

血統登錄種豬基因多樣性分析⁽¹⁾

廖仁寶⁽²⁾ 陳若菁⁽²⁾ 王玉雪⁽²⁾ 吳明哲⁽²⁾ 張秀鑾⁽³⁾⁽⁴⁾

收件日期：106 年 4 月 27 日；接受日期：106 年 5 月 26 日

摘 要

畜養動物基因多樣性維護，為生物多樣性公約愛知目標與聯合國永續發展目標重要項目之一。本研究應用 29 組豬微衛星遺傳標記，分析 64 頭杜洛克、63 頭藍瑞斯及 62 頭約克夏品種之種豬 DNA 樣品，計 189 個。經分析後得知三個品種種豬平均交替基因數 (Na)、有效交替基因數 (Ne)、觀測異質度 (Ho)、期望異質度 (He)、多態性訊息量 (PIC)、族群近交係數 (F_{IS}) 及族群分化指數 (F_{ST}) 分別為 9.9、4.2、0.615、0.718、0.682、0.0453 及 0.1459。三個品種種豬之個別平均 PIC 值均大於 0.5，尤以約克夏豬種 PIC 值最大，顯示種豬族群具有高度遺傳多態性資訊。此外，族群結構分析發現，所有樣品最適分成三群，各群最主要由單一品種組成，且每一分群的主要品種組成頻率皆達 95% 以上，推測我國種豬族群已相當純化。

關鍵詞：種豬、基因多樣性、微衛星遺傳標記。

緒 言

依據 2015 年農業統計年報與農業統計要覽資料顯示，我國肉豬產值達 717 億，佔畜產品產值之 43.8%，為農產品總產值之 14.3%，由此可知養豬產業對農業發展的重要性；而種豬產業為養豬產業重要的火車頭，飼養之種豬則約 61 萬頭，其中種公豬約 2 萬頭，種母豬約 59 萬頭 (行政院農業委員會統計室，2015)。物種基因多樣性為物種為因應變化的環境而產生基因演化的結果，故豐富的基因多樣性為畜禽選育的重要遺傳資源與依據。然因商業利益的考量，致地球上許多在當前不具商業利益的畜禽品種相繼消失；導致少數商業品種畜禽成為全球畜產食物的主要供應者。惟現今氣候變遷與疫病發生、傳播的問題，往往造成商業畜禽品種因無法克服上述因素而死亡，除重創相關產業外，亦對人類生命產生威脅。因此，寶貴的畜禽遺傳資源應該積極保護與善加利用。2010 年在日本愛知縣名古屋市舉行生物多樣性公約第 10 屆締約國會議 (CBD-COP10)，會議通過名古屋議定書 (Nagoya Protocol) 與愛知目標 (Aichi Biodiversity Targets) (<http://www.swan.org.tw/docdir/24BC539871.pdf>)，分別就全球基因資源的管理和保護生物多樣性提出具體規定和目標。愛知目標訂定 5 大策略目標和 20 項標題目標，其中策略目標 3 為保護生態系、物種和基因多樣性以改善生物多樣性的狀況；而標題目標 13 明定「到 2020 年，作物、畜養動物和其野生親緣物種，以及其他具有社會經濟文化價值之物種的基因多樣性被保護，同時制定並執行保護基因多樣性策略，以防其喪失。」。2014 年聯合國第 68 屆大會中，正式宣示採納「永續發展目標 (SDGs)」決議，並後續制定「聯合國 2015 年後發展議程」(<http://nsdn.epa.gov.tw/files/sdgs/聯合國永續發展目標中文翻譯.pdf>)。永續發展目標涵括 17 項目標與 169 個細項目標，其中目標二之細項目標「2.5 在西元 2020 年前，維持種子、栽種植物、家畜以及與他們有關的野生品種之基因多樣性，包括善用國家、國際與區域妥善管理及多樣化的種籽與植物銀行，並確保運用基因資源與有關傳統知識所產生的好處得以依照國際協議而公平的分享」。由此可知，物種基因多樣性保育的重要性。

微衛星標記 (microsatellite marker) 常位於基因組中非編碼區域 (non-coding region)，而此區域含大量遺傳變異度，故具高度多態性，且普遍分布於整個基因組中。據估計，哺乳類基因組中約每隔 30 kb 就有一個雙核苷酸重複的標記 (Stallings *et al.*, 1991)。此外，微衛星標記交替基因具共顯性特性，用途廣泛且操作分析簡易，可用於數量性狀基因座 (quantitative trait loci, QTL) 定位 (Okamura *et al.*, 2012; Honkatukia *et al.*, 2013)、法醫學領域 (Butler, 2005)、親緣鑑定 (Cherel *et al.*, 2011; Hübner *et al.*, 2012) 及基因多樣性分析 (Chang *et al.*, 2009; Chen *et al.*, 2012; Regidor-Cerrillo

