

MAREK KMIĘĆ, ANDRZEJ DYBUS and ARKADIUSZ TERMAN

Prolactin receptor gene polymorphism and its association with litter size in Polish Landrace

Summary

Prolactin receptor gene (*PRLR*), which is localized on chromosome 16 in pigs, is a candidate gene marker for reproductive traits. The experiment was aimed to detect the DNA mutations in that gene and to find probable relations between the genotype and some reproductive traits in Polish Landrace pigs. 207 sows and 8 boars from pedigree herd were studied. The polymorphism in *PRLR* gene locus was detected using PCR-RFLP method, with specific primers and restriction enzyme *AhaI*. Two different alleles were identified: *PRLR*^A, *PRLR*^B. The frequency of *PRLR*^A was estimated at 0.44 and *PRLR*^B – 0.56. In the studied population of pigs frequencies of genotypes AA, AB and BB were 0.247, 0.386 and 0.367, respectively. The relations between *PRLR* genotype and teats number on the left and right body side, total number of teats, number of piglets in the first litter and the age at the first parity were analyzed. All data were transformed from the discrete scale into the quantitative one. The analysis showed the significant dependencies ($P \leq 0.01$) between the number of piglets in the first litter and the genotype of prolactin receptor. Significantly greater number of piglets characterized the sows carrying AA genotype.

Key Words: *Sus scrofa*, pigs, Polish Landrace, prolactin receptor gene, *PRLR*, litter size

Zusammenfassung

Titel der Arbeit: Zusammenhänge zwischen Polymorphismen im Prolaktinrezeptorgen und der Wurfgrösse bei Schweinen der Polnischen Landrasse

Das Prolaktinrezeptorgen (*PRLR*) wurde auf Chromosom 16 beim Schwein als Kandidatengen für Reproduktionsmerkmale lokalisiert. Das Ziel der Untersuchungen war der Nachweis von Zusammenhängen zwischen einzelnen Varianten *PRLR* und untersuchten Reproduktionsmerkmalen bei Schweinen. Die Untersuchungen wurden in einer Zuchtherde der Polnischen Landrasse durchgeführt, die aus 207 Sauen und 8 Ebern bestand. Mittels PCR-RFLP wurde die Mutationsfrequenz im Prolaktinrezeptor bei Verwendung des Restriktionsenzym *AhaI* bestimmt. Identifiziert wurden zwei Allele *PRLR*^A und *PRLR*^B. *PRLR*^A trat mit der Frequenz 0,440 auf, *PRLR*^B mit 0,560. In der Schweinepopulation kamen die Genotypen AA, AB und BB mit der Frequenz entsprechend 0,247, 0,386 und 0,367 vor. Analysiert wurde die Abhängigkeit zwischen dem Genotyp *PRLR* und der Anzahl der links und rechts gelegenen Zitzen, der Gesamtzahl der Zitzen, der Anzahl der geborenen Ferkel im 1. Wurf und dem Wurfalter. Die Ausgangsdaten der diskreten Verteilung wurden aus der diskreten Skala in die qualitative transformiert. Die durchgeführte Analyse zeigte die relevanten Abhängigkeiten zwischen der Anzahl der geborenen Ferkel im 1. Wurf und den *PRLR* Genotypen. Die höhere Zahl an Ferkel stammte von Sauen mit dem Genotyp AA.

Schlüsselwörter: *Sus scrofa*, Polnische Landrasse, Prolaktinrezeptorgen (*PRLR*), Wurfgrösse

Introduction

The reproduction, particularly in the species having large litters, plays an important role in the successful production of farm animals. The cost of one piglet rearing decreases according to the increasing number of piglets in one litter.

The genes encoding hormone proteins influence the metabolism and, in the result, the productivity of animals, so they can be very useful in performance traits improvement.

The gene of prolactin receptor (*PRLR*), which is mapped to chromosome 16 in pigs (VINCENT et al., 1997), is such a candidate gene for reproductive traits in six PIC lines (Large White, Landrace, Duroc, Landrace x Pietrain and Large White x Chinese Meishan). The *PRLR* gene evidently affected the number of piglets born alive. In the first litters, its effect was estimated at 0,25 piglet per litter (ROTHSCHILD et al., 1998). However, there is still insufficient information about phenotypic effects of *PRLR* gene in many lines and races of pigs.

The presented study was aimed to estimate the frequency of *PRLR* gene mutation and to find possible relations between *PRLR* genotype and reproductive traits in the herd of Polish Landrace sows.

Material and methods

The experiment covered 207 sows and 8 boars – reproducers came from pedigree herd of Polish Landrace breed in one farm in Western Pomerania. The studied sows were bred from 40 boars, which were not related to each other.

