab	8.38 ± 0.27ab	15.00 ± 1.60ab	69.70 ± 8.52a
	AB	29	11.62 ± 0.47a	9.55 ± 0.46ab	8.86 ± 0.28ab	15.08 ± 0.61ab	33.01 ± 4.26d

Least squares means in a column with different letters are statistically different ($P \leq 0.01$)
^{a/} TNB = total number of born, NBA = number born alive, NWP= number of weaned piglets, LWB = litter weight at birth, LWW= litter weight at weaning.

The magnitude of the effect in Putnová *et al.* (2002) was of two piglets per litter in Landrace. In this study for NWP was 0.40 pigs for AA genotype but not different ($P>0.05$) of BB genotype. Another a study of Van Rens and van der Lende (2001) showed that PRLR gene polymorphism affects age at first estrus, litter size, and average of functional teats in LW x Meishan F2 crossbred gilts. In other study, Van Rens *et al.* (2003) found that PRLR polymorphism affects pig ovaries, uterus and placenta, which might lead to litter size differences. Thus, litter size could be affected independently from age at first estrus in a way that does not exclude the possibility of PRLR gene being the major gene rather than a marker for a closely linked major gene for litter size.

A significant effect of the PRLR genotype on TNB was found for the first parity litter data. Least squares means for PRLR genotype effects in first and latter parities are shown in Table 4. Terman (2005) reported that sows with the AA genotype had the largest litters (TNB, NBA, and NWP), BB the smallest and AB were in between being the differences statistically significant ($P<0.01$) in first parity only. Korwin-Kossakowska *et al.* (2003) found the effect of PRLR genotypes to be significant on NBA for first parities.

Litter sizes of AA sows were significantly lower than that of BB sows. Furthermore, in sows with ≥ 2 parities, the values for the traits TNB, NBA, and NWP were significantly different depending on the genotype at the PRL locus. No significant effects of PRL genotypes on LWW were found in the analysis of the second and later sow parities data. Southwood *et al.* (1995) reported significant

effect of the PRLR genotypes on litter size in Landrace. The gene effect was not significant for first parity sows but became significant for later parity sows.

The practice of genetic improvement has as goal to change the average performance of a group of animals. This is possible if we can change gene frequencies looking for an increase in favorable alleles. Considering that the parents transmit genes and not genotypes to the next generation, is necessary to know the value associated to the gene instead of the genotype, i.e. the average effect of the gene-substitution or additive effect (Falconer *et al.*, 1996). Besides, in populations with the presence of heterozygotes, is important to estimate the interaction value of alleles or dominance effect.

Estimates of the additive and dominance effects of alleles and their standard errors are in Table 5. A negative increase of 2.26 pigs (TNB), and positive of 0.42 kg (LWB) per litter per copy of allele *AluI* A and different from zero ($P < 0.05$) was estimated. In the same variables, the dominance effect of PRLR was -2.67 pigs and -0.56 kg, respectively and different ($P < 0.05$) from zero. In general, the additive and dominance effects of alleles for PRLR gene in NBA, NWP, and LWW resulted not different from zero ($P > 0.05$). In the analysis by genetic group, Landrace, Yorkshire and YL genetic groups showed additive and dominance effects for TNB, NBA, NWP, and LWB values not different from zero ($P > 0.05$). For LWW variable, substitution of A for B allele in Landrace group resulted in -8.37 kg ($P = 0.07$) while the value for heterozygosis was de 8.37 kg ($P = 0.07$).

Table 2.4. Least squares means and standard errors for the prolactin receptor (PRLR) genotype effects on reproductive traits^{a/} of sows by parity number (PN).

PN	Genotype	n	TNB	NBA	NWP	LWB	LWW
1	AA	20	10.25 ± 0.75b	9.52 ± 0.78a	8.40 ± 0.45a	14.85 ± 1.01a	53.77 ± 3.42a
	AB	70	8.85 ± 0.52b	8.38 ± 0.59a	7.75 ± 0.32a	12.80 ± 0.71a	48.08 ± 2.40a
	BB	45	10.40 ± 0.70a	9.70 ± 0.75a	8.00 ± 0.43a	14.23 ± 0.95a	48.04 ± 3.22a
≥2	AA	63	11.07 ± 0.33a	9.62 ± 0.31a	7.95 ± 0.21a	15.16 ± 0.39a	51.84 ± 1.72a
	AB	155	11.23 ± 0.27a	9.74 ± 0.26a	8.32 ± 0.17a	15.20 ± 0.32a	54.32 ± 1.41a
	BB	67	11.05 ± 0.36a	9.58 ± 0.34a	8.40 ± 0.23a	15.18 ± 0.43a	54.65 ± 1.87a

Least squares means in a column with different letters are statistically different ($P \leq 0.05$), by parity number.

^{a/} TNB = total number of born, NBA = number born alive, NWP= number of weaned piglets,

LWB = litter weight at birth, LWW= litter weight at weaning.

Table 2.5. Additive (a) effects of favorable allele and dominance (d) effects estimated for reproductive traits^{a/} of sows by genetic group and in general.

Genetic group	n	TNB	NBA	NWP	LWB	LWW	
Duroc	14	a	-1.18 ± 1.66	-0.09 ± 1.12	0.53 ± 1.15	1.58 ± 2.03	8.15 ± 7.25
		d	-4.66 ± 1.83**	-3.83 ± 0.96**	-4.33 ± 0.83**	-4.27 ± 2.54	-21.46 ± 8.11**
Landrace	46	a	0.97 ± 0.97	-0.07 ± 0.94	-0.55 ± 0.65	0.07 ± 1.10	-8.37 ± 4.51*
		d	-0.97 ± 0.97	0.07 ± 0.94	0.55 ± 0.65	-0.07 ± 1.10	8.37 ± 4.51*
YL	300	a	-0.11 ± 0.22	-0.09 ± 0.22	-0.04 ± 0.11	-0.08 ± 0.29	0.73 ± 1.03
		d	-0.22 ± 0.26	-0.23 ± 0.27	-0.04 ± 0.14	-0.46 ± 0.35	-0.55 ± 1.24
Yorkshire	60	a	-0.49 ± 0.74	0.13 ± 0.68	-0.48 ± 0.56	0.05 ± 0.93	-2.06 ± 4.05
		d	0.49 ± 0.74	-0.13 ± 0.68	0.48 ± 0.56	-0.05 ± 0.93	2.06 ± 4.05
General	420	a	-2.26 ± 0.95**	-0.29 ± 0.18	0.05 ± 0.11	0.42 ± 0.23*	-0.58 ± 0.91
		d	-2.67 ± 0.98**	-0.21 ± 0.24	-0.05 ± 0.15	-0.56 ± 0.31*	0.29 ± 1.24

** P<0.01 * P=0.07

^{a/} TNB = total number of born, NBA = number born alive, NWP= number of weaned piglets, LWB = litter weight at birth, LWW= litter weight at weaning.

There was no significance ($P > 0.05$) in additive and dominance effects for LWW in YL and Yorkshire. Also, for TNB, NBA, NWP, LWB, and LWW traits in Duroc group, the additive effect was not different from zero ($P > 0.05$).

For Duroc genetic group, dominance effects were important ($P < 0.01$) for TNB (-4.66 piglets), NBA (-3.83 piglets), NWP (-4.33 piglets), and LWW (-21.46 kg). Drogemuller *et al.* (2001) reported effects of the A allele ranged from 0.2 piglets per litter difference between homozygotes in Large White to more than one piglet in a Landrace population (Southwood *et al.*, 1999). (Vincent *et al.*, 1998) found inconsistent the mode of additive gene action for allele A on NBA trait with estimates fluctuating from -0.33 to +0.47 piglets per litter.

In this study the range of additive effects for NBA was from -0.07 to -0.29 piglets. Furthermore, for Vincent *et al.* (1998) was not obvious whether PRLR is a major gene for litter size or it is only a linked marker to a gene determining the effect. Thus, the PRLR gene is located to some distance of the unknown quantitative trait locus, associations between the candidate gene and trait may vary between populations, or families. This may be a possible reason for the lack of significant PRLR effects (Drogemuller *et al.*, 2001) or maybe the observed variation among genetic groups could be due only to sampling strategies. One possible reason for the lack of effect in the current study is that different linkage disequilibrium existed in the genetic groups.