(1) 行政院農業委員會畜產試驗所研究報告第 2563 號。

(2) 行政院農業委員會畜產試驗所遺傳育種組。

(3) 國立屏東科技大學動物科學與畜產系。

(4) 通訊作者，E-mail：hlchang@mail.npust.edu.tw。

et al., 2013; Sharma *et al.*, 2013) 等。聯合國糧食及農業組織 (Food and Agriculture Organization of the United Nations, FAO) 專輯中，整理一系列可用於畜產動物包括豬、乳牛、水牛、山羊、綿羊、駱駝科、馬、驢、雞等基因多樣性分析的微衛星遺傳標記 (FAO, 2011)，藉由使用統一的遺傳標記分析，可使後續各相關物種基因多樣性的比較有一致性的基準。目前有關種豬基因多樣性分析研究，多數聚焦於本地種，如臺灣蘭嶼豬 (Chang *et al.*, 2009)、中國五指山迷你豬 (Wang *et al.*, 2006)、希臘黑豬 (Michailidou *et al.*, 2014)、南美洲 Criollo 豬 (Revidatti *et al.*, 2014)、越南五個地方豬種 (Ha Lang、Muong Te、Mong Cai、Lung 及 Lung Pu) (Pham *et al.*, 2014)，亦有少數研究同時分析本地種與商業品種的基因多樣性 (Thuy *et al.*, 2006; Vicente *et al.*, 2008; Chen *et al.*, 2012)。本研究針對我國養豬產業生產最重要的三個商業品種杜洛克 (Duroc, D)、藍瑞斯 (Landrace, L) 及約克夏 (Yorkshire, Y) 的種豬，進行分子遺傳學分析，藉以瞭解與估計各品種種豬之基因多樣性參數值。

材料與方法

I. 樣品採集

種豬血液樣品來自財團法人中央畜產會種豬檢定站，來源為臺灣各種豬場送檢種豬。以含抗凝劑 EDTA 之採血管採集豬隻血樣 3 – 5 mL，使用 DNA 萃取套組 (DNA Isolation Kit for Mammalian Blood, Roche, Germany) 萃取核內 DNA，供基因檢測分析用。進一步挑選其中經血統登錄且選拔指數 110 (含) 以上種豬之 DNA，共計 189 個樣品；其中 D 品種 64 個、L 品種 63 個及 Y 品種 62 個。

II. 微衛星遺傳標記分析

挑選 FAO 推薦和本研究室發表與母豬產仔性能相關的微衛星遺傳標記共 29 組，包括 IGF1、S0002、S0005、S0026、S0068、S0090、S0097、S0101、S0143、S0155、S0178、S0218、S0226、S0228、S0355、SW122、SW2008、SW2406、SW2410、SW632、SW72、SW830、SW857、SW911、SW936、SWr1941、SW240 (FAO, 2011)、KS148 (廖等, 2013) 及 OPN (廖等, 2001)，應用於種豬基因多樣性分析。每組標記中之一引子需標幟螢光物質 FAM、TET 或 HEX，進行 D、L 及 Y 品種共 189 頭種豬 DNA 樣品之 PCR。依據各組標記建議之 PCR 條件，進行 multiplex 分析。取 1 μ L 適當稀釋之 PCR 產物與 0.25 μ L 之標準品 (GeneScan-500 LIZ Size Standard, Applied Biosystems, USA)，並加入 9 μ L 之 Hi-Di 甲醯胺 (Applied Biosystems, USA)，混合均勻後，置於 90°C 的 PCR 儀器反應槽下變性 5 min，再將樣品以自動定序儀 ABI3730 (Applied Biosystems, USA) 進行毛細管電泳分離，最後以 GeneMapper v4.0 (Applied Biosystems, USA) 軟體進行分析，以得到各個樣品之不同遺傳標記交替基因資訊。

