

TẦN SỐ KIỂU GEN VÀ TẦN SỐ ALEN GEN ESTROGEN RECEPTOR (ESR), PROLACTIN RECEPTOR (PRLR) Ở HAI QUẦN THỂ LỢN LANDRACE VÀ YORKSHIRE TẠI CÔNG TY GIỐNG LỢN HẠT NHÂN DABACO

Nguyễn Chí Thành^{1*}, Trần Xuân Mạnh², Nguyễn Văn Hùng²,
Luu Thị Trang², Phan Xuân Hảo¹, Vũ Đình Tôn¹

¹Khoa Chăn nuôi, Học viện Nông nghiệp Việt Nam

²Công ty TNHH lợn giống hạt nhân DABACO

*Tác giả liên hệ: ncthanh@vnua.edu.vn

Ngày nhận bài: 02.05.2019

Ngày chấp nhận đăng: 30.09.2019

TÓM TẮT

Kích thước ổ đẻ là một tính trạng kinh tế quan trọng, nhưng có hệ số di truyền thấp (khoảng 0,1), mặt khác tính trạng này chỉ biểu hiện ở con cái khi con vật đã trưởng thành, vì vậy chọn lọc dựa vào kiểu hình sẽ kém hiệu quả. Các nghiên cứu trước đây đã chỉ ra một số gen được coi là gen chính kiểm soát tính trạng kích thước ổ đẻ ở lợn, hai trong các gen đó là Estrogen receptor (ESR) và Prolactin receptor (PRLR). Ở gen ESR với 2 alen A và B, các công bố cho thấy vai trò tích cực của alen B; mặt khác ở gen PRLR với 2 alen A và B, các công bố cho thấy vai trò tích cực của alen A. Việt Nam đã nhập các giống lợn Landrace và Yorkshire từ nước ngoài. Nghiên cứu này tìm ra cấu trúc di truyền gen ESR và PRLR trong 2 quần thể lợn Landrace và Yorkshire nuôi tại Công ty Giống lợn hạt nhân DABACO. Từ đó làm cơ sở đánh giá mối liên hệ của gen ESR và PRLR tới năng suất sinh sản của hai giống lợn này. Kết quả nghiên cứu cho thấy cả 3 kiểu gen AA, AB và BB của 2 gen ESR và PRLR đều xuất hiện trong 2 quần thể lợn. Tuy nhiên đối với gen ESR, tỷ lệ của alen B trong quần thể Landrace (0,184) khá thấp còn ở quần thể Yorkshire (0,655) cao. Đặc biệt tỷ lệ thể đồng hợp BB chỉ là 0,041 ở Landrace, trong khi ở Yorkshire là 0,413. Đối với gen PRLR thì cả tần số gen và tần số kiểu gen khá cân bằng giữa 2 alen A và B trên cả 2 giống. Tần số gen của alen A ở Landrace là 0,483; ở Yorkshire là 0,516 và tần số gen của alen B ở Landrace là 0,517; ở Yorkshire là 0,484.

Từ khóa: Gen estrogen receptor, gen prolactin receptor, Landrace, Yorkshire.

Genetic Structures of Estrogen Receptor (ESR) and Prolactin Receptor (PRLR) Genes in Landrace and Yorkshire Populations at DABACO Nucleus Pig Breeding Company

ABSTRACT

Litter size of pigs is an important economic trait, but its heritability is relatively low, at approximately 0.1. In addition, litter size trait can only be measured on female pigs at mature age. Therefore, genetic improvement by phenotypic selection is less effective, and at slow rate. In previous literature, it is found that ESR and PRLR genes are two QTLs with large effects on litter size in pigs. Of the two alleles A and B at ESR locus, allele B shows a positive effect on the litter size trait, while of the two alleles A and B at PRLR locus, allele A is beneficial to the trait. Landrace and Yorkshire, which are imported, are two major breeds in Vietnam. The current study aimed to evaluate genetic structures of ESR and PRLR genes in two pig populations of Landrace and Yorkshire reared at the DABACO nucleus breeding company, and thus examine the effects of ESR and PRLR genes on reproduction traits of the two pig populations. It was found that all three genotypes, AA, AB and BB at ESR and PRLR loci, were present in both the populations of Landrace and Yorkshire pigs. At ESR locus, allele frequency of B in the Landrace population (0.184) was lower than in the Yorkshire population (0.413). The frequency of homozygous genotype BB was 0.041 for the Landrace population and 0.655 for the Yorkshire population. At PRLR locus, allele frequencies of A and B were quite similar for the two populations. Allele frequency of A was 0.483 for Landrace and 0.516 for Yorkshire. Allele frequency of B was 0.517 for Landrace and 0.484 for Yorkshire.

