

TÌNH HÌNH NGHIÊN CỨU ỨNG DỤNG CÁC CHỈ THỊ PHÂN TỬ TRONG ĐÁNH GIÁ CÁC MÔ HÌNH LAI TẠO GIỐNG LỢN

Lê Thị Thu Huệ⁽¹⁾

(1) Đại học Thủ Dầu Một

Ngày nhận bài 30/03/2021; Ngày gửi phản biện 05/04/2021; Chấp nhận đăng 30/04/2021

Liên hệ Email: hueltt@tdmu.edu.vn

<https://doi.org/10.37550/tdmu.VJS/2021.03.182>

Tóm tắt

Nghiên cứu nhằm mục đích tổng quan về ứng dụng các chỉ thị phân tử trong đánh giá các mô hình lai tạo giống lợn. Cụ thể chúng tôi tổng quan về gen GH (grow hormon) ở lợn và mối liên quan của gen GH đến khả năng sinh trưởng ở lợn. Hormon tăng trưởng (GH), một loại hormone polypeptide chuỗi đơn do tuyến yên tiết ra từ động vật, đóng vai trò không thể thiếu trong quá trình tăng trưởng và chuyển hóa của cơ thể bằng cách điều chỉnh quá trình chuyển hóa carbohydrate, lipid và protein. Ở lợn, gen GH được định vị trong nhiễm sắc thể số 12, với tổng số chiều dài phiên mã là 1,7kb, chứa khoảng 2231bp. Chỉ thị gen CAST (capastatin) liên quan đến chất lượng thịt ở lợn. Ở lợn, gen CAST định vị trên nhiễm sắc thể số 2, có chiều dài khoảng 160kb. Đa hình gen CAST ảnh hưởng đến chất lượng thịt và năng suất quây thịt. Gen chỉ thị FUT1 liên quan đến khả năng miễn dịch ở lợn. Ở lợn, gen Alpha-1-fucosyltransferase (FUT1) định vị trên nhiễm sắc thể 6q11, với tổng chiều dài phiên mã 3315bp. Gen FUT1 có thể điều chỉnh hệ thống chuyển hóa huyết tương và một số chất chuyển hóa huyết tương cụ thể liên quan đến chuyển hóa vi khuẩn đường ruột (axit hippuric, oxindole, betaine).

Từ khoá: chỉ thị phân tử, đa hình gen, lai tạo giống lợn

Abstract

SITUATION OF RESEARCH ON APPLYING COMPONENTS INSTRUCTIONS IN ASSESSMENT OF PIG BREEDING MODELS

The study aims to overview the application of molecular markers in the evaluation of pig breeding models. Specifically, we reviewed the GH (grow hormone) gene in pigs and the relation of the GH gene to growth in pigs. Growth hormone (GH), a single-chain polypeptide hormone secreted by the pituitary gland from animals, plays an integral role in the growth and metabolism of the body by regulating carbohydrate, lipid metabolism. and protein. In pigs, the GH gene is located in chromosome 12, with a total transcription length of 1.7kb, containing approximately 2231bp. CAST gene marker (capastatin) is implicated in meat quality in pigs. In pigs, the CAST gene is located on chromosome 2, about 160kb in length. CAST gene polymorphism affects meat quality and bar performance. The FUT1 indicator gene has been implicated in pig immunity. In pigs, the alpha-1-fucosyltransferase (FUT1) gene is located on

chromosome 6q11, with a total transcription length of 3315bp. The FUT1 gene can modulate the plasma metabolic system and specific plasma metabolites involved in intestinal microbial metabolism (hippuric acid, oxindole, betaine).