III. 統計分析

自 GeneMapper 軟體分析所得樣品之交替基因資訊，轉成 excel 檔案格式，再利用分析程式 Microsatellite Toolkit (Park, 2001) 進行各個參數之運算分析，包括交替基因數目 (number of alleles, Na) 與頻率、觀測異質度 (observed heterozygosity, Ho)、期望異質度 (expected heterozygosity, He) 及多態性訊息量 (polymorphism information content, PIC)。有效交替基因數目 (number of effective alleles, Ne) 的計算公式為： $Ne = 1 / (1 - He)$ 。應用 FSTAT 2.9.3 計算族群的近親系數 (Goudet, 1995; 2001)，族群中每個標記之哈溫平衡分析 (Hardy-Weinberg equilibrium, HWE) (Guo and Thompson, 1992)，則利用 GENEPOP (Raymond and Rousset, 1995) 或 Cervus 3.0 (Kalinowski *et al.*, 2007) 軟體完成。有關品種間的 Nei's 遺傳距離分析，則以 Dispan 軟體完成 (Ota, 1993)。另族群的分化程度以 Wright's fixation index 呈現 (Wright, 1965)，並以 GENEPOP 與 FSTAT 軟體分析。最後應用 STRUCTURE 2.3.4 軟體 (Pritchard *et al.*, 2000) 進行群數分布之模擬分析，計算 5,000 次後之 1,000,000 次可能的分群數 K (K = 1 – 10)，每個 K 值重複模擬 3 次，並利用 STRUCTURE HARVESTER v0.6.91 程式 (Earl and vonHoldt, 2012) 依 Evanno 法 (Evanno *et al.*, 2005) 估算最適 K 值。

結果與討論

I. 微衛星遺傳標記多態性

應用 29 組豬專一之微衛星型遺傳標記，分析 189 頭血統登錄種豬 DNA 樣品，計得 287 個交替基因，而標記的 Na、Ne、He、Ho 及 PIC 分別介於 5 (S0355) – 24 (S0005)、1.8 (S0218) – 13.1 (S0005)、0.434 (S0218) – 0.924 (S0005)、0.138 (S0218) – 0.873 (S0178) 及 0.412 (S0218) – 0.916 (S0005)，而其平均值則分別為 9.9、4.2、0.718、0.615 及 0.682 (表 1)。本研究 S0005 標記含有最多的交替基因數目達 24 個，此與 Chen *et al.* (2012) 分析臺灣黑

豬與其他六個豬品種 (梅山、桃園、盤克夏、杜洛克、藍瑞斯及約克夏) 而得到 22 個交替基因, 及 Vicente *et al.* (2008) 分析葡萄牙三個地方豬種 (Alentejano, Bísaro, Malhado de Alcobça) 與四個商業化品種 (杜洛克、藍瑞斯、大白或稱約克夏、比利華) 獲得 20 個交替基因之結果近似。然 Chang *et al.* (2009) 分析蘭嶼豬種時, 僅得到兩種交替基因。此外, 本研究中 S0005 之 Ne、Ho 及 PIC 值皆為所有標記之冠, 但 He 值僅次於 S0178。S0218 的基因多樣性參數估值, 除 Na 外, 其餘之 Ne、Ho 及 PIC 值皆為所有標記之最低者。哈溫平衡檢定結果發現, 29 個標記中, 10 個屬於嚴重偏離 ($P < 0.01$), 但有一個標記無法完成分析 (S0005), 經濟性狀的選拔可能造成標記嚴重偏離哈溫平衡的原因, 即某些選拔之經濟性狀相關基因可能與此 10 個標記有連鎖關係。本研究 29 個標記之 F_{IS} 平均值為 0.0453, 範圍介於 -0.0879 (S0355) 至 0.6629 (S0218), S0218 位於 X 染色體上; 其中 F_{IS} 值較大者有 IGF1 (0.2703) 與 SW2008 (0.2038), F_{ST} 平均值為 0.1459, 範圍介於 0.0146 (SW2008) 至 0.3191 (OPN)。