The genotype of prolactin receptor was established using PCR – RFLP method. 457 base pair long fragment of *PRLR* DNA was amplified with primers of sequences proposed by VINCENT et al., 1997: forward 5' – CCC AAA ACA GCA GGA GGA CG –3' and the reverse 5' – GGC AAG TGG TTG AAA ATG GA – 3'. The PCR reactions were carried out in Perkin Elmer thermocycler in a volume of 25 µl containing 100 ng of template DNA, 15 pmol of each primer, each dNTP at 100 µM, 1,5 mM MgCl₂, 10 mM Tris-HCl (pH 8,3), 50 mM KCl, and 0,6 units Taq DNA polymerase (MBI Fermentas). Cycling conditions were 94°C / 5 min followed by 35 cycles of 40 s at 94°C, 40 s at 60°C, 40 s at 72°C and final 5 min at 72°C.

PCR product was then digested with 6 units of restriction enzyme *AhaI* (MBI Fermentas), 3 hours at 37°C. The restriction fragments were separated in 5% agarose gel electrophoresis (PRONA) and stained with ethidium bromide. The results were visualized in UV rays.

Performance traits data were collected from farm documentation and they contained the teats number on the left and right body side, total teats number, piglets number in the first litter (boar and sow piglets) and sow age at the first farrowing. The mean age of first farrowing, in studied sows, was 359 days. The number of teats and piglets was transformed from the discrete scale into quantitative one, according to SNELL procedure (1964), then those data were corrected for the year of birth, using correction factors (ŻUK, 1989), before the analysis was done. The relations between *PRLR* genotype and studied reproductive traits were analyzed with one-way analysis of variance and the significance of differences was verified using Duncan test with computer program Statistica'99.

Results and discussion

Prolactin is one of the protein hormones released by pituitary gland, which control reproductive processes. The signals of prolactin are recognized by specific receptors (*PRLR*) built into cell membranes. Detection of the polymorphism of *PRLR* gene could increase improving the reproductive traits in farm animals.

In the herd of studied pigs, two different alleles of *PRLR* gene were identified with PCR – RFLP method: allele A and B that were responsible for three different

genotypes: AA, AB and BB. The lengths of restriction fragments detected during the experiment were as follows: 124, 110, 79, 77 and 67 base pair (bp) for allele A and 124, 90, 79, 77, 67 and 20 bp for B one (Fig.). The frequency of allele A was estimated at 0.440, while of allele B – 0.560 (Table 1). However, VINCENT et al., 1997 reported the frequency of allele A in different pig breeds: Chester White ($n = 10$) – 0.25; Duroc ($n = 10$) – 0.79; Hampshire ($n = 10$) – 0.05; Landrace ($n = 9$) – 0.72; Yorkshire ($n = 12$) – 0.37; Chinese Meishan ($n = 9$) – 0.56 and European Large White ($n = 11$) – 0.32. Among the population of studied pigs, genotype AA was detected with the frequency of 0.247, AB – 0.386 and BB – 0.367. In the herd of sows, the frequency of *PRLR* genotype AA was twice as high as in the group of 8 boars (0.251 and 0.125 respectively). However, the frequency of AB genotype (0.382) and BB one (0.367) in sows was not significantly lower than in boars (AB – 0.5 and BB – 0.375 (Table 1).

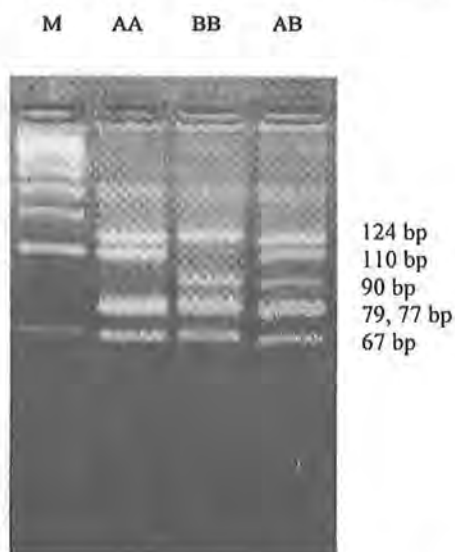


Figure: PCR – RFLP products of porcine *PRLR* gene. The figure shows three different genotypes: AA, AB and BB. M – DNA marker pUC19/*MspI* (PCR-RFLP Produkte des Gens. Das Foto stellt vor: AA, AB und BB. M – DNA Marker pUC19/*MspI*)

Table 1

The frequency of genotypes and alleles of *PRLR* gene in studied population of pigs (Frequenz der Genotypen und Allele des Prolaktinrezeptors (*PRLR*) in der untersuchten Schweineherde)