1. Đặt vấn đề

Chỉ thị di truyền hoặc chỉ thị phân tử hay chỉ thị AND (Genetic Marker hoặc Molecular Marker hay AND marker) là một gen hoặc trình tự AND tại một vị trí đã biết trên một nhiễm sắc thể được sử dụng để xác định cho các cá thể hoặc loài vật nuôi. Chỉ thị di truyền có thể là một trình tự AND ngắn, chẳng hạn một trình tự xung quanh một đa hình nucleotide đơn hoặc một trình tự dài như là minisatellite). Việc chọn giống dựa trên kiểu gen với sự hỗ trợ của gen marker (marker assisted selection – MAS) đã mang lại nhiều lợi ích như làm tăng tính chính xác của chọn lọc thông qua các thông tin liên quan trực tiếp tới kiểu gen, rút ngắn thời gian chọn giống, thu hẹp khoảng cách giữa thế hệ bằng cách chọn lọc sơ bộ các tính trạng khi vật nuôi đang còn trẻ thông qua kiểu gen; cho phép kiểm tra tính trạng không phụ thuộc vào giới tính hay tuổi tác vật nuôi; tăng độ chính xác khi chọn lọc trên những tính trạng khó; giảm quần thể kiểm định, hậu bị do chọn lọc ngay chính kiểu gen.

Trong chọn giống vật nuôi với sự hỗ trợ của chỉ thị di truyền, chỉ một số lượng nhỏ các chỉ thị di truyền quan trọng được sử dụng. Nhưng với chọn giống vật nuôi theo bộ gen, ảnh hưởng của tất cả các đa hình nucleotide đơn (Single Nucleotide Polymorphism, SNP) được ước tính đồng thời cho dù có đến hàng chục nghìn gen ảnh hưởng đến một tính trạng phân bố ở khắp mọi nhiễm sắc thể trong bộ gen. Do đó, với giả định rằng tất cả các đa hình nucleotide đơn chỉ tác động ở mức xấp xỉ có ý nghĩa, chúng ta nên chuyển hướng từ việc kiểm tra chỉ thị di truyền này có ý nghĩa hay không sang ước tính ảnh hưởng của tất cả các chỉ thị di truyền (Meuwissen và cs., 2016).

Xuất phát từ vấn đề trên chúng tôi tiến hành tìm hiểu về “Tình hình nghiên cứu ứng dụng các chỉ thị phân tử trong đánh giá các mô hình lai tạo giống lợn”

2. Tổng quan tình hình nghiên cứu

Chương trình chọn lọc cổ điển thường chỉ dựa vào các quan sát kiểu hình, tuy nhiên biện pháp này tỏ ra không hiệu quả trong một số trường hợp gen biểu hiện muộn hoặc chỉ biểu hiện trong một giới tính (gen liên kết giới tính). Trong trường hợp này chọn lọc kiểu gen hiệu quả hơn, có thể sử dụng sớm ở vật nuôi và cho kết quả sớm hơn khi môi trường thay đổi.

Những tiến bộ của di truyền ứng dụng được dùng để chọn lọc các tính trạng số lượng ở vật nuôi dựa trên kiểu hình hay ước lượng các giá trị giống (Estimated Breeding Value – EBV) được thu nhận từ kiểu hình, mà trước đó không biết được những gen hay kiểu gen nào ảnh hưởng lên tính trạng. Việc ứng dụng Công nghệ Sinh học trong lĩnh vực di truyền phân tử cho phép nghiên cứu cá thể ở mức độ DNA, chọn lọc trực tiếp các gen ảnh hưởng đến tính trạng quan tâm, hoặc số lượng các locus gen

(Quantitative Trait Locus – QTL) quy định tính trạng hoặc chọn lọc các marker di truyền liên kết với QTL. Việc tìm ra các gen/QTL có nhiều lợi ích trong chương trình chọn lọc giống vật nuôi, cụ thể như: Làm tăng tính chính xác của chọn lọc thông qua các thông tin liên quan trực tiếp tới kiểu gen; thiết lập bản đồ gen và sự đa hình di truyền các tính trạng; thu hẹp khoảng cách giữa thể hệ bằng cách chọn lọc các tính trạng khi các vật nuôi còn trẻ bởi gen/QTL cho phép kiểm tra tính trạng không phụ thuộc vào giới tính hay tuổi tác vật nuôi; tăng độ chính xác khi chọn lọc trên những tính trạng khó như: Sinh sản, chất lượng thịt, sức đề kháng bệnh,...