2.5 CONCLUSION

Our study revealed the existence of genetic polymorphism in pigs for the prolactin receptor gene (PRLR), with a frequency for A and B alleles of 0.46 and

0.54, respectively. The BB genotype was not found in Landrace and Yorkshire. There were differences in genotypic frequencies between genetic groups, resulting in non-Hardy-Weinberg equilibrium.

Effects of interaction between genetic group x PRLR genotypes were observed. Duroc had the highest values to TNB in homozygosis genotypes followed by Yorkshire and Landrace genetic group with differences between AA vs AB genotypes in Landrace. YL showed the best performance to NBA trait without differences between genotypes. AA genotype in Duroc showed the best performance to NWP but not different of genotypes in L, YL, and L genetic groups. No differences were detected between BB and AB genotypes for LWB in YL followed by Yorkshire and Duroc. Besides, among AA genotypes of Yorkshire and Duroc, not differences for LWW was detected, being similar the performance as AB genotypes in Landrace genetic group. In YL group, no differences were detected between genotypes for LWW variable.

A significant effect of the PRLR genotype on TNB was found for the first parity litter data. In second and later sow parities data, no differences between genotypes was observed for reproductive traits. Independently of genetic group, the additive and dominance effects of alleles for PRLR gene were in TNB and LWB traits, with additive effect in TNB of 2.26 piglets and 0.42 kg for LWB. In the analysis by genetic group, Landrace showed additive effects for LWW values with 8.37 kg. Dominance effects in Duroc for TNB, NBA, NWP, and LWW were estimated in -4.66, -3.83, -4.33, and -21.46, respectively.

The results suggest a major study of the polymorphism in the PRLR gene and its effects on reproductive traits in order to include the gen information in selection programs.

2.6 REFERENCES

- Clevenger CV, DO Freier, and JB Kline. 1998. Prolactin receptor signal transduction in cells of the immune system. *J Endocrinol* 157: 187–97.
- Drogemuller, C., H. Hamann, and O. Distl. 2001. Candidate gene markers for litter size in different German pig lines. *J. Anim. Sci.* 79:2565-2570.
- Falconer, D. S., and T. F. C. Mackay. 1996. *Introduction to Quantitative Genetics*. 4th ed. Addison Wesley Limited, Edinburg Gate, Harlow Essex, U.K. 325 p.
- Goliasova, E.; J. Wolf. 2004. Impact of the ESR gene on litter size and production traits in Czech Large White pigs. *Anim. Gen.* 35: 293-297.
- Hernández López, S.H., C. Lemus Flores, R. Alonso Morales, y J.G. Herrera Haro. 2006. Efecto de genes candidatos sobre características reproductivas de hembras porcinas. *Rev. Científica, FCV-LUZ/Vol XVI, No. 6:648-654.*
- Isler, B. J., K.M. Irwin, M.F. Rothschild, G.J. Evans. 2000. Association between the prolactin receptor gene and reproductive components in swine. In: *Proceedings of the 27th International Conference on Animal Genetics*. Minneapolis, MN, USA, p. 67.
- Johnson, R. K., M. K. Nielsen, and D. S. Casey. 1999. Responses in ovulation rate, embryonal survival, and litter traits in swine to 14 generations of selection to increase litter size. *J. Anim. Sci.* 77:541–557.
- Kelly PA, J Djiane, MC Postel-Vinay, and M Edery. 1991. The prolactin/growth hormone receptor family. *Endocr Rev* 12: 235–251.
- Kmieć, M., A. Terman. 2004. Polymorphism in the PRLR/*A/ul* gene and its effect on litter size in Large White sows. *Animal Science Papers and Reports* vol. 22: 523-527.
- Kmieć, M., and A. Terman. 2006. Associations between the prolactin receptor gene polymorphism and reproductive traits of boars. *J Appl Genet* 47: 139–141.

- Korwin-Kossakowska A., M. Kamyczek, D. Cieslak, M. Pierzchała, and J. Kurył 2003. Candidate gene markers for reproductive traits in polish 990 pig line. *J. Anim. Breed. Genet.* 120: 181–191
- Kuehl, R.O. 2001. *Diseños de Experimentos* 2da. Ed. Thomson S.A de C.V Mexico, D.F.
- Linville, R. C., D. Pomp, R. K. Johnson, M. F. Rothschild, 2001. Candidate gene analysis for loci affecting litter size and ovulation rate in swine. *J Anim Sci* 79: 60–67.
- Pope, W. F. 1994. Embryonic mortality in swine. In: M. T. Zavy and R. D. Geisert (ed.) *Embryonic Mortality in Domestic Species*. CRC Press, Boca Raton, FL.: 53–77.
- Putnová L, A Knoll, J Dvorak, and S Cepica. 2002. A new *Hpa*II PCR-RFLP within the porcine prolactin receptor (PRLR) gene and study of its effect on litter size and number of teats. *J Anim Breed Genet* 119: 57-63.
- Rothschild MF, AL Vincent, CK Tuggle, G Evans, TH Short, OI Southwood, *et al.* 1998. A mutation in the prolactin receptor gene is associated with increased litter size in pigs. *Anim Genet* 29: 60–74.
- Rothschild, M. F. 1996. Genetics and reproduction in the pig. *Anim. Reprod. Sci.* 42:143–151.
- Rothschild, M. F., and M. Soller. 1997. Candidate gene analysis to detect traits of economic importance in domestic livestock. *Probe* 8:13–22.
- SAS. 2004. *SAS/STAT 9.1 User's Guide*. SAS Inst. Inc., Cary, NC. 5136 pp.
- Southwood, O. I., H. A. M. van der Steen, A. J. Mileham, and D. Cuthbert-Heavens. 1995. Evaluation of the oestrogen receptor (ESR) gene in Meishan synthetic and Large White pigs. In *Proc. of 46th Annual Meeting of the Eur. Assoc. Anim. Prod.*, Prague: 4-7.
- Spiess, E.B. 1989. *Genes in Populations*. John Wiley & Sons. New York.
- Terman, A. 2005. Effect of the polymorphism of prolactin receptor (PRLR) and leptin (LEP) genes on litter size in Polish pigs. *J. Anim. Breed. Genet.* 122: 400–404.
- Van Rens B.T.T.M., and T. Van Der Lende. 2002. Litter size and piglet traits of gilts with different prolactin receptor genotypes. *Theriogenology*, 57: 883–893.

- Van Rens BTTM, and T van der Lende, 2002. Litter size and piglet traits of gilts with different prolactin receptor genotypes. *Theriogenology* 15; 57: 883–893.
- Van Rens BTTM, GJ Evans, and T van der Lende, 2003. Components of litter size in gilts with different prolactin receptor genotypes. *Theriogenology* 59: 915–926.
- Van Rens, B., 2001. Physiological aspects of two candidate genes for litter size in pigs. ESR and PRLR. Ph.D. thesis, Department of Animal Science, Animal Breeding and Genetics Group, Wageningen University.
- Vincent AL, L Wang, CK Tuggle, A Robic, and MF Rothschild, 1997. Prolactin receptor maps to pig chromosome 16. *Mamm Genome* 8: 793–794.
- Vincent, A. L., G. Evans, T. H. Short, O. I. Southwood, G. S. Plastow, C. K. Tuggle, and M. F. Rothschild. 1998. The prolactin receptor gene is associated with increased litter size in pigs. In: *Proc. 6th World Cong. Genet. Appl. Livest. Prod.*, Armidale, Australia: 15–18.
- Yangfan, Li, J. R. Molina, J. Klindt, D. J. Bolt, and L. L. Anderson. 1989. Prolactin maintains relaxin and progesterone secretion by aging corpora lutea after hypophysial stalk transection or hypophysectomy in the pig. *Endocrinology* 124:1243–1294.
- Young, K. H., R. R. Kraeling, F. W. Bazer, 1989. Effects of prolactin on conceptus survival and uterine secretory activity in pigs. *J Reprod Fertil*, 86: 713-722.

CAPÍTULO III. POLIMORFISMO DEL GEN RECEPTOR DE ESTRÓGENO (ESR) Y SU ASOCIACIÓN CON PROLIFICIDAD Y PRODUCTIVIDAD DE LA CERDA.