Keywords: Estrogen receptor gene, prolactin receptor gene, Landrace, Yorkshire.

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Số con đẻ ra/ổ (TNB) và số con còn sống/ổ (NBA) là những chỉ tiêu kinh tế quan trọng trong chăn nuôi lợn nái, và là tính trạng mà người chăn nuôi muốn cải thiện. Tuy nhiên hệ số di truyền của tính trạng này thường rất thấp, xung quanh giá trị 0,1 (Heley & cs. 1988). Mặt khác tính trạng này lại chỉ biểu hiện ở gia súc cái và chỉ có thể xác định khi con vật đã trưởng thành. Ngày nay, sự phát triển của di truyền phân tử có thể chỉ ra những gen trực tiếp kiểm soát số con đẻ ra/ổ (Short & cs., 1997a) cho biết alen B của gen ESR có tác dụng tốt tới số con đẻ ra và số con đẻ ra còn sống.

Một trong những thảo luận về vai trò xác định chỉ tiêu số con đẻ ra/ổ ở lợn là gen estrogen receptor (ESR), đa hình tại vị trí (T1665G) của gen ESR trên nhiễm sắc thể số 1 có 2 alen (A và B) (Rothschild & cs., 1991; Renato & cs., 2018). Một số nghiên cứu đã được công bố cho thấy các alen này có mối liên hệ với số lượng lợn con sinh ra và số lượng lợn con sinh ra còn sống (Rothschild & cs., 1991; 1994; Kmiéc, 2002; Hunyadi-Bagi, 2016) và gen estrogen receptor đã được gợi ý như là một gen chính có ảnh hưởng tới một số chỉ tiêu sinh sản và dùng để chọn lọc.

Bên cạnh vai trò của ESR (Estrogen), các thảo luận của Vincent & cs. (1998) cũng chỉ ra vai trò của gen prolactin receptor (PRLR) đối với một số chỉ tiêu năng suất sinh sản như số con đẻ ra, số con đẻ ra còn sống. Gen prolactin receptor định khu trên nhiễm sắc thể số 16. Các nghiên cứu cho thấy đa hình (G1789A) có 2 alen (A và B) (Drogemuller & cs., 2001) và alen A có ảnh hưởng tích cực đến năng suất sinh sản ở lợn như Birgitte (2002) cho biết trên con lai giữa Large White × Meishan kiểu gen AA có tác động tích cực tới chỉ tiêu tổng số con sinh ra, số con sinh ra còn sống. Terman (2005) nghiên cứu trên con lai Polish Large White x Landrace cho biết kiểu gen AA có tác động tích cực đến các chỉ tiêu số con sinh ra ở lứa 1. Artur & cs. (2013) cho biết alen A có ảnh hưởng tích cực tới năng suất sinh sản đối với các chỉ tiêu số con đẻ ra và số con đẻ ra còn sống ở giống lợn Polish Large White.

Trong những năm qua, Việt Nam vẫn thường nhập các giống lợn từ nước ngoài, tuy nhiên năng suất sinh sản của lợn ngoại nuôi tại Việt Nam còn thấp. Các nghiên cứu về gen, đặc biệt các nghiên cứu về 2 gen ESR và PRLR còn ít và rời rạc như: Lê Thị Thúy & cs. (2002), Hau (2008). Việc nghiên cứu tần số kiểu gen và tần số alen gen ESR và PRLR trong quần thể lợn Landrace và Yorkshire nuôi ở Việt Nam là cần thiết, từ đó giúp đánh giá mối liên hệ với năng suất sinh sản của các giống lợn này, làm cơ sở cho các nghiên cứu chọn lọc cải tiến năng suất sinh sản trên đàn lợn.

2. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP

2.1. Vật liệu nghiên cứu

Mẫu tai của các cá thể ở hai quần thể lợn nái Landrace (n = 147) và Yorkshire (n = 293) được thu thập từ trại lợn thuộc công ty TNHH Lợn giống hạt nhân DABACO để xác định kiểu gen của gen ESR và PRLR. Các mẫu tai được lấy từ các cá thể lợn nái không có quan hệ huyết thống thân thuộc với nhau, được bảo quản ở -20°C và giữ ở phòng thí nghiệm để tiến hành tách chiết ADN tổng số.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

Tách chiết DNA tổng số: Các mẫu mô tai được tách chiết bằng Kit G-spin total của Intron. Nồng độ và độ tinh sạch của ADN tổng số được kiểm tra trên gel agarose 1% và đo OD_{A260/A280}.

Nhân đoạn gen ESR 120bp tại vị trí T1665G: Sử dụng cặp mồi F-5'CCT GTT TTT ACA GTG ACT TTT ACA GAG-3'; R-5'CAC TTC GAG GGT CAG TCC AAT TAG -3' (Short & cs., 1997). Phản ứng PCR thực hiện trên máy MC nexus SX1 của eppendorf. Một phản ứng PCR 20 µL bao gồm: 2 µL 10x I-Taq PCR buffer, 1mM cho mỗi loại môi, 2 µL mỗi dNTP 2,5 mM, 0,3 µL i-Taq Taq ADN polymerase và 100 ng ADN tổng số. Chu kỳ nhân PCR đoạn gen ESR được thực hiện như sau: biến tính ở 94°C trong 2 phút, 35 chu kỳ với 94°C trong 20 giây, 60°C trong 10 giây, 72°C trong 20 giây, 1 chu kỳ cuối 72°C trong 5 phút rồi giữ ở 4°C.

Xác định đa hình đoạn gen ESR tại vị trí đột biến T1665G: Sản phẩm PCR được cắt bằng enzyme giới hạn *PvuII* (NEB, Anh) 45 phút ở 37°C, phản ứng cắt 25 μ L bao gồm 2,5 μ L Cutsmart buffer, 5 UI enzyme, 10 μ L sản phẩm PCR, nước deion. Sản phẩm cắt được điện di trên gel agarose 3%, hiệu điện thế 110 V trong 50 phút. Ứng với alen A sản phẩm cắt có 1 loại kích thước duy nhất là 120 bp (đoạn gen không bị cắt bởi enzyme *PvuII*) còn alen B sẽ bị enzyme cắt thành 2 đoạn có kích thước là 55 bp và 65 bp.

Nhân đoạn gen 163 bp PRLR tính từ đầu 3' trình tự cDNA gen PRLR của lợn (Mã số trên ngân hàng gen là. U96306): Sử dụng cặp mỗi đặc hiệu là F-5'- CGT GGC TCC GTT TGA AGA ACC-3'; R-5'CTG AAA GGA GTG CAT AAA GCC3' (Drogemuller & cs., 2001). Thể tích phản ứng PCR là 20 μ L bao gồm: 2 μ L 10x I-Taq PCR buffer, 1 mM cho mỗi loại mỗi, 2 μ L mỗi dNTP 2,5 mM, 0,3 μ L i-Taq Taq ADN polymerase và 100ng ADN tổng số. Phản ứng PCR được thực hiện trên máy MC nexus SX1 của eppendorf, biến tính 94°C trong 1 phút, thực hiện 35 chu kỳ 94°C trong 30 giây, 57°C trong 1 phút, 72°C trong 30 giây, 1 chu kỳ 72°C trong 3 phút rồi giữ ở 4°C.