Group		<i>PRLR</i> genotype			Total	<i>PRLR</i> allele	
		AA	AB	BB		A	B
Boars	n	1	4	3	8	0.375	0.625
	Frequency	0.125	0.500	0.375	1.000		
Sows	n	52	79	76	207	0.442	0.558
	Frequency	0.251	0.382	0.367	1.000		
Total	n	53	83	79	215	0.440	0.560
	Frequency	0.247	0.386	0.367	1.000		

In the analyzed herd of sows, deviation from genetic equilibrium was observed between the observed and expected numbers of *PRLR* ($\chi^2 = 10.020$; $P \leq 0.01$). Comparing the observed and the expected numbers of particular *PRLR* genotypes, it was demonstrated that genotype *PRLR* AB occurred significantly ($P \leq 0.05$) more frequently, than it would be expected on the basis of the Hardy-Weinberg equilibrium. The analysis of the teats number on the left and right body side and total teats number showed small and statistically not significant differences between sows carrying different *PRLR* genotypes. The greatest total number of teats was counted in sows with BB genotype (15.44), a little smaller – AB genotype (15.38) and the smallest – AA one (15.33) (Table 2).

Table 2

Means and standard deviation of teats number in sows carrying different *PRLR* genotypes (Mittlere Standardabweichung der Zitzenanzahl bei Sauen verschiedener Genotypen des Prolaktinrezeptors (*PRLR*))

<i>PRLR</i> genotype	Number of sows	Number left side teats		Number right side teats		Total number of teats	
		Mean	SD	Mean	SD	Mean	SD
AA	52	7.54	0.54	7.46	0.50	15.33	0.71
AB	79	7.61	0.52	7.35	0.51	15.38	0.76
BB	76	7.57	0.50	7.34	0.48	15.44	0.70
Total	207	7.57	0.51	7.38	0.50	15.39	0.72

Table 3

The number of piglets in the first litter of sows with different *PRLR* genotypes (Anzahl der im 1. Wurf geborenen Ferkeln bei Sauen von verschiedenen Genotypen des Prolaktinrezeptors (*PRLR*))

<i>PRLR</i> genotype	Sows number	Number of piglets		Number of boar piglets		Number of sows piglets		The age of the first parity [days]	
		Mean	SD	Mean	SD	Mean	SD	Mean	SD
AA	116	10.51 ^A	1.10	6.08	3.11	5.99	2.22	356.8	49.6
AB	84	10.44	0.99	6.76	3.51	5.47	3.09	360.0	51.8
BB	62	10.16 ^A	0.88	6.42	2.77	5.14	2.51	358.1	55.0
Total	207	10.43	1.25	6.46	3.15	5.42	2.69	358.5	52.2

Means in columns designated with the same letter differ significantly at $P \leq 0.01$.

Table 3 shows the number of piglets in the first litter of Polish Landrace sows and the sow age at the first farrowing relating to *PRLR* genotype. The greatest mean number of piglets in the first litter characterized sows with AA genotype (10.51), while AB sows

had 10.44 piglets and BB 10.16. The difference between pigs carrying genotypes AA and BB was 0.35 piglet per litter and was statistically significant at 0.1 level. In 1998, Rothschild obtained similar results (ROTHSCHILD et al., 1998); the effect of *PRLR* genotype was 0.25 piglet per litter but in successive litters that effect was greater.

The differences observed between animals with different *PRLR* genotypes were small and statistically not significant.

Conclusions

Two alleles of prolactin receptor gene and three genotypes (AA, AB and BB) were identified in the analyzed herd of Polish Landrace. The frequency of allele A was 0.44 and B – 0.56. The genotype AA was present with the frequency 0.47, genotype AB – 0.386 and BB – 0.67.

The analysis of relation between the genotype of prolactin receptor and the studied reproductive traits showed significantly greater ($P \leq 0.1$) mean number of piglets in the first litter (0.5 piglet more) of sows carrying AA genotype than BB one.

The analysis of the teats number on the left and right body side and total teats number showed small and statistically not significant differences between sows carrying different *PRLR* genotypes. The greatest total number of teats was counted in sows with BB genotype (15.4), a little smaller – AB genotype (15.8) and the smallest – AA one (15.3).