表 1. 29 個微衛星遺傳標記特性

Table 1. Characteristics of 29 microsatellite markers used in this study

| Locus | SSC | Na | Ne | Ho | He | PIC | F_{IS} | F_{ST} | HWE test |
|---------------|-----|-----|------|-------|-------|-------|----------|----------|----------|
| IGF1 | 5 | 9 | 4.5 | 0.534 | 0.780 | 0.746 | 0.2703 | 0.0896 | *** |
| KS148 | 8 | 12 | 3.4 | 0.550 | 0.708 | 0.673 | 0.1741 | 0.0854 | ** |
| OPN | 8 | 11 | 4.7 | 0.603 | 0.786 | 0.752 | -0.0077 | 0.3191 | *** |
| S0002 | 3 | 13 | 5.3 | 0.751 | 0.813 | 0.786 | 0.0193 | 0.0839 | NS |
| S0005 | 5 | 24 | 13.1 | 0.825 | 0.924 | 0.916 | 0.0429 | 0.0963 | ND |
| S0026 | 16 | 7 | 3.8 | 0.561 | 0.736 | 0.688 | 0.0109 | 0.3088 | *** |
| S0068 | 13 | 16 | 4.4 | 0.698 | 0.775 | 0.748 | 0.0192 | 0.1169 | NS |
| S0090 | 12 | 8 | 4.4 | 0.667 | 0.770 | 0.734 | 0.0665 | 0.1055 | NS |
| S0097 | 4 | 12 | 3.8 | 0.661 | 0.737 | 0.694 | 0.0369 | 0.0994 | NS |
| S0101 | 7 | 7 | 3.6 | 0.640 | 0.719 | 0.677 | 0.0389 | 0.1055 | NS |
| S0143 | 12 | 6 | 2.6 | 0.550 | 0.613 | 0.557 | -0.0392 | 0.1908 | NS |
| S0155 | 1 | 8 | 3.6 | 0.550 | 0.723 | 0.680 | 0.0349 | 0.2867 | *** |
| S0178 | 8 | 15 | 8.0 | 0.873 | 0.875 | 0.861 | -0.0598 | 0.0844 | NS |
| S0218 | X | 7 | 1.8 | 0.138 | 0.434 | 0.412 | 0.6629 | 0.0891 | *** |
| S0226 | 2 | 8 | 3.9 | 0.646 | 0.743 | 0.696 | -0.0229 | 0.2095 | ** |
| S0228 | 6 | 13 | 4.7 | 0.725 | 0.786 | 0.764 | -0.0310 | 0.1493 | NS |
| S0355 | 15 | 5 | 2.6 | 0.561 | 0.614 | 0.579 | -0.0879 | 0.2217 | NS |
| SW122 | 6 | 9 | 5.1 | 0.651 | 0.805 | 0.779 | 0.0151 | 0.2468 | *** |
| SW2008 | 11 | 7 | 2.6 | 0.481 | 0.610 | 0.531 | 0.2038 | 0.0146 | NS |
| SW2406 | 6 | 13 | 2.6 | 0.550 | 0.614 | 0.589 | 0.0437 | 0.0921 | NS |
| SW2410 | 8 | 7 | 2.3 | 0.550 | 0.567 | 0.529 | -0.0117 | 0.0593 | NS |
| SW632 | 7 | 8 | 4.1 | 0.688 | 0.758 | 0.720 | -0.0539 | 0.1937 | NS |
| SW72 | 3 | 7 | 3.7 | 0.741 | 0.731 | 0.685 | -0.0603 | 0.0643 | NS |
| SW830 | 10 | 9 | 2.2 | 0.481 | 0.536 | 0.506 | 0.0256 | 0.1120 | NS |
| SW857 | 14 | 12 | 5.6 | 0.783 | 0.822 | 0.798 | -0.0344 | 0.1136 | NS |
| SW911 | 9 | 6 | 2.7 | 0.508 | 0.635 | 0.564 | 0.0748 | 0.1903 | NS |
| SW936 | 15 | 10 | 3.7 | 0.593 | 0.733 | 0.691 | 0.0768 | 0.1758 | ** |
| SWr1941 | 13 | 9 | 4.9 | 0.646 | 0.794 | 0.765 | 0.0957 | 0.1447 | *** |
| SW240 | 2 | 9 | 3.1 | 0.630 | 0.673 | 0.643 | 0.0140 | 0.0752 | NS |
| Mean estimate | | 9.9 | 4.2 | 0.615 | 0.718 | 0.682 | 0.0453 | 0.1459 | |

NS: Not significant.

ND: Not done.

** : $P < 0.01$.

*** : $P < 0.001$.

SSC: *Sus scrofa* chromosome; Na: Number of alleles; Ne: Number of effective alleles; Ho: Observed heterozygosity; He: Expected heterozygosity; PIC: Polymorphism information content; F_{IS} : Wright's fixation index, within population inbreeding estimate; F_{ST} : Wright's fixation index, genetic differentiation among populations; HWE test: Hardy-Weinberg equilibrium test.