Xác định đa hình đoạn gen PRLR: Sản phẩm PCR được cắt bằng enzyme giới hạn *AluI* (NEB, Anh) 60 phút ở 37°C phản ứng cắt 25 μ L

bao gồm 2,5 μ L Cutsmart buffer, 10 UI enzyme, 10 μ L sản phẩm PCR, nước deion. Sản phẩm cắt được điện di trên gel agarose 3%, hiệu điện thế 100 V trong 45 phút, ứng với alen A cho 3 đoạn có kích thước là 85 bp; 59 bp và 19 bp, với alen B có 2 loại kích thước là 104 bp và 59 bp.

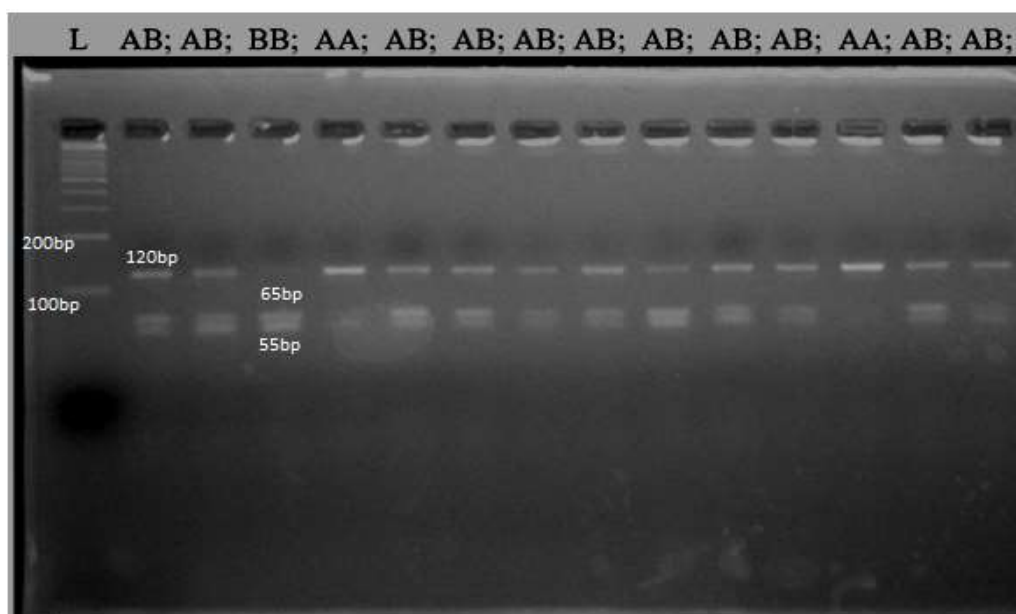
2.3. Phân tích số liệu

Sau khi xác định kiểu gen của các cá thể lợn Landrace và Yorkshire, tần số xuất hiện kiểu gen ESR và PRLR của mỗi giống được phân tích sự cân bằng quần thể theo định luật Hardy - Weinberg, bằng phương pháp kiểm định Chi-Square (χ^2) với phần mềm SAS 9.1.

3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

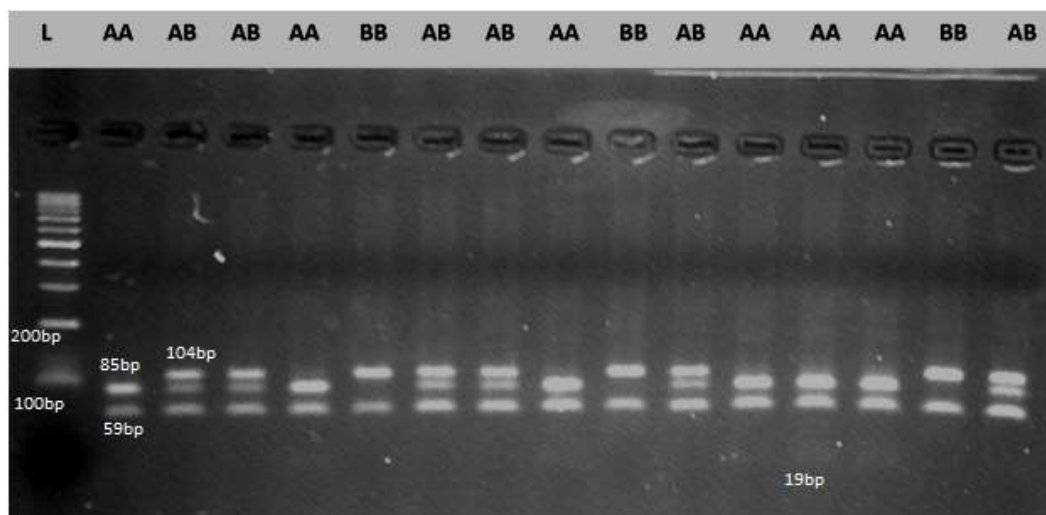
3.1. Kết quả PCR xác định đa hình điểm cắt kiểu gen ESR và PRLR ở hai giống lợn