3.1. RESUMEN

El polimorfismo del gen ESR no mostró asociación ($P>0.05$) con prolificidad y productividad en cerdas de distintos grupos genéticos. Se estudiaron 411 hembras en dos localidades: Mexicali, Baja California y Navjoa, Sonora, las cuales fueron genotipificadas con PCR-RFLP. El polimorfismo del gen ESR se asoció con las variables: total nacidos vivos (TNV), tamaño de camada al nacer (TCN) y al destete (TCD), peso de la camada al nacer (PCN) y al destete (PCD). Los grupos genéticos utilizados fueron Yorkshire (Y), Landrace (L), Duroc (D), y cruza YL. La asociación fue evaluada con un modelo lineal mixto. El efecto medio de sustitución alélica del gen fue estimado incluyendo al genotipo como covariable en el modelo. Las frecuencias de B fueron 0.24, 0.18, 0.38, 0.23 y 0.24 para D, L, Y, YL y promedio general respectivamente. No se observaron genotipos BB. Se observó un incremento de 0.29 lechones (TCN), 0.27 kg (PCN) y 0.54 kg (PCD) por copia del alelo B, sin diferencia ($P>0.05$) de cero. Mientras que de 1.91 (TNV) y 1.24 (TCD) lechones y 2.64 kg (PCN), diferentes ($P<0.05$) de cero, por copia del alelo A, en Landrace. Los resultados sugieren que el polimorfismo del gen ESR muestra distintos grados de desequilibrio de ligamiento con genes que regulan tamaño de camada en diferentes poblaciones.

Palabras clave: polimorfismos, gene receptor estrógeno, prolificidad, productividad, cerdos

3.2. ABSTRACT

The polymorphism of the ESR gene showed no association ($P>0.05$) with sow productivity and productivity traits in different genetic groups. 411 sows were included in this study, from two sites: Mexicali, Baja California y Navjoa, Sonora. The polymorphism was identified by PCR-RFLP. The following variables: total number of born (TNB), number born alive (NBA), number of weaned piglets (NWP), litter weight at birth (LWB), and litter weight at weaning (LWW) were investigated in their association with the polymorphism of the ESR gene by a mixed linear model. The genetic groups included were: Yorkshire (Y), Landrace (L) Duroc (D), and YL. Allele substitution effects were estimated by substituting for ESR genotype one covariate that included the number of B alleles present. The frequencies of B alleles were 0.24, 0.18, 0.38, 0.23 y 0.24 for D, L, Y, YL and in general, respectively. The BB genotype was not found in the population under study. The replacement of A for B allele at TNB, LWB and LWW was 0.29 piglets and 0.27 kg, and 0.54 kg respectively, but not different from zero ($P> 0.05$). Furthermore, the replacement of B for A allele at NBA, NWP and LWB was 1.91 and 1.24 piglets, and 2.64 kg, different from zero ($P< 0.05$) in Landrace. The results suggest the ESR gene polymorphism showed different degree of linkage disequilibrium with genes regulating litter size in different populations.

Key Word: gene polymorphism, ESR gene, prolificacy, productivity, pig.

3.3. INTRODUCCIÓN

El número de lechones nacidos vivos y el tamaño de la camada al destete son los componentes de prolificidad de la hembra y los de mayor importancia que definen la eficiencia económica de los sistemas de producción porcina (Chen *et al.*, 2000). El peso de la camada al nacimiento y al destete, definen la productividad de la hembra, las cuales en conjunto con el número de camadas por año son componentes con similar importancia económica (Cole y Garrett, 1980). La mejora genética por selección de tamaño de camada ha tenido poco éxito debido a su bajo índice de herencia (10 al 15%, Johnson *et al.*, 1999), estar limitada al sexo y expresarse en etapas de desarrollo tardías en el animal (Kmiec *et al.*, 2002, Goliasova y Wolf, 2004). Entonces, la identificación de genes individuales con efectos mayores, seguida de un esquema de selección asistida por marcadores podría potencialmente tener un fuerte impacto económico en la industria porcina.

El gen receptor de estrógeno (ESR) ha sido identificado como gen candidato para tamaño de camada en las razas Meishan y Large White (Rothschild *et al.*, 1991, 1996). Este gen regula la síntesis de estrógeno, el cual participa activamente en la fisiología reproductiva de la hembra; influye en la proliferación y diferenciación del epitelio vaginal, captura del ovocito y proliferación del endometrio uterino, con un efecto materno durante la gestación (Geisert *et al.* 1990), crecimiento del feto (Hafez, 1996), peso promedio de los fetos en el útero, así como peso de la camada al nacer (Isler *et al.*, 1999); sus niveles en las hembras incrementan después de 60 días de preñez (Vallet y Christenson, 1996).

Se ha observado un efecto aditivo positivo para el alelo B, oscilando desde 0.31 a 0.42 lechones nacidos vivos por camada en la raza Large White (Short *et al.*, 1997) a 1.15 en animales de primer parto cruzados con Meishan (Rothschild *et al.*, 1996). Isler *et al.* (2002) encontraron una mayor asociación del genotipo BB con prolificidad, sin embargo, la frecuencia del genotipo BB en la población fue baja. Aunque existen muchos estudios que indican al alelo B como favorable para tamaño de camada, existen otros más que indican falta de asociación e incluso en otros, que el alelo favorable es el A (van der Lende *et al.*, 2002). Así por ejemplo, Drogemuller *et al.* (2001) no encontraron una asociación significativa entre genotipos para el gen ESR y tamaño de camada al nacer en las razas Landrace y Duroc, al igual que Gibson *et al.* (2002) estudiando cruces de razas Meishan por Large White.

El objetivo de este estudio fue estimar la asociación entre el polimorfismo del gen receptor de estrógeno (ESR) con caracteres de prolificidad y productividad en hembras de raza Yorkshire, Landrace, cruces YL y Duroc. Las variables estudiadas fueron: tamaño de camada al nacimiento (TCN), total de nacidos vivos (TNV), tamaño de la camada al destete (TCD), peso de la camada al nacimiento (PCN) y al destete (PCD).

3.4. MATERIALES Y MÉTODOS

Se utilizaron muestras de sangre de hembras reproductoras provenientes de dos localidades: 111 procedentes de la unidad de producción del Instituto de Investigaciones en Ciencias Veterinarias de la UABC en Mexicali, Baja California, agrupadas en tres razas porcinas (23 Duroc, 38 Landrace, y 50 Yorkshire), y 300

cruzas Yorkshire x Landrace (YL) pertenecientes a una granja porcina comercial, localizada en Navojoa, Sonora. Para el análisis de asociación se utilizaron 590 registros reproductivos.

La región de estudio se encuentra en el noroeste de México. Mexicali tiene un clima cálido-seco con precipitación anual inferior a 100 mm, definiéndose dos estaciones: verano e invierno. Durante el verano, la temperatura media es de 42°C, nula precipitación y humedad relativa superior al 50%. En invierno, la temperatura media es de 14°C, con precipitación en diciembre y enero. Navojoa presenta un clima semi-húmedo con una temperatura media máxima mensual de 32.7 °C durante el verano y temperatura media mínima mensual de 18.5 °C en el invierno. La época de lluvias se presenta en verano, con precipitación media anual de 389.5 mm (Wikipedia, 2006).

Se extrajo un volumen de 3 ml de sangre de cada animal en tubos con una solución amortiguada de citrato de sodio para prevenir coagulación la cual fue usada para preparar el paquete de glóbulos blancos para su uso en congelación a -30°C. La muestra de sangre total fue centrifugada a 1000 rpm durante 5 min, eliminándose el sobrenadante. Al sedimento se le adicionó un volumen de 5 a 10 ml. de una solución de NaCl al 0.2%. Se mezcló y centrifugó a 2000–2500 rpm durante 5 min. Las células blancas se recuperaron como paquete y se lavaron empleando NaCl al 0.2%. El paquete se almacenó a -20°C (Short *et al.*, 1997).

La extracción del ADN fue realizada manualmente a partir de sangre total empleando un kit (Ultra Clean™ DNA Blood Spin Kit, MO BIO Laboratories, Inc.). Para la extracción del ADN se adicionó un volumen de 10 µl de un amortiguador

de lisis (Tris-HCl 100 mM, pH 7.6, EDTA 40 mM, pH 8.0, SDS 0.5%), seguido de un volumen de 1/200 de proteinasa K 20 mg/ml, e incubación a 37°C desde 2 hrs hasta por toda la noche. Después de 1 ó 2 pasos de extracción de fenol (diluída la solución con un amortiguador TE) y 1 paso de extracción con CHCl₃, se le agregó un volumen de 2 de EtOH para obtener un precipitado conteniendo ADN. El ADN fue lavado con EtOH al 75% y resuspendido en agua destilada estéril o solución de TE amortiguada para su almacenamiento a -20°C.