II. 品種基因多樣性

進一步評估 29 種遺傳標記各品種基因多樣性參數估值，包括總交替基因數 (total number of alleles, TNa)、Na、Ne、Ho、He、PIC、 F_{IS} (表 2)。各參數平均數值依序分別為 Na: 5.8 (D) – 7.3 (Y)、Ne: 2.8 (D) – 3.6 (Y)、He: 0.589 (D) – 0.676 (Y)、Ho: 0.559 (D) – 0.649 (L) 及 PIC: 0.529 (D) – 0.626 (Y)。品種間基因多樣性比較發現，D 品種豬各參數估值皆為最低；而 Y 品種除 He 外，其餘參數估值皆為最高。Berthouly-Salazar *et al.* (2012) 分析越南地方種豬與歐美種豬 (L 與 Y) 時，發現 L 品種的 Ne、Ho 及 He 平均均大於 Y 品種者；然 L 品種的 F_{IS} 值，則較小。Vicente *et al.* (2008) 估計葡萄牙地方豬種與四個商業化品種基因多樣性參數時，發現 D 品種的參數估值較其他三個商業化品種者為低。Chen *et al.* (2012) 分析臺灣黑豬與其他對照歐美種豬 (盤克夏、杜洛克、藍瑞斯及約克夏) 時，其中 D 品種的 Ho 值為四種歐美種豬最低者。D 品種為父系豬種，預期有較母系豬強的選拔強度；且為臺灣商業化肉豬生產之終端公豬，其全國飼養總頭數較 L 與 Y 品種種母豬為少，故可預期 D 品種豬的基因多樣性參數估值為三者中最低。生物多樣性公約愛知目標與聯合國永續發展目標的一項重點在維護畜養動物之基因多樣性，由本研究分析顯示，所檢測之商業性歐美種豬的基因多樣性主要參數 (He, Ho, PIC) 平均值皆大於 0.5，Botstein *et al.* (1980) 指出 $PIC > 0.5$ 時，共顯性的基因座具高度遺傳訊息，因而推論我國現階段商用種豬群尚具高度遺傳多態性資訊。

表 2. 不同豬種基因多樣性參數估值平均

Table 2. The average estimates of genetic diversity parameters among pig breeds

| Breed | N | TNa | Na | Ne | Ho | He | PIC | F_{IS} |
|-----------|----|-----|-----|-----|-------|-------|-------|----------|
| Duroc | 64 | 169 | 5.8 | 2.8 | 0.559 | 0.589 | 0.529 | 0.051 |
| Landrace | 63 | 206 | 7.1 | 3.5 | 0.649 | 0.669 | 0.620 | 0.031 |
| Yorkshire | 62 | 212 | 7.3 | 3.6 | 0.639 | 0.676 | 0.626 | 0.055 |

TNa: Total number of alleles.

III. 遺傳關連與族群結構

三個品種 (L、Y 與 D) 遺傳距離，如表 3 所示。D 與 Y 間之 Nei's 遺傳距離估值最大，其次為 D 與 L；而 L 與 Y 間之遺傳距離，則最小。本研究結果與 Vicente *et al.* (2008) 一致；但與 Chang *et al.* (2009) 和 Chen *et al.* (2012) 之發現有異，後兩篇研究指出 D 與 L 間之遺傳距離最小。Vicente *et al.* (2008) 使用 22 個遺傳標記分析豬種遺傳多樣性，與本研究所用之 29 個標記中有 18 個相同，然 Chang *et al.* (2009) 與 Chen *et al.* (2012) 所使用的遺傳標記各為 19 與 15 個，而與本研究相同的標記僅各為 13 與 11 個，因此可能為造成分析差異的原因。若以 F_{ST} 值探討三個品種間之關係時，結果與 Nei's 遺傳距離參數估值之比較結論相似。應用 STRUCTURE 進行族群結構與混合程度分析時，先以 1 至 10 之 K 值進行運算後，再進行最適 K 值評估。結果顯示，K = 3 為最適分群數值 (圖 1)。實際上，本研究即分析 D、L、Y 不同三個品種種豬的基因多樣性，因此實驗值之最適三分群與理論值之三品種相符合。進一步評估品種與分群分布 (圖 2 與表 4) 發現：各分群皆由特定品種 (> 95%) 組成，D 品種主要分布於第二分群，L 品種主要分布於第一分群，而 Y 品種則主要分布於第三分群；第一分群除 L 品種外，尚含達 3.8% 之 Y 品種。Vicente *et al.* (2008) 進行七個品種 (Alentejano, Bísaro, Duroc, Landrace, Large White, Malhado de Alcobaça, Pietrain) 分群分析顯示：L 品種僅佔最主要分群之頻率為 0.891；Y 品種 (Large White) 佔最主要分群之頻率為 0.919；而 D 品種佔最主要分群之頻率為 0.973。由此可推測，歐美國際商業豬種組成分子非完全 (百分之百) 純化，惟本研究三個品種純度至少已達 95% 以上。

表 3. 豬品種間 Nei's 遺傳距離 (對角線以下) 與 F_{ST} 估值 (對角線以上)

Table 3. Nei's standard genetic distance (below the diagonal) and mean F_{ST} estimates (above the diagonal) among pig populations

| Population | Duroc | Landrace | Yorkshire |
|------------|--------|----------|-----------|
| Duroc | | 0.1635 | 0.1687 |
| Landrace | 0.3971 | | 0.1043 |
| Yorkshire | 0.4227 | 0.2740 | |