Kết quả nhân gen (PCR) xác định kiểu gen ESR của hai giống lợn đều đạt 100% dung lượng mẫu, với gen PRLR ở giống lợn Landrace chỉ đạt 287 cá thể. Kết quả cắt bằng enzyme giới hạn *PvuII* trên gen ESR cho kết quả với alen A không bị cắt nên sản phẩm PCR giữ nguyên kích thước là 120 pb, với alen B bị cắt bởi enzym *PvuII* nên sản phẩm PCR bị đứt làm 2 đoạn với kích thước 65 pb và 55 pb (Hình 1).



Hình 1. Kết quả cắt sản phẩm PCR bằng *PvuII* xác định kiểu gen ESR

Tần số kiểu gen và tần số alen gen Estrogen receptor (ESR), Prolactin receptor (PRLR) ở hai quần thể lợn Landrace và Yorkshire tại Công ty Giống lợn hạt nhân DABACO



Hình 2. Kết quả cắt sản phẩm PCR bằng enzyme *AluI* xác định kiểu gen PRLR

Kết quả cắt sản phẩm PCR gen PRLR bằng enzyme giới hạn *AluI* trên gen PRLR cho kết quả ứng với alen A cho 3 đoạn có kích thước là 85 bp, 59bp và 19 bp, với alen B có 2 loại kích thước là 104 bp và 59 bp (Hình 2).

3.2. Tần số kiểu gen và tần số alen gen ESR ở hai giống lợn

Kết quả nghiên cứu tần số kiểu gen và tần số alen của hai quần thể lợn Landrace và Yorkshire (Bảng 1) cho thấy có sự khác biệt ở 2 quần thể lợn này. Ở lợn Landrace, tần số alen A chiếm ưu thế (0,816) trong khi đó tần số alen B thấp hơn nhiều (0,184) đặc biệt kiểu gen đồng hợp BB chỉ xuất hiện với tần số 0,041.

Ở quần thể lợn Yorkshire lại khác so với quần thể Landrace, tần số gen của alen B lại chiếm ưu thế (0,655), tần số gen của alen A là 0,345. Tương tự thì tần số kiểu gen đồng hợp BB là 0,413, tần số kiểu gen AA chiếm tỷ lệ thấp là 0,102 so với các công bố của các tác giả trước đây như Short & cs. (1997b) cho biết ở 4 dòng lợn thương mại của PIC USA tần số alen B (0,46-0,57), Hunyadi-Bagi & cs. (2016) cho biết tần số gen ESR ở lợn Hungarian Large White là 0,62 đối với alen A và 0,38 đối với alen B, ở lợn Duroc, tần số alen A là 1,0, lợn Piétrain là 0,9 alen A và 0,1 alen Kmiéc & cs. (2002) cho biết trên đàn lợn Landrace của Ba Lan cũng không tìm thấy thể đồng hợp BB. Lemus & cs. (2009) cho biết tần số alen B ở lợn Yorkshire là 0,38, ở

lợn Pelón là 0,26, lợn Cuino là 0,16 và không có kiểu gen đồng hợp BB ở giống lợn Pelón và Cuino. Balatsky & cs. (2012) cho biết tần số alen B ở lợn Large White 0,26-0,66; ở lợn Meishan 0,4; ở Piétrain 0,17. Lê Thị Thúy & cs. (2002) cho biết tần số alen B của Móng Cái là 96,15; Lang Hồng 92,5; Landrace 14,58. Nguyễn Văn Hậu (2008) cho biết tần số alen B của gen ESR ở lợn Móng Cái là 0,88; lợn Bản là 0,61.