Los genotipos para el gen ESR fueron determinados por el método PCR-RFLP. La reacción en cadena de la polimerasa (PCR) fue llevada a cabo en tubos de 0.2 ml utilizando el termociclador iCycler (Bio-Rad). Las condiciones de reacción fueron las indicadas por Short *et al.* (1997) con algunas modificaciones: 1 × amortiguador PCR (TOYOBO, Japón), 2.5 mM MgCl₂, 0.2 mM dNTP, 20 pmol seguido del primer (ESRF: 5'-CCTGTTTTTACAGTGACTTTTACAGAG-3'), 20 pmol del primer de reversa (ESRR: 5'-CACTTCGAGGGTCAGTCCAATTAG-3'), 2.5 µl Taq ADN polimerasa, y 100 ng of ADN genómico. Los ciclos fueron: 1 ciclo a 94°C por 3 min, 35 ciclos (94°C por 30 seg, 55°C por 1 min, 72°C por 30seg), 1 ciclo a 72°C por 7 min, deteniéndose a 4°C. Después del PCR, 5 µl del producto fue digerido por 5 u de la enzima de restricción *PvuII* (Fermentas Inc., USA) y el producto se resolvió en un gel de poliacrilamida al 1.2%.

El patrón de digestión fue captado por fotografía Polaroid bajo luz ultravioleta después de teñirlo con bromuro de etidio. Dos patrones (alelos A y B) fueron identificados. El fragmento de 120 bp resistente a la enzima *PvuII* representa al alelo A, mientras que la presencia de dos fracciones a 55 bp y 65 bp

representa al alelo B. Las frecuencias génicas y genotípicas fueron calculadas empleando el método de conteo directo. La estimación del error estándar de las frecuencias alélicas fue calculado como $[\frac{p(1-p)}{2n}]^{1/2}$, donde n es el tamaño de muestra y p es la frecuencia del alelo A (Spiess, 1989).

La hipótesis de independencia de la presencia del alelo A entre grupos genéticos y el equilibrio Hardy-Weinberg fueron probadas usando el estadístico chi-cuadrada. El destete en los animales fue realizado a los 21 días de nacimiento.

El efecto del genotipo del gen ESR en las variables de respuesta: tamaño de camada al nacimiento (TCN), total de nacidos vivos (TNV), tamaño de la camada al destete (TCD), peso de la camada al nacimiento (PCN) y al destete (PCD) fue analizado por mínimos cuadrados. Para el análisis de asociación de las variantes genotípicas con las características TCN, TNV, TCD, PCN y PCD, dentro de cada localidad, se utilizó el siguiente modelo lineal mixto:

$$Y_{ijklm} = \mu + R_i + NP_j + AE_k + ESR_l + (R * ESR)_{il} + H_{m(i)} + \varepsilon_{ijklm}$$

donde Y_{ijklm} es la variable de respuesta, μ la media poblacional, R_i es el efecto fijo del i -ésimo grupo genético de la hembra ($i=Y, L, D, YL$), NP_j es el efecto fijo del j -ésimo número de parto ($j=1, 2, 3, 4+$), AE_k es el efecto fijo de la k -ésima subclase año-estación de parto ($k=1,2,\dots,8$), ESR_l es el efecto fijo del l -ésimo genotipo para el gen ESR ($l=AA, AB$), $(R*ESR)_{il}$ es el efecto de interacción grupo genético por genotipo para el gen ESR, $H_{m(i)}$ es el efecto aleatorio de la m -ésima reproductora dentro del i -ésimo grupo genético NID $(0, \sigma^2_{rep})$, y ε_{ijklm} es el error aleatorio NID $(0,$

σ_e^2). Las interacciones no-significativas ($P > 0.10$) no fueron incluidas en el modelo.

El análisis se realizó empleando el procedimiento MIXED del programa SAS ver 9.1.3 (SAS, 2004). Las diferencias ($P < 0.05$) entre medias de mínimos cuadrados para los genotipos del gen ESR se contrastaron empleando la prueba de t de Bonferroni (Kuehl, 2001).

El efecto medio de sustitución alélica de A por B se estimó adicionando como covariable el número de alelos favorables en el genotipo (0, 1, 2) en sustitución de los genotipos AA, AB, BB para el gen ESR en el modelo lineal. El análisis se realizó empleando el procedimiento GLM del paquete SAS.

3.5. RESULTADOS

En general la frecuencia del genotipo AA fue de 0.498 y para el genotipo AB de 0.502. No se observó el genotipo BB en las reproductoras. Para Mexicali, la frecuencia del genotipo AA fue de 0.432 y de 0.568 para el genotipo AB, mientras que para Navojoa la frecuencia del genotipo AA fue de 0.55 y de 0.45 para el genotipo AB. En cuanto a la frecuencia génica, el alelo A fue el de mayor frecuencia (0.759) en comparación al alelo B, el cual mostró una frecuencia de 0.241.

El error estándar fue de .017. Para Mexicali la frecuencia del alelo A fue de 0.716, mientras que para Navojoa fue de 0.775. Los errores estándar correspondientes fueron de 0.03 y 0.017 respectivamente. Por grupo genético, las frecuencias genotípicas y alélicas se presentan en el Cuadro 1.

Cuadro 3.1. Frecuencia genotípica y alélica para el gen receptor de estrógeno (ESR) en cerdos por grupo genético.

Table3. 1. Frequency of the estrogen receptor (ESR) genotypes and alleles in sows by genetic groups.

Grupo Genético	n	AA	AB	A	B	E.E.
Duroc	23	0.522	0.478	0.761	0.239	0.063
Landrace	38	0.632	0.368	0.816	0.184	0.044
Yorkshire	50	0.240	0.760	0.620	0.380	0.048
Y x L^{a/}	300	0.550	0.450	0.775	0.225	0.017
Total	411	0.518	0.482	0.759	0.241	0.014

n es el número de hembras incluidas

E.E. = error estándar para estimación de frecuencias alélicas

^{a/} Y x L grupo genético Yorkshire x Landrace

Del total de hembras incluidas en el estudio, se presentó una mayor frecuencia de genotipos AB para ESR/*PvuII*, en el grupo Yorkshire, con un valor de 0.76 y menor frecuencia en el mismo grupo para el genotipo AA. Valores de frecuencias entre genotipos AA y AB resultaron muy similares ($P > 0.05$) en los grupos genético Duroc y Yorkshire x Landrace. Las frecuencias genotípicas observadas entre grupos genéticos, así como la distribución del alelo A resultaron diferentes ($P < 0.05$) a los esperados según el Equilibrio Hardy Weinberg.

En general, para la variable tamaño de camada (Cuadro 2), se observaron valores superiores para el genotipo AB en comparación del genotipo AA. El incremento fue de 2.78%, no existiendo diferencias entre ellos ($P > 0.05$). Los valores medios para TNV y TCD fueron muy similares entre genotipos ($P > 0.05$). Para PCN se observó solo un incremento del 1.89 % para el genotipo AB respecto

al genotipo AA, mientras que el incremento de PCD fue del 9.92% sin ser diferentes ($P>0.05$) sus valores medios.

Cuadro 3.2. Medias de mínimos cuadrados (media \pm e.e.) para características reproductivas en hembras porcinas, por genotipo y en general para el gen receptor de estrógeno (ESR).

Table 3.2. Least square means (mean \pm s.e.) for reproductive traits in sows, by genotype and general for the estrogen receptor (ESR) gene.

Característica	Genotipo ^{a/}		
	AA	AB	General
n	287	303	590
TCN	10.45 \pm 0.16	10.74 \pm 0.16	10.60 \pm 0.11
TNV	9.91 \pm 0.15	9.86 \pm 0.15	9.88 \pm 0.11
TCD	8.45 \pm 0.11	8.47 \pm 0.11	8.46 \pm 0.08
PCN	14.31 \pm 0.22	14.58 \pm 0.22	14.45 \pm 0.15
PCD	54.41 \pm 0.88	54.95 \pm 0.81	54.69 \pm 0.59

donde: TCN= Tamaño de camada al nacimiento, TNV= Total nacidos vivos, TCD= Tamaño de camada al destete, PCN= Peso de la camada al nacimiento, PCD= Peso de la camada al destete.

^{a/}Comparación entre genotipos: NS No-significativa ($P>0.05$).