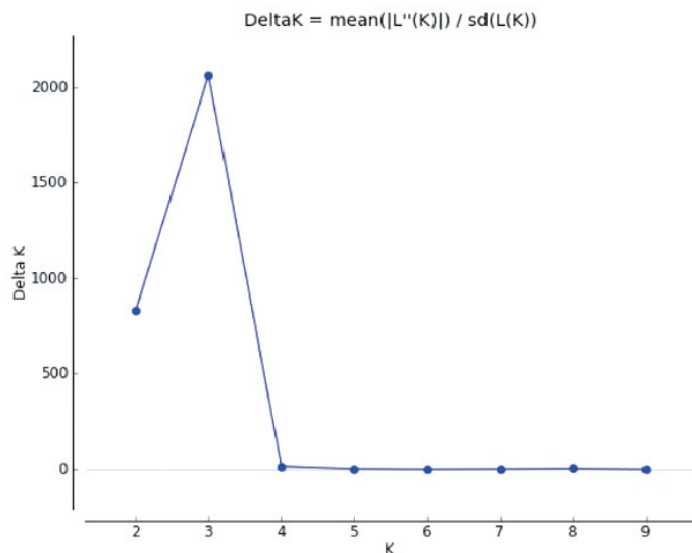


圖 1. 應用 STRUCTURE HARVESTER 之 Evanno 方法進行 K 值最佳化評估。

Fig. 1. The optimized K value assessed with Evanno method by STRUCTURE HARVESTER.

表 4. 以 STRUCTURE 軟體分析各品種於各群組之分布頻率

Table 4. Membership coefficient of the breeds tested in the three clusters inferred by STRUCTURE software

| Predefined Population | Inferred clusters | | |
|-----------------------|-------------------|-------|-------|
| | 1 | 2 | 3 |
| Durco | 0.010 | 0.976 | 0.014 |
| Landrace | 0.980 | 0.007 | 0.013 |
| Yorkshire | 0.038 | 0.004 | 0.957 |

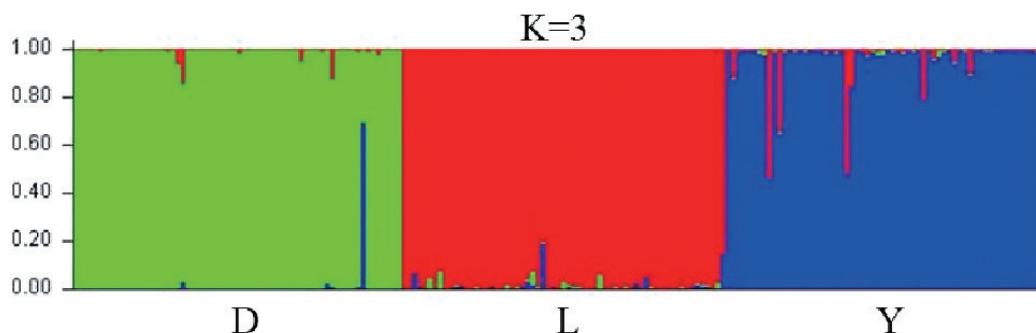


圖 2. 應用 STRUCTURE 軟體與 29 組微衛星標記進行種豬分群分析。

Fig. 2. The clustering of breeding pigs with 29 microsatellite markers by STRUCTURE.

結 論

經由分子生物學技術與分子遺傳分析軟體評估三個臺灣血統登錄品種 (D、L 及 Y)，計 189 頭選拔指數 110 (含) 以上種豬之基因多樣性，結果顯示：三個品種的平均期望異質度 (He)、觀測異質度 (Ho) 及多態性訊息量 (PIC) 皆大於 0.5，推論臺灣該三個品種之種豬族群具高度遺傳多態性資訊。