Vào đầu những năm 90 của thế kỷ trước, các nước khối EU đã bắt đầu tiến hành chương trình nghiên cứu genome của heo (PigMap), sau đó là các chương trình nghiên cứu bộ gen heo của Mỹ, Úc, Trung Quốc,... Mục đích của các chương trình này là nhằm tìm ra các chỉ thị di truyền phân tử phục vụ cho các chương trình chọn tạo giống được nhanh và chính xác hơn. Ngày nay việc đánh giá di truyền kết hợp kiểu hình và các dữ liệu kiểu gen trong các phương pháp thống kê được dùng để ước tính giá trị giống vật nuôi. Hiện nay phương pháp chọn lọc có hỗ trợ của marker (MAS – Marker Assisted Selection) và phương pháp chọn lọc có sự hỗ trợ của gen (GAS – Gene/Genotypic Assisted Selection) được sử dụng trong việc chọn giống lợn. Các biện pháp Sinh học phân tử được áp dụng trong việc xác định QTL hay kiểu gen là: RFLD, AFLP, RAPD,... Tuy nhiên, phần lớn các tính trạng quan tâm đều là tính trạng số lượng, nghĩa là bị ảnh hưởng bởi nhiều QTL hay nhiều gen khác nhau nằm rải rác trên các nhiễm sắc thể của toàn bộ bộ gen. Vì vậy, nếu chỉ tập trung vào một hay vài gen liên quan đến một tính trạng quan tâm (như MAS hay GAS), công tác đánh giá ảnh hưởng của kiểu gen lên tính trạng sẽ chưa chính xác hoàn toàn, giá trị giống ước lượng sẽ chưa đạt giá trị cao. Do đó, các nhà khoa học đã phát triển một hệ thống kiểm tra bộ gen của một cá thể bằng cách xác định nhanh và cùng một lúc tất cả các điểm thông tin di truyền có liên quan đến tính trạng quan tâm, mỗi điểm thông tin di truyền này được gọi là SNPs (single nucleotide polymorphism).

2.1. Chỉ thị gen GH (Growth hormone) liên quan đến khả năng sinh trưởng ở lợn

Sinh trưởng là quá trình tăng lên về khối lượng, kích thước, thể tích của cơ thể theo từng giai đoạn khác nhau, ở mỗi giai đoạn khác nhau con vật có thể sinh trưởng nhanh hay chậm khác nhau phù hợp với quy luật phát triển ở mỗi giống. Mức độ tăng trưởng của giống được thể hiện ở sinh trưởng tích lũy và sinh trưởng tuyệt đối. Các yếu tố ảnh hưởng lên quá trình sinh trưởng ở vật nuôi bao gồm yếu tố di truyền, chế độ nuôi dưỡng và tác động của môi trường,... Các gen ảnh hưởng đến sự sinh trưởng của vật nuôi đã được xác định như: GHRH (growth hormone releasing hormone), IGF1 (insulin – like growth factor 1), PIT1 (pituitary – specific transcription factor 1), GHRHR (growth hormone releasing hormone receptor), GHR (growth hormone receptor), GH (growth hormone) (Nguyễn Thị Diệu Thuý và cs., 2004).

Hormon tăng trưởng (GH), một loại hormone polypeptide chuỗi đơn do tuyến yên tiết ra từ động vật, đóng vai trò không thể thiếu trong quá trình tăng trưởng và chuyển

hóa của cơ thể bằng cách điều chỉnh quá trình chuyển hóa carbohydrate, lipid và protein (Yakar và cs., 2016). Là hormone chính của trục tăng trưởng, GH có vai trò quan trọng trong việc điều chỉnh sự tăng trưởng và phát triển của động vật (Zeng, 2014).