En el análisis del comportamiento de las variables reproductivas (Cuadro 3), se observó que no existieron diferencias en TCN entre grupos genéticos ($P>0.05$). El mejor resultado en TNV se presentó en el grupo Y-L y fue diferente ($P<0.05$) de los otros grupos. El TCD en el grupo Duroc fue de 7.63 similar al valor del grupo Yorkshire y diferente del grupo Y-L. El grupo Yorkshire mostró el mejor comportamiento para la variable PCN seguido de los grupos Landrace y Duroc, similares ($P>0.05$) entre ellos y diferente ($P<0.05$) del grupo Y-L, con diferencias estadísticas ($P<0.05$) entre genotipos solo en el grupo Landrace.

Cuadro 3.3. Medias de mínimos cuadrados y errores estándar para la interacción grupos genéticos x genotipo para el gen ESR para caracteres reproductivos en hembras porcinas.

Table 3.3. Least squares means and standard errors for the interaction genetic group x ESR genotype for reproductive traits in sows.

Grupo genético	Genotipo	n	TCN	TNV	TCD	PCN	PCD
Duroc	AA	29	9.95 ± 0.52 a	8.39 ± 0.48 a	7.39 ± 0.37 b	13.45 ± 0.69 a	44.32 ± 2.67 b
	AB	25	11.31 ± 0.58 a	9.36 ± 0.54 a	7.87 ± 0.39 b	15.48 ± 0.74 a	51.55 ± 2.82 b
Landrace	AA	69	11.08 ± 0.34 a	8.39 ± 0.48 a	9.14 ± 0.23 a	15.98 ± 0.44 a	57.45 ± 1.67 ba
	AB	31	9.68 ± 0.50 a	9.36 ± 0.54 a	7.92 ± 0.35 a	13.40 ± 0.66 b	48.52 ± 2.57 b
Yorkshir^e	AA	24	10.72 ± 0.57 a	9.14 ± 0.53 a	8.05 ± 0.42 a	15.57 ± 0.76 a	47.17 ± 2.95 b
	AB	112	11.09 ± 0.26 a	9.51 ± 0.25 a	8.49 ± 0.19 a	15.27 ± 0.35 a	52.83 ± 1.33 b
Y x L^{a/}	AA	165	10.34 ± 0.22 a	8.97 ± 0.21 a	8.42 ± 0.16 a	13.81 ± 0.29 a	55.99 ± 1.11 a
	AB	135	10.71 ± 0.25 a	9.12 ± 0.23 a	8.70 ± 0.18 a	14.38 ± 0.34 a	58.78 ± 1.25 a

^{a/} Y x L grupo genético Yorkshire x Landrace

TCN= Tamaño de camada al nacimiento, TNV= Total nacidos vivos,

TCD= Tamaño de camada al destete, PCN= Peso de la camada al nacimiento,

PCD= Peso de la camada al destete.

Medias en una hilera con letras diferentes son estadísticamente distintas (p ≤ 0.05)

Se observó un mejor comportamiento de animales puros en PCN y para PCD el genotipo Y-L, mostró la mejor respuesta y similar ($P>0.05$) a la del grupo Landrace, sin diferencias ($P>0.05$) entre genotipos.

El grupo genético Duroc fue en general el que presentó los valores más bajos en las variables de estudio. Al comparar los genotipos ESR por grupo genético (Cuadro 3), el menor valor para TCN lo presentó AB del grupo Landrace, con un TCN de 9.68, y la mejor respuesta la presentó AB del grupo Duroc con 11.31. En general los de genotipo AB presentaron un mayor TCN en comparación con AA, sin diferencia estadística ($P>0.05$) entre ellos. El genotipo AB mostró mejor TNV en comparación con AA pero similares entre ellos ($P>0.05$) dentro de grupo genético. Solo en Landrace se observaron los mejores valores para TCD, PCN y PCD en el genotipo AA en comparación con AB, pero únicamente diferentes ($P<0.05$) entre ellos para PCN. Hembras Landrace de genotipo AA destetaron las mejores camadas seguidas de hembras Y-L sin existir diferencias entre ellas ($P>0.05$). Hembras Duroc mostraron los valores más bajos para TCD, correspondiendo al genotipo AA, sin ser diferente al AB.

Para las variables de productividad, las camadas de mayor peso al nacer se observaron en animales puros Yorkshire y Landrace, sin diferencias entre genotipos AA y AB en Yorkshire, pero con mejor comportamiento en genotipos AA en Landrace. En Y-L, los de genotipo AB mostraron una mejoría en PCN de 4% respecto a los de genotipo AA, sin existir diferencias entre ellos ($P>0.05$). En el grupo Duroc, aunque la mejora porcentual del genotipo AB respecto al AA para las variables PCN y PCD fue del 15 y 16% respectivamente, no existieron diferencias

($P>0.05$). Hembras Y-L alcanzaron los mejores pesos de camada al destete con diferencias entre genotipos de solo un 5%, seguidas por hembras Landrace, en las que de genotipo AA superaron a las AB en 8.93kg, sin diferencias entre ellos ($P>0.05$). Camadas más livianas al destete fueron producidas por hembras de genotipo AA, en Duroc y Yorkshire. Animales de genotipo AB mostraron 12% de superioridad en su comportamiento para PCD en Yorkshire y de 16% en Duroc respecto a los de genotipo AA, sin detectar diferencias entre ellos.

El análisis de las variables de respuesta por número de parto (Cuadro 4) indica, independientemente del genotipo para ESR, un incremento en las variables TCN, TNV y TCD, del primero al cuarto parto. Por genotipos para el gen ESR, se observaron diferencias de alrededor de media unidad en la variable TCN, a favor al genotipo AB vs AA en hembras de primero y tercer parto, no así en las de segundo parto donde el genotipo favorable fue el AA, con la misma magnitud de diferencia respecto a AB. Hembras de cuarto parto mostraron valores similares entre genotipos. Para TNV, se mantiene la diferencia y comportamiento entre animales de segundo y tercer parto, no así para los de primero y cuarto parto, los cuales muestran valores similares entre genotipos.

En cuanto a la variable TCD, solo en animales de tercer parto, las hembras con genotipo AB mostraron una mejoría en su valor medio de alrededor de 0.5 lechones con respecto a las de genotipo AA. Para el primero, segundo y cuarto parto, el comportamiento entre genotipos fue similar. Sin embargo, diferencias estadísticas entre ellos no fueron observados ($P>0.05$).

Cuadro 3.4. Medias de mínimos cuadrados (media±e.e.) por genotipos para el gen ESR para caracteres reproductivos dentro de número de parto (NP) en hembras porcinas.

Table 3.4. Least squares means and standard errors for the estrogen receptor (ESR) genotype effects on reproductive traits^{a/} of sows by parity number (PN).

NP	Genotipo	n	TCN	TNV	TCD	PCN	PCD
1	AA	104	9.95 ± 0.29 a	9.06 ± 0.28 a	8.16 ± 0.21 a	13.79 ± 0.39 a	49.45 ± 1.53 a
	AB	107	10.48 ± 0.29 a	9.14 ± 0.27 a	7.98 ± 0.20 a	13.80 ± 0.38 a	50.32 ± 1.49 a
2	AA	62	10.67 ± 0.36 a	9.60 ± 0.34 a	8.40 ± 0.26 a	15.32 ± 0.48 a	52.77 ± 1.86 a
	AB	61	10.26 ± 0.37 a	9.20 ± 0.34 a	8.39 ± 0.26 a	14.79 ± 0.49 a	54.55 ± 1.89 a
3	AA	43	10.64 ± 0.44 a	9.43 ± 0.41 a	7.91 ± 0.31 a	14.59 ± 0.59 a	48.53 ± 2.22 a
	AB	44	11.12 ± 0.43 a	9.79 ± 0.40 a	8.39 ± 0.30 a	15.23 ± 0.57 a	53.13 ± 2.15 a
4+	AA	78	10.90 ± 0.39 a	9.69 ± 0.36 a	8.37 ± 0.27 a	14.91 ± 0.52 a	53.62 ± 1.95 a
	AB	91	10.86 ± 0.36 a	9.58 ± 0.34 a	8.34 ± 0.25 a	14.81 ± 0.48 a	54.24 ± 1.83 a

Medias en una hilera con letras diferentes son estadísticamente distintas (p ≤ 0.05)

TCN= Tamaño de camada al nacimiento, TNV= Total nacidos vivos,

TCD= Tamaño de camada al destete, PCN= Peso de la camada al nacimiento,

PCD= Peso de la camada al destete.