誌 謝

承蒙行政院農業委員會經費支持 (103 農科 -2.1.5- 畜 -L1)，復承財團法人中央畜產會種豬檢定站提供種豬血液樣品與資料，本研究始得以完成，謹致謝忱。

參考文獻

- 行政院農業委員會統計室。2015。農業統計年報。行政院農業委員會。臺北市。Online: <http://agrstat.coa.gov.tw/sdweb/public/book/Book.aspx>。
- 廖仁寶、吳明哲、張秀鑾。2001。盤克夏豬造骨蛋白基因啟動子區域之 TG 重複區定序。中華農學會報 2 : 217-225。
- 廖仁寶、黃鈺嘉、賴永裕、吳明哲、張秀鑾。2013。豬第 8 號染色體微衛星型遺傳標記與經產母豬產仔性能之相關性研究。畜產研究 46 : 21-32。
- Berthouly-Salazar, C., S. Thévenon, T. N. Van, B. T. Nguyen, L. D. Pham, C. V. Chi and J. C. Maillard. 2012. Uncontrolled admixture and loss of genetic diversity in a local Vietnamese pig breed. *Ecol. Evol.* 2: 962-975.
- Botstein, D., R. L. White, M. Skolnick and R. W. Davis. 1980. Construction of a genetic linkage map in man using restriction fragment length polymorphisms. *Am. J. Hum. Genet.* 32: 314-331.
- Butler, J. M. 2005. *Forensic DNA typing: Biology, technology, and genetics of STR markers*, 2nd ed., Academic Press, London, UK.
- Chang, W. H., H. P. Chu, Y. N. Jiang, S. H. Li, Y. Wang, C. H. Chen, K. J. Chen, C. Y. Lin and Y. T. Ju. 2009. Genetic variation and phylogenetics of Lanyu and exotic pig breeds in Taiwan analyzed by nineteen microsatellite markers. *J. Anim. Sci.* 87: 1-8.
- Chen, Y. C., J. T. Hsu, C. C. Chien, Y. C. Leu, C. Y. L. Chyr, D. Y. Lin, E. C. Lin, C. H. Chen and P. H. Wang. 2012. Investigation of genetic relationships among Taiwan black pigs and other pig breeds in Taiwan based on microsatellite markers. *Anim. Biotech.* 23: 278-290.
- Cherel, P., J. Glénisson and J. Pires. 2011. Tetranucleotide microsatellites contribute to a highly discriminating parentage test panel in pig. *Anim. Genet.* 42: 659-661.
- Earl, D. A. and B. M. vonHoldt. 2012. STRUCTURE HARVESTER: a website and program for visualizing STRUCTURE output and implementing the Evanno method. *Conserv. Genet. Resour.* 4: 359-361.
- Evanno, G., S. Regnaut and J. Goudet. 2005. Detecting the number of clusters of individuals using the software STRUCTURE: a simulation study. *Mol. Ecol.* 14: 2611-2620.
- FAO. 2011. *Molecular genetic characterization of animal genetic resources*. FAO Animal Production and Health Guidelines. No. 9. Rome, Italy.
- Goudet, J. 1995. FSTAT ver. 1.2: a computer program to calculate F-statistics. *J. Hered.* 86: 485-486.
- Goudet, J. 2001. FSTAT, a program to estimate and test gene diversities and fixation indices Version 2.9.3. <http://www.unil.ch/izea/software/fstat.html> updated from Goudet (1995).
- Guo, S. W. and E. A. Thompson. 1992. Performing the exact test of Hardy-Weinberg proportion for multiple alleles. *Biometrics* 48: 361-372.
- Honkatukia, M., M. Tuiskula-Haavisto, J. Arango, J. Tabell, M. Schmutz, R. Preisinger and J. Vilkki. 2013. QTL mapping of egg albumen quality in egg layers. *Genet. Sel. Evol.* 45: 31.
- Hübner, K., M. Gonzalez-Wanguemert, O. E. Diekmann and E. A. Serrão. 2012. Power of exclusion of 19 microsatellite markers for parentage testing in river buffalo (*Bubalus bubalis*). *Mol. Biol. Rep.* 39: 8217-8223.
- Kalinowski, S. T., M. L. Taper and T. C. Marshall. 2007. Revising how the computer program CERVUS accommodates genotyping error increases success in paternity assignment. *Mol. Ecol.* 16: 1099-1106.
- Michailidou, S., A. Kalivas, I. Ganopoulos, E. Stea, G. Michailidis, A. Tsiftaris and A. Argiriou. 2014. A multi-farm assessment of Greek black pig genetic diversity using microsatellite molecular markers. *Genet. Mol. Res.* 13: 2752-2765.
- Okamura, T., W. Onodera, T. Tayama, H. Kadowaki, C. Kojima-Shibata, E. Suzuki, Y. Uemoto, S. Mikawa, T. Hayashi, T. Awata, N. Fujishima-Kanaya, A. Mikawa, H. Uenishi and K. Suzuki. 2012. A genome-wide scan for quantitative trait loci affecting respiratory disease and immune capacity in Landrace pigs. *Anim. Genet.* 43: 721-729.
- Ota, T. 1993. *DISPAN: genetic distance and phylogenetic analysis*. Pennsylvania State University, University Park, PA, USA.
- Park, S. D. E. 2001. *Trypanotolerances in West African cattle and the population genetic effects of selection* [Ph. D. Thesis], University of Dublin, Dublin, Ireland.