Kiểm định Chi-Square (χ^2) cho tần số kiểu gen của 2 quần thể này so với định luật Hardy-Weinberg với các giá trị $P > 0,05$ cho thấy cả 2 quần thể này đều tuân thủ định luật. Điều này giúp khẳng định 2 quần thể lợn Landrace và Yorkshire chưa chịu tác động của chọn lọc trên locus của gen ESR. Với tần số xuất hiện như trong kết quả này thì mở ra khả năng cải thiện năng suất nhờ chọn lọc gen ESR, đặc biệt là với giống Landrace. Short & cs. (1997b) cho biết tổng số con sinh ra và tổng số con sinh ra còn sống ở lứa 1 của 3 kiểu gen AA (10,14; 9,41), AB (10,59; 9,87) và kiểu gen BB (10,97; 10,22) sai khác có ý nghĩa thống kê. Kiểu gen BB có thành tích tốt nhất. Các lứa sau thì có sự sai khác thống kê giữa kiểu gen AB và kiểu gen BB so với kiểu gen AA.

3.3. Tần số kiểu gen và tần số alen gen PRLR ở hai giống lợn

Kết quả nghiên cứu tần số gen và tần số alen PRLR của hai quần thể lợn Landrace và

Yorkshire (Bảng 2) cho thấy có sự tương đồng ở 2 quần thể lợn này. Ở lợn Landrace thì tần số alen A là 0,483 và tần số alen B là 0,517, ở giống Yorkshire thì tần số alen A là 0,516 và alen B là 0,484. Theo các công bố như của Birgitte & Tettevan (2001) cho biết kiểu gen AA và AB có ảnh hưởng tốt đến tổng số con sinh ra và tổng số con sinh ra còn sống, Terman (2005) cho biết ở con lai Large White × Landrace có tần số alen A là 0,62 và alen B là 0,38. Terman & cs. (2017) cho biết ở lứa 1 của dòng lợn 990 có sự khác biệt về chỉ tiêu tổng số con sinh ra và tổng số con sinh ra còn sống ở 2 kiểu gen AA và BB. Agata & cs. (2010) cho biết tần số alen A ở lợn Polish Large White là 0,4553, Polish Landrace là 0,4897 và tần số

alen B ở lợn Polish Large White là 0,5448, Polish Landrace 0,5103. Mazurowski & cs. (2013) cho biết alen A có ảnh hưởng tích cực tới năng suất sinh sản đối với các chỉ tiêu số con đẻ ra và số con đẻ ra còn sống. Mencik Sven & cs. (2015) nghiên cứu trên lợn nái Croatia cho biết tần số alen A là 0,2772. Hunyadi-Bagi & cs. (2016) nghiên cứu trên lợn Hunggari cho biết tần số alen A của Large White (0,63), Duroc (0,17), Piétrain (0,59). Hau (2008) cho biết tần số alen A của gen PRLR ở lợn Móng Cái là 0,44 và ở lợn Bản là 0,46. Trong kết quả nghiên cứu này thì tần số gen của 2 alen ở trạng thái cân bằng và nó mở ra triển vọng thay đổi tần số gen ở 2 giống lợn Landrace và Yorkshire thông qua chọn lọc chỉ thị phân tử.

Bảng 1. Tần số kiểu gen và tần số alen gen ESR của quần thể lợn Landrace và Yorkshire

Giống	Kiểu gen/ Alen	n	Tần số quan sát	Tần số lý thuyết	Cân bằng định luật H-W	
					χ^2	P value*
Landrace (n = 147)	AA	99	0,673	0,666	0,328	0,833
	AB	42	0,286	0,300		
	BB	6	0,041	0,034		
	A		0,816			
	B		0,184			
Yorkshire (n = 293)	AA	30	0,102	0,119	1,551	0,461
	AB	142	0,485	0,452		
	BB	121	0,413	0,429		
	A		0,345			
	B		0,655			