Para las variables PCN y PCD en su comportamiento por número de parto, no se observaron diferencias ($P>0.05$) entre sus valores medios, aunque se encontraron los mayores valores en hembras de segundo parto.

En la práctica de la mejora animal, una de sus metas es el cambio en las medias de comportamiento de un grupo de animales. Lo anterior es posible si se logra cambiar las frecuencias génicas buscando el incremento de alelos deseables. El efecto promedio de la sustitución del alelo A por B (α) para cada una de las características por grupo genético y en general se muestran en el Cuadro 5. El valor de α indica la tasa de cambio esperada por sustitución alélica del alelo A por B en la población (Falconer y Mackay, 2001).

En general, este estudio mostró que la sustitución del alelo A por el alelo B para el gen ESR provoca un incremento en TCN de 0.29 lechones, así como de 0.27 y 0.54 kg para las variables PCN y PCD, sin embargo, no fueron diferentes de cero ($P>0.05$). En el análisis dentro de grupo genético (Cuadro 5), el sustituir al alelo A por B en Landrace, provocaría una disminución de 1.45, 1.91 y 1.24 lechones en TCN, TNV y TCD respectivamente ($P<0.05$). Los incrementos alcanzados por sustitución del alelo A por B en las variables de prolificidad fue de magnitud 0.40 lechones en los grupos Yorkshire y cruza Y-L. Para Duroc los valores de sustitución de A por B para TCN, TNV y TCD fueron de 1.38, 0.98 y 0.48, respectivamente. En PCN y PCD, la sustitución alélica de A por B repercute significativamente en una tasa de disminución de 2.64 y 9.43 kg respectivamente, en el grupo Landrace, entonces en este grupo los de mejor comportamiento fueron los animales de genotipo AA. No se observaron efectos

significativos de sustitución para PCN en los grupos Yorkshire y Y-L. En Duroc se observó un efecto de sustitución de A por B en PCN y PCD con 2.03 y 7.25 kg, respectivamente pero no diferente de cero ($P>0.05$).

Cuadro 3.5. Efectos medios de sustitución del alelo A por B, junto con su error estándar, para caracteres reproductivos por grupo genético y en general, para el gen ESR.

Table 3.5. Substitution average effects of A for B allele and standard errors for reproductive traits of sows by genetic group and in general, for ESR gene.

Grupo genético	n	TCN	TNV	TCD	PCN	PCD
Duroc	52	1.38 ± 0.87 NS	0.98 ± 0.65 NS	0.48 ± 0.59 NS	2.03 ± 1.11 NS	7.25 ± 4.31 NS
Landrace	100	-1.45 ± 0.71 P<0.05	-1.91 ± 0.67 P<0.01	-1.24 ± 0.59 P<0.05	-2.64 ± 0.98 P<0.01	-9.43 ± 4.07 P<0.05
Yorkshire	136	0.47 ± 0.70 NS	0.46 ± 0.63 NS	0.48 ± 0.58 NS	-0.13 ± 0.93 NS	6.17 ± 3.68 NS
Y x L ^{a/}	300	0.40 ± 0.27 NS	0.39 ± 0.26 NS	0.29 ± 0.13 P<0.05	0.57 ± 0.36 NS	2.94 ± 1.24 P<0.05
General	588	0.29 ± 0.23 NS	-0.05 ± 0.22 NS	0.07 ± 0.16 NS	0.27 ± 0.31 NS	0.54 ± 1.19 NS

^{a/} Y x L grupo genético Yorkshire x Landrace

NS No significativo ($P>0.05$)

TCN= Tamaño de camada al nacimiento, TNV= Total nacidos vivos,

TCD= Tamaño de camada al destete, PCN= Peso de la camada al nacimiento,

PCD= Peso de la camada al destete.

Para hembras Yorkshire la sustitución de A por B en la variable PCD provocó un cambio de 6.17 kg pero no significativo. Los mayores valores de

substitución en este estudio se presentaron en animales de genotipo puro (D,L y Y) respecto a Y-L.

3.6. DISCUSIÓN

Un aspecto importante en este estudio es la ausencia de genotipos BB en los grupos genéticos utilizados. El valor encontrado para el alelo A fue inferior al reporte de Linville *et al.* (2001) en los Estados Unidos y de Kmiec *et al.* (2002) en la república Checa, pero superior a los reportes de Short *et al.* (1997) y de Isler *et al.* (2002) en los Estados Unidos y de DeVasconellos (2005) en Brasil. Las frecuencias alélicas observadas por grupo genético indican similitud a las reportadas por Linville *et al.* (2001) , Kmiec *et al.* (2002), Aparecida *et al.* (2006) y Jianhua *et al.* (2006), para el grupo Landrace. Además, las frecuencias alélicas observadas en el grupo Yorkshire resultaron superiores a las reportadas por Isler *et al.* (1999 y 2002). En general, la frecuencia del alelo B fue inferior a los reportes de Short *et al.* (1997), Isler *et al.* (2002) y de De Vasconcellos (2005), pero superior a los resultados de Omelka *et al.* (2005) en Landrace, en Polonia.

Isler *et al.* (1999) utilizando animales de grupo genético Yorkshire, no encontraron diferencias ($P > 0.05$) entre genotipos para tamaño de camada al destete. Similares resultados de no significancia estadística entre genotipos para caracteres de prolificidad de la hembra son reportados por Korwin-Kossakowska *et al.* (1999) y Kmiec *et al.* (2002), utilizando animales de grupo genético Large White y Landrace, en Polonia, así como por Rohrer *et al.* (1999) empleando animales cruzas Meishan x White y Wilkie *et al.* (1999) con animales Meishan x Yorkshire. Otros autores que señalan la falta de ligamiento entre el gen ESR y

tamaño de camada son Drogemuller *et al.* (2001) y Gibson *et al.* (2002). Isler *et al.* (1999) reportan mayores pesos de la camada al destete en aquellos animales con genotipo BB en comparación a los de genotipo AB y AA, sin encontrar diferencias ($P>0.05$) entre ellos.

En estudios previos realizados en los Estados Unidos, empleando grupos genéticos Large White, genotipos para el gene ESR contribuyeron de manera importante ($P<0.05$) a la variación en tamaño de camada (Rothschild *et al.*, 1995; Southwood *et al.*, 1995; Short *et al.*, 1997), con valores de 0.42 lechones por camada para el alelo B en sustitución del alelo A. Recientemente, Hernández *et al.* (2006) reportaron efectos significativos ($P<0.05$) entre genotipos para TCD y PCD, favorecidos por el alelo B por lo que animales con genotipo AB presentaron mejor desempeño reproductivo en comparación con genotipos AA.

Otros estudios que evidencian al alelo B como favorable sobre tamaño de camada y eficiencia reproductiva son Isler *et al.* (2002), Noguera *et al.* (2003) y Omelka *et al.* (2005). Sin embargo, existen otros más en los cuales animales de genotipo con alelos A muestran mejor comportamiento para características de productividad (Van der Lende *et al.*, 2002; Korwin-Kossakowska *et al.*, 2003; Goliasova y Wolf, 2004). En el reporte de Kmiec *et al.* (2002), los mayores valores de prolificidad se observaron en hembras de genotipo AA en contraste con los registros en hembras de genotipo AB, sin existir significancia ($P>0.05$) entre genotipos ya que sus diferencias fueron inferiores al 3%.

Resultados significativos ($P<0.05$) del gen ESR en el tamaño de camada favorecidos por el alelo A fueron reportados por Goliášová and Wolf, (2004) para

TCN, TNV, TCD y PCD. Van Rens and Van der Lende (2002) reportaron para el gen ESR, que el alelo que favorece tamaño de camada puede ser desfavorable en características de productividad pre-destete. En este estudio, los mejores comportamientos para características de prolificidad correspondieron en general para animales con genotipo AB en contraste con aquellos de genotipo AA, al igual que De Vasconcellos (2005) y Hernández *et al.* (2006), sin observar diferencias ($P>0.05$) entre ellos para TCN, similar a lo reportado por Gibson *et al.* (2002) y de Goliasova y Wolf (2004).

En el análisis por número de parto, Goliasova y Wolf (2004) empleando cerdos Large White checos, encontraron que el gen ESR afectó ($P<0.05$) la prolificidad en el primer parto. Hembras con genotipo AA produjeron 0.5 lechones extras al nacer (TCN) en comparación a hembras de genotipo BB. Para partos posteriores esta diferencia fue de 0.25 lechones ($P<0.05$). En este estudio se observó una tendencia de mejoría en el comportamiento entre partos para hembras portadoras del alelo B, presentando una magnitud de 0.4 para TCN y TNV del primero al tercer parto, no siendo diferentes ($P>0.05$) entre ellos.