References

- ROTHSCHILD, M.F.; VINCENT, A.L.; TUGGLE, C.K.; EVANS, G.; SHORT, T.H.; SOUTHWOOD, O.I.; WALES, R.; PLASTOW, G.S.:
A mutation in the prolactin receptor gene is associated with increasing litter size in pigs. *Animal Genetics*, 29 (1998) (suppl. 1), 60 – 74
- SNELL, E.J.:
A scaling procedure for ordered categorical data. *Biometrics*, 9 (1964), 592 – 607
- VINCENT, A.L.; WANG, L.; TUGGLE, C.K.; ROBIC, A.; ROTHCHILD, M.F.;
Prolactin receptor maps pig chromosome 16. *Mammalian Genome*, 8 (1997) 10, 793 – 794
- ŻUK, B.:
Practical biometrics. (Polish Language). PWN Warszawa, 1989

Received: 2000-10-09

Accepted: 2001-06-18

Authors' address

PhD DSc Prof. MAREK KMIEĆ, MSc ANDRZEJ DYBUS, MSc ARKADIUSZ TERMAN
Agricultural University of Szczecin
Department of Genetics and Animal Breeding
ul. Doktora Judyma 6
71-460 Szczecin
Poland

Buchbesprechung

Gesunde Rinderbestände durch Homöopathie

CHRISTOPHER DAY

175 Seiten, Sonntag Verlag, Stuttgart, 2001, ISBN 3 87758 155 2, DM 59,0; 4S 431,0; sFr 52,50

Aus dem Englischen übersetzt und bearbeitet von A. SCHMIDT, dem Autor des im gleichen Verlage erschienenen Buches „Grundkurs in klassischer Homöopathie für Tierärzte“, liegt dieser praktische Leitfaden zum Einsatz der Homöopathie in der Rinderhaltung vor. Dieses Buch liegt wie andere auf diesem Gebiet in jüngerer Zeit erschienene Titel im Zeittrend, welcher vermehrt „nicht chemische“ Therapien fordert. Die Zahl von Tierärzten, die eine komplementärmedizinische Erweiterung ihrer Therapiemöglichkeiten suchen, wird größer. Es steigt auch nicht nur die Nachfrage nach homöopathischen Behandlungen aus den Reihen des ökologischen Landbaues, sondern auch bei Tierhaltern, die z.B. bei chronischen Erkrankungen Alternativen zu den bisherigen konventionellen Möglichkeiten suchen. Begrüßenswert ist in vorliegendem Titel das Bemühen des Autors Homöopathie nicht nur als Alternative, als Ersatz schulmedizinischer Therapien zu sehen, sondern auch als sinnvolle Ergänzung in der veterinärmedizinischen Praxis. Mit dem Ziel der Praxistauglichkeit wollte der Autor ein gut handhabbares, informatives Kompendium für Tierärzte und Landwirte vorzulegen.

Die einführenden Abschnitte zeigen die Komplexität homöopathischer Methoden und sind für das Verständnis der Wirkprinzipien unerlässlich. U.a. wird dargelegt, dass Homöopathie eine Regulierungstherapie ist, welche fehlgeordnete Anpassungsfähigkeit des Organismus im Sinne der Selbstheilung korrigiert bzw. fördert. Es werden u.a. die Gründe für die Anwendung der Homöopathie besprochen aber auch die Grenzen bzw. der notwendige Rückgriff auf konventionelle Medikamente diskutiert. Weitere Abschnitte behandeln die verschiedenen Vorgehensweisen sowie die Anwendung der Arzneien, ihre Zubereitung, Dosierung, Verabreichung u.a.. In sorgfältiger Auswahl folgt ein Arzneimittverzeichnis und die Beschreibung verschiedener Arzneien, die in der Rinderpraxis zur Anwendung kommen. In alphabetischer Reihenfolge werden die wichtigsten beim Rind auftretenden Krankheiten, die dazu passenden Arzneien sowie die bewährten homöopathischen Vorgehensweisen besprochen, wobei je nach Wichtigkeit bestimmte Arzneien drucktechnisch besonders gekennzeichnet sind. Es folgen Abschnitte die Vorgehensweisen bei psychischen Störungen empfehlen, die das Wohlbefinden der Tiere befördern oder vorbeugende Maßnahmen bei der Mastitis beschreiben. Informativ ist auch die Darstellung von Fallbeispielen. Den Abschluss bilden Vorschläge für eine Stallapotheke, ein Glossar, eine Arzneicheckliste, weiterführende Literatur, nützliche Adressen und ein Arzneimittverzeichnis.

Das sehr anwendungsorientierte, praxisrelevante Buch macht aber auch deutlich, dass Homöopathie tierärztliches Wissen und Können, Beobachtungsgabe sowie die Fähigkeit zur Deduktion von Befunden und deren richtige Interpretation erfordert. Es informiert den Tierhalter über Möglichkeiten alternativer Prophylaxe und Therapie und kann helfen die Zusammenarbeit zwischen Tierhaltern und Tierärzten effektiver zu gestalten.

ERNST RITTER, Dummerstorf