Bảng 2. Tần số kiểu gen và tần số alen gen PRLR của quần thể lợn Landrace và Yorkshire

Giống	Kiểu gen/ Alen	n	Tần số quan sát	Tần số lý thuyết	Cân bằng định luật H-W	
					χ^2	P value*
Landrace (n = 147)	AA	28	0,190	0,233	4,320	0,117
	AB	86	0,585	0,500		
	BB	33	0,225	0,267		
	A		0,483			
	B		0,517			
Yorkshire (n = 287)	AA	70	0,244	0,265	2,232	0,330
	AB	156	0,544	0,500		
	BB	61	0,212	0,235		
	A		0,516			
	B		0,484			

Tần số kiểu gen và tần số alen gen Estrogen receptor (ESR), Prolactin receptor (PRLR) ở hai quần thể lợn Landrace và Yorkshire tại Công ty Giống lợn hạt nhân DABACO

Kiểm định Chi-Square (χ^2) cho tần số kiểu gen PRLR của 2 quần thể này so với định luật Hardy-Weinberg với các giá trị $P > 0,05$ cho thấy cả 2 quần thể này đều tuân thủ định luật. Điều này giúp khẳng định 2 quần thể lợn Landrace và Yorkshire chưa chịu tác động của chọn lọc trên locus của gen PRLR.

4. KẾT LUẬN

Tần số kiểu gen ESR ở quần thể lợn Landrace đối với alen B là thấp (0,184), đặc biệt kiểu gen đồng hợp BB chỉ có 0,041, ở quần thể lợn Yorkshire thì tần số gen của 2 alen có cân bằng hơn và tần số kiểu gen đồng hợp AA là 0,102.

Tần số kiểu gen PRLR khá cân bằng ở cả 2 quần thể lợn Landrace và Yorkshire, tuy nhiên tần số kiểu gen AA lại có tỷ lệ thấp (0,190 ở lợn Landrace và 0,244 ở lợn Yorkshire).