Similar resultado presentó Horogh *et al.* (2005) para TNV. Rothschild *et al.* (1996) postularon que el efecto del gen ESR sobre TNV está asociado a la tasa de sobrevivencia embrionaria, debida probablemente al papel del estrógeno en el reconocimiento materno del producto (Spencer y Bazer, 2004), sin embargo no se han reportado diferencias entre concentraciones hormonales, número y peso de embriones, así como entre la tasa de viabilidad embrionaria, entre genotipos AA y AB (van Rens *et al.*, 2000). Además, Linville *et al.* (2001) no encontraron

diferencias en la tasa ovulatoria entre genotipos. Todo lo anterior sugiere que el efecto del gen ESR puede estar asociado al porcentaje de sobrevivencia fetal y/o al éxito en la implantación embrionaria (Damario *et al.*, 2001).

Isler *et al.* (2002) evaluaron la relación entre el genotipo del gen ESR y caracteres reproductivos en Yorkshire y Large White, encontrando asociación significativa para PCN. Hembras con genotipo AA presentaron ($P=0.04$) camadas más pesadas en el nacimiento (14.44 ± 0.36 kg) que las hembras con el genotipo BB (13.43 ± 0.47 kg). Se observaron tendencias del gen ESR pero no significativas ($P>0.05$) para PCD. Se concluyó que el genotipo AA para el gen ESR puede asociarse positivamente a varios caracteres reproductivos. En este estudio, para la variable PCN, animales de genotipo AA presentaron camadas ligeramente más pesadas que los de genotipo AB (15.57 vs 15.27 , respectivamente), sin diferencia entre ellos.

Solo en la raza Landrace hembras de genotipo AA produjeron mayores pesos de camada al nacer y al destete (15.98 y 57.45 kg respectivamente) existiendo diferencias entre ellos solo en la variable PCN, por lo que se pudiera asociar un mejor comportamiento a los animales de genotipo AA con esta característica en el grupo genético Landrace. En los grupos Yorkshire y Duroc aunque hubo una mejoría en el comportamiento de peso de la camada por inclusión del alelo B, no se observó asociación significativa.

Van Rens *et al.* (2002) utilizando animales de cruce Large White x Meishan, no encontraron efecto del genotipo para el gen ESR en los pesos al nacer de los lechones, señalando que fetos de genotipo AA y AB recibieron cantidad similar de

nutrientes durante su gestación al igual que aquellos de genotipo BB. En este estudio no se observaron diferencias en los pesos del lechón al nacer y al destete al igual que lo reportan van Rens *et al.* (2002) y Goliášová y Wolf (2004). Los resultados de este estudio no confirmaron la presencia de desequilibrio de ligamiento entre el polimorfismo del gen ESR y los caracteres reproductivos en hembras porcinas posiblemente debido a una variación entre grupos genéticos.

Por lo que la variación que se produce en el sitio de la enzima *PvuII* es poco probable que sea responsable del incremento en tamaño de camada reportado por asociación del alelo B (Gibson *et al.*, 2002).

Rothschild *et al.* (1996) y Short *et al.* (1997) reportaron efectos de sustitución alélica de A por B para TCN en un rango de 0.3 a 0.6, mientras Goliášová and Wolf, (2004) de 0.26, los cuales son muy similares al valor general encontrado en este estudio y al de los grupos Yorkshire y Y-L, no así para el grupo Landrace y Duroc, los cuales presentaron valores superiores a la unidad, negativo en Landrace y positivo en Duroc. Horogh,*et al.* (2005) reportan un valor de sustitución alélica de 0.49 lechones para TCN en animales de primer parto, mientras que de 0.32 y 0.44 lechones para segundo y tercer parto.

Analizando los resultados de este estudio, se observa en general un diferencial positivo para aquellos genotipos con la presencia del alelo B en las características de prolificidad y productividad, sin embargo para el grupo Landrace los mejores comportamientos correspondieron a aquellos genotipos AA, entonces en esta raza particular el alelo A es el alelo favorable para todas las características evaluadas. Entonces, en la respuesta es importante considerar la

naturaleza genética de cada grupo genético puesto que éste puede estar afectando el control de la expresión del gen, como lo señalan Van Rens *et al.* (2002), Goliášová y Wolf (2004) y Aparecida *et al.* (2006).

3.7. CONCLUSIONES

Se reporta una frecuencia de 0.759 y 0.241 para el alelo A y alelo B, respectivamente para el gen receptor de estrógeno (ESR), en este estudio. Solo se observaron genotipos AA y genotipos AB. El genotipo BB no estuvo presente en hembras. Se observaron diferencias en las frecuencias genotípicas entre grupos genéticos, resultando en no-equilibrio Hardy-Weinberg.

El análisis del efecto del gen ESR sobre TCN, PLN y PLD no mostró diferencias entre genotipos ni grupos genéticos. Diferencias no significativas entre genotipos por grupo genético sobre los caracteres de prolificidad: TNV, TCD y productividad: PCN, PCD fueron observadas. El efecto de sustitución alélica de A por B fue de 0.29 lechones, 0.27 kg, y 0.54 kg para TCN, PCN y PCD respectivamente, no diferentes de cero ($P>0.05$) y con fuerte variación entre grupos genéticos considerados. En el grupo Landrace el alelo A fue el que mostró mejor respuesta en las variable en estudio.

3.8. LITERATURA CITADA

Aparecida SBA, Biase FH, Antunes RC, Borges M, Machaim M, and Goulart LR (2006) Association of the estrogen receptor gene *PvuII* restriction polymorphism with expected progeny differences for reproductive and performance traits in swine herds in Brazil. *Genetics and Molecular Biology* 29: 273-277.

- Chen KF, Huang LS, Li N, Zhang Q, Luo M, Wu CX (2000) The genetic effect of estrogen receptor (ESR) on litter size traits in pig. Provincial Key Laboratory for Animal Biotechnology, Jiangxi Agricultural (Abstr) 27(10):853-7
- Cole HH, and Garrett WN (1980) Animal Agriculture. The Biology, Husbandry, and Use of Domestic Animals. 2nd Ed WH Freeman and Co. San Francisco, CA
- Damario MA, Lesnick TG, Lessey BA, Kowalik A, Mandelin E, Seppala M, and Rosenwaks Z (2001) Endometrial markers of uterine receptivity utilizing the donor oocyte model. Hum Reprod 16:1893-1899
- De Vasconcellos GIA (2005) Identificao precoce de suinos prolificos por marcadores moleculares Dissertacao de Mestrado Universidade Federal de Santa Maria Santa Maria, RS, Brasil
- Drogemuller C, Hamann H, and Distl O (2001) Candidate gene markers for litter size in different German pig lines. J Anim Sci 79:2565-2570
- Falconer DS, and Mackay TFC (1996) Introduction to Quantitative Genetics 4th ed Addison Wesley Limited, Edinburg Gate, Harlow Essex, UK 325 p
- Geisert RD, Zavy MT, Moffatt RJ, Blair RM, and Yellin T (1990) Embryonic steroids and the establishment of pregnancy. J of Rep and Fertility 40(suppl): 293-305
- Gibson JP, Jiang ZH, Robinson JA, Archibald AL, Haley CS (2002) No detectable association of the ESR *PvuII* mutation with sow productivity in a Meishan x Large White F2 population. Anim Genet 33(6):448
- Goliasova E, and Wolf J (2004) Herd specific effects of the *ESR* gene on litter size and production traits in Czech Large White sows. Czech J Anim Sci, 49 (9): 373–382.
- Goliasova E, and Wolf J (2004) Impact of the ESR gene on litter size and production traits in Czech Large White pigs. Anim Genet 35(4):293-297.
- Hafez ESE (1996) Reproducción e Inseminación Artificial de los Animales Domésticos. Ed Mc Graw-Hill Interamericana México 485 p.
- Hernández-López SH, Lemus-Flores C, Alonso-Morales R, y Herrera-Haro JG (2006) Efecto de genes candidatos sobre características reproductivas de hembras porcinas Rev Científica, FCV-LUZ/Vol XVI, No 6:648-654.
- Horogh G, Zsolnai A, Komlósi I, Nyíri A, Anton I, and Fésus L (2005) Oestrogen receptor genotypes and litter size in Hungarian Large White pigs. J Anim Breed Genet 122:56-61.