- Pham, L. D., D. N. Do, L. Q. Nam, N. Van Ba, L. T. Minh, T. X. Hoan, V. C. Cuong and H. N. Kadarmideen. 2014. Molecular genetic diversity and genetic structure of Vietnamese indigenous pig populations. *J. Anim. Breed Genet.* 131: 379-386.
- Pritchard, J. K., M. Stephens and P. Donnelly. 2000. Inference of population structure using multilocus genotype data. *Genetics* 155: 945-959.
- Raymond, M. and F. Rousset. 1995. GENEPOP (version 1.2): population genetics software for exact tests and ecumenicism. *J. Hered.* 86: 248-249.
- Regidor-Cerrillo, J., F. Díez-Fuertes, A. García-Culebras, D. P. Moore, M. González-Warleta, C. Cuevas, G. Schares, F. Katzer, S. Pedraza-Díaz, M. Mezo and L. M. Ortega-Mora. 2013. Genetic diversity and geographic population structure of bovine *Neospora caninum* determined by microsatellite genotyping analysis. *PLoS One* 8: e72678.
- Revidatti, M. A., J. V. Delgado Bermejo, L. T. Gama, V. Landi Periatí, C. Ginja, L. A. Alvarez, J. L. Vega-Pla, A. M. Martínez and BioPig Consortium. 2014. Genetic characterization of local Criollo pig breeds from the Americas using microsatellite markers. *J. Anim. Sci.* 92: 4823-4832.
- Sharma, R., A. Maitra, P. K. Singh and M. S. Tanti. 2013. Genetic diversity and relationship of cattle populations of East India: distinguishing lesser known cattle populations and established breeds based on STR markers. *Springerplus* 2: 359.
- Stallings, R. L., A. F. Ford, D. Nelson, D. C. Torney, C. E. Hildebrand and R. K. Moyzis. 1991. Evolution and distribution of (GT)_n repetitive sequences in mammalian genomes. *Genomics* 10: 807-815.
- Thuy, N. T., E. Melchinger-Wild, A. W. Kuss, N. V. Cuong, H. Bartenschlager and H. Geldermann. 2006. Comparison of Vietnamese and European pig breeds using microsatellites. *J. Anim. Sci.* 84: 2601-2608.
- Vicente, A. A., M. I. Carolino, M. C. Sousa, C. Ginja, F. S. Silva, A. M. Martinez, J. L. Vega-Pla, N. Carolino and L. T. Gama. 2008. Genetic diversity in native and commercial breeds of pigs in Portugal assessed by microsatellites. *J. Anim. Sci.* 86: 2496-2507.
- Wang, X., J. Ou, L. Huang, M. Nishihara, J. Li, N. Manabe and Y. Zhang. 2006. Genetic characteristics of inbred Wuzhishan miniature pigs, a native Chinese breed. *J. Reprod. Dev.* 52: 639-643.
- Wright, S. 1965. The interpretation of population structure by F-Statistics with special regard to systems of mating. *Evolution* 19: 395-420.

Evaluating genetic diversity of pedigreed and registered breeding pigs by microsatellite markers ⁽¹⁾

Ren-Bao Liaw ⁽²⁾ Jo-Ching Chen ⁽²⁾ Yu-Xue Wang ⁽²⁾ Ming-Che Wu ⁽²⁾ and Hsiu-Luan Chang ⁽³⁾⁽⁴⁾

Received: Apr. 27, 2017; Accepted: May 26, 2017

Abstract

The genetic diversity protection of domesticated animals is one of the important targets of Aichi Biodiversity Targets of the Convention on Biological Diversity and the Sustainable Development Goals (SDGs) of the United Nations. A total of 189 breeding pigs including 64 Duroc, 63 Landrace, and 62 Yorkshire pigs were genotyped using 29 microsatellite markers. In this study, the values of mean number of alleles (N_a), number of effective alleles (N_e), observed heterozygosity (H_o), expected heterozygosity (H_e), polymorphism information content (PIC), F_{IS} and F_{ST} were 9.9, 4.2, 0.615, 0.718, 0.682, 0.0453, and 0.1459 for the three breeds of breeding pigs. Moreover, the average PIC values within breed for three breeds evaluated were larger than 0.5. Particularly, the PIC of Yorkshire pigs was the largest among the three breeds of pigs. The results indicated that the pig populations possess high genetic diversity. Besides, the clustering results showed that all samples could be classified into appropriate three clusters and each cluster was composed of one major breed with more than 95% in frequency. It implies that the tested breeding pigs are quite pure in the specific breed.

Key words: Breeding pig, Genetic diversity, Microsatellite marker.

(1) Contribution No. 2563 from Livestock Research Institute, Council of Agriculture, Executive Yuan.

(2) Breeding and Genetics Division, COA-LRI, Hsinhua, Tainan 71246, Taiwan, R.O.C.

(3) Department of Animal Science, National Pingtung University of Science & Technology, Pingtung 91201, Taiwan, R.O.C.

(4) Corresponding author, E-mail: hlchang@mail.npust.edu.tw.