Tần số kiểu gen của cả 2 quần thể lợn này đều ở trạng thái cân bằng định luật Hardy - Weinberg cho cả 2 locus ESR và PRLR.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Balatsky V.N, Saenko A.M. & Grishina L.P. (2012) Polymorphism of the estrogen receptor 1 locus in populations of pigs of different genotypes and its association with reproductive traits of large white sows. *Cytology and Genetics*. 46(4): 233-237.
- Birgitte T.T.M van Rens & Tettevan der Lende (2001) Litter size and piglet traits of gilts with different prolactin receptor genotypes. *Theriogenology*. 57: 883-893.
- Drogemuller C., Hamann H. & Distl O. (2001) Candidate gene markers for litter size in different German pig lines. *Journal of Animal Science*. 79: 2565-2570.
- Hau N.V. (2008). On farm performance of Vietnamese pig breeds and its relation to candidate genes. PhD Thesis, Institute of Animal Production in the Tropics and Subtropics, University of Hohenheim, Stuttgart, Germany. Cuvillier Verlag, Göttingen, Germany.
- Heley et C.S., Avalos E. & Smith C. (1988). Selection for litter size in the Pig. *Animal Breeding Abstracts*. 56: 317-332.
- Hunyadi-Bagi Ágnes, Balogh P., Nagy K., Kusza S. (2016) Association and polymorphism study of seven candidate genes with reproductive traits in three pig breeds in Hungary. *Acta Biochim*
- Pol. 63(2): 359-64. doi: 10.18388/abp.2015_1188. Epub 2016 Apr 26.
- Kmiéc M., Dvorak J. & Vrtková I. (2002) Study on a 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.
- Lemus-Flores C., Mejia-Martinez K., Rodriguez-Carpena J.G., Barreras-Serrano A., Herrera-Haro J.G. & Alonso-Morales R. (2009). Genetic Diversity and Variation of ESR, RBP4 and FUT1 Genes in Mexican Creole and Yorkshire Pig Populations. *Journal of Biological Sciences*. 9(8): 878-883.
- Mazuroski Artur, Milczewska Agata, Mroczkowski Sławomir (2013). Influence of the prolactin gene polymorphism on selected reproduction traits in sows of Polish Large white breed. *Journal of Central European Agriculture*. 14(2):1-10.
- Mencik Sven, Vukovic Vlado, Modric Mario, Špehar Marija, Ostovic Mario, Susic Velimir, Štokovic Igor, Šamdzija Marko, Ekert Kabalin Anamaria. (2015). PRLR-AluI gene polymorphism and litter size traits in highly prolific line of topigs 20 sows. *Acta Veterinaria-Beograd*. 65(4): 463-476.
- Renato S.A. Vega, Ronne Matthews C. Castillo, Nyka Noelle B. Barrientos, Mariedel M. Llanes-Autriz, Byung-Wook Cho, Celia B. de la Viña & Neilyn O. Villa (2018). Leptin (T3469C) and Estrogen Receptor (T1665G) Gene Polymorphisms and Their Associations to Backfat Thickness and Reproductive Traits of Large White Pigs (*Sus scrofa* L.). *Philippine Journal of Science*. 147(2): 293-300.
- Rothschild M.F., Larson R.G., Jacobson C. & Pearson P. (1991). Pvu II polymorphisms at the porcine oestrogen receptor locus (ESR). *animal genetics*. 22: 448.
- Rothschild M.F., Jacobson C., Vaske D.A., Tuggle C.K., Short T.H., Sasaki S., Eckardt G.R. & McLaren D.G. (1994). A major gene for litter size in pigs. *Proc. 5th World Congr. Genet. Appl. Livest. Prod.* 21: 225 - 228.
- Short T.H., Eckardt G.R., Sasaki S., Rose M., Vincent A., McLaren D.G., Mileham A. & Plastow G.S. (1995). Marker assisted selection for litter size in pigs. *J. Anim. Sci.* 73 (Suppl. 1): 109 (Abstr.).
- Short T.H., Southwood O.I., McLaren D.G., DeVries A., Van der Steen H., Evans G.J., Mileham A.J. & Plastow G. S.. (1997a). Evidence of a new genetic marker for litter size in pigs. *J. Anim. Sci.* 75 (Suppl. 1): 29 (Abstr.).
- Short T.H., Rothschild Max F., Southwood O.I, McLaren D.G, Vries A. de, H. van der Steen, Eckardt G.R., Christopher K. Tuggle, Helm J., Vaske D.A.,

- Mileham A.J. & Plastow G.S. (1997b) Effect of the Estrogen Receptor Locus on Reproduction and Production Traits in Four Commercial Pig Lines1. *J. Animal Sci.* 75: 3138-3142
- Terman A, Polasik D., Korpál A., Wozniak . K., Prüffer K., Žák G. & Lamber B.D. (2017) Association between prolactin receptor (PRLR) gene polymorphism and reproduction performance traits of Polish swine. *Can. J. Anim. Sci.* 97: 169-171.
- Terman A. (2005). Effect of the polymorphism of prolactin receptor (PRLR) and leptin (LEP) genes on litter size in Polish pigs. *Journal of Animal Breeding and Genetics.* pp. 400-404
- Thúy Lê Thị, Phạm Doãn Lân, Nguyễn Văn Hậu, Trần Thu Thủy, Lưu Quang Minh, Nguyễn Đăng Vang. (2002). Nghiên cứu áp dụng kỹ thuật di truyền phân tử để xác định gen liên quan đến tính trạng sinh sản của lợn nuôi tại Việt Nam. *Tạp chí Chăn nuôi.* 50(8): 7-9.
- Vincent A.L., Tuggle C.K., Rothschild Max F., Evans G., Short T. H., Southwood O.I. & Plastow G.S. (1998). Prolactin receptor gene is associated with increased litter size in pigs. *Swine Research Report.* 11: 8-15.
- Ziółkowska Agata, Bogdzínska Maria, Biegiewski Jan (2010). Polymorphism of prolactin receptor gene (PRLR) in the Polish Landrace and Polish Large white swine population and reproductive traits. *Journal of Central European Agriculture.* 11(4): 443-448.