- Isler BJ, Irvin KM, Neal SM, Moeller SJ, Davis ME (2002) Examination of the relationship between the estrogen receptor gene and reproductive traits in swine. *J Anim Sci* 80:2334-2339.
- Isler BJ, Irvin KM, Neal SM, Moeller SJ, Davis ME, and Meeker DL (1999) The effect of the estrogen receptor gene on litter traits in swine. *Res and Rev Poultry and Swine OARDC special circular* 171 50-53.
- Jianhua LL, Bugao C, Guoqing, and Zhongxiao Z (2006) Study of the association between the estrogen receptor gene and litter size traits in Shanxi White pigs. In *Proc of 8th World Congress on Genetics Applied to Livestock Production*, August 13-18, Belo Horizonte, MG, Brasil.
- Johnson RK, Nielsen MK, and Casey DS (1999) Responses in OR, ES, and LT in swine to 14 generations of selection to increase litter size. *J Anim Sci* 77:541-557.
- Kmiec M, Dvorakand J, Vrtkova I (2002) Study and relation between estrogen receptor (ESR) gene polymorphism and some pig reproduction performance characters in Polish Landrace breed *Czech J Anim Sci* 47 (5):189-193.
- Korwin-Koss a Kowska A, Kury J, Pierzchala M (1999) An analysis of relation between the polymorphism of estrogen receptor gene and some reproduction traits in Zlotmicka spotted X Polish Large White pigs. *Anim Sci Pap Rep* 17:155-161.
- Kuehl RO (2001) *Diseños de Experimentos 2da Ed Thomson S A de C V Mexico*, D F 659 p.
- Leeds TD, Irvin KM, and Moeller SJ (2001) The association between the estrogen receptor locus and growth, carcass, and developmental traits in pigs. *Res and Rev: Swine,OARDC special circular* 185: 87-91
- Linville RC, Pomp D, Johnson RK, Rothschild MF (2001) Candidate gene analysis for loci affecting litter size and ovulation rate in swine. *J Anim Sci* 79: 60–67
- Rohrer GA, Ford JJ, Wise TH, Vallet JL, and Christensen RK (1999) Identification of quantitative trait loci affecting female reproductive traits in a multi-generation Meishan–White composite swine population. *Journal of Animal Science* 77: 1385–1391
- Rothschild MF, Jacobson C, Vaske D, Tuggle C, Wang L, Short T, Eckardt G, Sasaki S, Vincent A, McLaren D, Southwoods O, van der Steen H, Milehamii A, and Plastowii G (1996) The estrogen receptor locus is associated with a major gene influencing litter size in the pig. *Proc Natl Acad Sci USA* 93:231-205

- Rothschild MF, Vaske DA, Tuggle CK (1995) Estrogen receptor is a major gene for litter size in the pig. In Proc of the European Ass of Animal Production Prague.
- Rothschild MF, Larson RG, Jacobson C, and Pearson P (1991) PvuII polymorphisms at the porcine estrogen receptor locus (ESR). *Animal Genetics* 22: 448.
- SAS (2004) *Sas/Stat 9.1 User's Guide* Sas Inst Inc, Cary, NC 5136 Pp.
- Short TH, Rothschild MF, Southwood OI, McLaren DG, De Vries A, Van Der Steen H, Eckardt GR, Tuggle CK, Helm J, Vaske DA, Mileham AJ, and Plastow GS (1997) Effect of the estrogen receptor locus on reproduction and production traits in four commercial pig lines. *J Anim Sci* 75:3138-3142.
- Southwood OI, van der Steen HAM, Mileham AJ, and Cuthbert-Heavens D (1995) Evaluation of the oestrogen receptor (ESR) gene in Meishan synthetic and Large White pigs. *Eur Assoc Anim Prod, Prague, Sept 4-7 (Abstr)*.
- Spencer TE, and Bazer FW (2004) Conceptus signals for establishment and maintenance of pregnancy. *Reprod Biol Endocrinol* 2:49.
- Spiess EB (1989) *Genes in Populations*. John Wiley & Sons New York 340 p.
- Vallet JL, and Christenson RK (1996) The effect of estrone and estradiol treatment on endometrial total protein, uteroferrin and retinol-binding protein secretion during midpregnancy or midpseudopregnancy in swine. *J Anim Sci* 74: 2765-2772.
- Van der Lende T, Knol EF, and van Rens BTTM (2002) New developments in genetic selection for litter size and piglet survival. *Thai J of Vet Med* 32: 33-46.
- Van Rens BTTM, de Groot PN, and van der Lende T (2002) The effect of estrogen receptor genotype on litter size and placental traits at term in F2 crossbred gilts. *Theriogenology* 57:1635-1649.
- Wikipedia, 2006. Mexicali. En [http: en.wikipedia.org/ wiki/ Mexicali](http://en.wikipedia.org/wiki/Mexicali) (Ed.)
- Wilkie PJ, Paszek AA, Beattie CW, Alexander LJ, Wheeler MB, and Shook LB. (1999) A genomic scan of porcine reproductive traits reveals possible quantitative trait loci (QTL) for number of corpora lutea. *Mammalian Genome*, 10: 573–578.

CONCLUSIONES GENERALES

En el presente estudio el efecto de los genotipos de los genes receptor de estrógeno (ESR) y receptor de prolactina (PRLR) fue analizado en su asociación con las características reproductivas: tamaño de camada al nacimiento (TCN), total de nacidos vivos (TNV), tamaño de la camada al destete (TCD), peso de la camada al nacimiento (PCN) y al destete (PCD), derivando las siguientes conclusiones:

Las frecuencias del alelo B para el gen ESR fueron de 0.24, 0.18, 0.38, 0.23 y 0.24 para los grupos genéticos Duroc, Landrace, Yorkshire, cruza YL y en general respectivamente. No se observaron genotipos BB.

para el gen del receptor de prolactina (PRLR), se observó una frecuencia alélica para A y B de 0.46 y 0.54, respectivamente. El genotipo BB no fue encontrado en los grupos Landrace y Yorkshire.

Se observaron diferencias en las frecuencias genotípicas entre grupos genéticos para ambos genes candidatos en estudio (ESR y PRLR), resultando en falta de equilibrio Hardy-Weinberg.

El análisis del efecto del gen ESR sobre TCN, PLN y PLD no mostró diferencias entre genotipos ni grupos genéticos. Además, diferencias no significativas fueron observadas entre genotipos por grupo genético sobre los caracteres de prolificidad: TNV, TCD y productividad: PCN, PCD.

Para el gen PRLR, el grupo Duroc presentó los más altos valores en total de nacidos vivos. YL mostró el mejor rendimiento para total de nacidos vivos sin diferencias entre genotipos. Los animales de genotipo AA en Duroc mostraron el mejor desempeño para tamaño de camada al destete, pero sin diferencias entre

genotipos en los grupos genéticos Landrace, cruzas YL, y Yorkshire. Además, no se detectaron diferencias entre AB y BB para los genotipos en peso de la camada al nacimiento en cruzas YL seguida de Duroc. Además, entre los genotipos AA vs AB en Landrace y grupo Yorkshire no se detectaron diferencias para peso de la camada al destete. En cruzas YL no se detectaron diferencias entre genotipos para peso de la camada al destete.

El efecto de sustitución alélica de A por B en el gen ESR fue de 0.29 lechones, 0.27 kg, y 0.54 kg para TCN, PCN y PCD respectivamente, no diferentes de cero ($P>0.05$) y con fuerte variación entre grupos genéticos considerados. En el grupo Landrace el alelo A fue el que mostró mejor respuesta en las variables en estudio.

En general para el gen PRLR, efectos aditivos para el alelo A resultó en un incremento negativo de 2.26 lechones en tamaño de camada al nacimiento, y positivo de 0.42 kg en peso de la camada al nacer por camada. Para total de nacidos vivos, y peso de la camada al nacer, efectos de dominancia fueron negativos de 2.67 lechones y de 0.56 kg, respectivamente. Para peso de la camada al destete, efectos aditivos en Landrace resultaron en -8.37 kg mientras que efectos de dominancia en 8.37 kg.

Los resultados tanto para el polimorfismo del gen ESR como para el gen PRLR, mostraron distintos grados de desequilibrio de ligamiento con genes que regulan tamaño de camada en diferentes poblaciones.