Ở lợn, gen GH được định vị trong nhiễm sắc thể số 12, với tổng số chiều dài phiên mã là 1,7kb, chứa khoảng 2231bp (Vize và cs., 1987). Đa hình phân tử trong gen GH ảnh hưởng đến các đặc điểm liên quan đến chất lượng thịt (Schellander và cs., 1994). Đa hình của gen GH có liên quan đến đặc điểm thành phần và thân thịt ở các giống lợn khác nhau (Franco và cs., 2005). Kiểu gen GH có liên quan đến một số tính trạng kinh tế như độ dày mỡ lưng, tỷ lệ nạc. Năm 2000, Cheng và cộng sự xác nhận khả năng sinh trưởng của lợn có tương quan với kiểu gen GH (Cheng và cs., 2000). Wang và cộng sự (2003) cho thấy mối liên quan của đa hình gen GH/ApaI với hàm lượng thịt thân thịt ở lợn Yorkshire. Nguyễn Thị Diệu Thuý và cộng sự (2004) khẳng định khả năng sinh trưởng ở giống lợn Móng Cái có tương quan với kiểu gen GH. Pierzchała và cộng sự (2004) nghiên cứu hai vị trí đa hình nucleotide đơn trong gen GH, họ đã tìm thấy kiểu gen GH/MspI và GH/HaeII liên quan đáng kể đến trọng lượng của lợn, sự khác biệt đáng kể giữa các kiểu gen GH/MspIn đã được tìm thấy có nghĩa là độ dày mỡ lưng và mỡ giắt. Franco và cộng sự (2005) chỉ ra ý nghĩa sự liên kết của các biến thể gen GH khác nhau với thân thịt ở các giống lợn khác nhau. GH đóng một vai trò quan trọng trong việc điều chỉnh sự phát triển của mô và trao đổi chất ở động vật. Gen GH ảnh hưởng đến các đặc điểm về tăng trưởng, tỷ lệ nạc và sản xuất sữa (Jing, 2006). GH là một trong những gen đầu tiên được sử dụng như một gen ứng cử viên chức năng liên quan đến tăng trưởng và các đặc điểm của thân thịt (Thomas và cs., 2007).

2.2. Chỉ thị gen CAST liên quan đến chất lượng thịt ở lợn

Calpastatin (CAST) lần đầu tiên được xác định vào năm 1978 và được phân bố rộng rãi trong các tế bào cơ (Nishiura và cs., 1978; Waxman và cs., 1978). CAST là một chất ức chế nội sinh kiểm soát các hoạt động của calpains với việc bổ sung Ca²⁺ (Kwak và cs., 1993). Ở lợn, gen CAST định vị trên nhiễm sắc thể số 2, có chiều dài khoảng 160 kb (Ernst và cs., 1998). Calpain và calpastatin hoạt động rất cần thiết cho sự tăng sinh tế bào và sự phát triển của cơ xương (Goll và cs., 2003). Hoạt động của calpastatin không chỉ liên quan đến tốc độ thay đổi cơ bắp của protein, mà còn liên quan với cường độ tăng trưởng cơ bắp (Kocwin – Podsiadla và cs., 2003).

Gen CAST có ảnh hưởng đến chất lượng thịt (Stearns và cs., 2005; Meyers và cs., 2008). Đa hình gen CAST ảnh hưởng đến chất lượng thịt và năng suất quây thịt (Ciobanu và cs., 2004; Meyers – Beever, 2008; Lindholm – Perry và cs., 2009; Škrlep và cs., 2010). Gen CAST ảnh hưởng đến độ dai của thịt (Cafe và cs., 2010; Gandolfi và cs., 2011), gen CAST ảnh hưởng đến độ mềm của thịt (Casas và cs., 2006). Gen CAST/RsaI ảnh hưởng đến tỷ lệ thành phần thân thịt, tỷ lệ thịt nạc và độ béo (Kocwin–Podsiadla và cs., 2004). Gen CAST ảnh hưởng đến tiềm năng glycolytic của cơ bắp, ảnh hưởng đến độ pH, EC (độ dẫn điện), năng suất thịt và hàm lượng protein (Krzecio et al., 2008). Gen CAST ảnh hưởng đến hương vị, độ pH và màu sắc của thịt (Sieczkowska và cs., 2010; Skrlep và cs., 2010); ảnh hưởng đến độ rỉ dịch và mất nước sau chế biến

(Gandolfi và cs., 2011; Ciobanu và cs., 2004). Gen CAST ảnh hưởng đến tỷ lệ nạc ở thịt lợn, gen CAST ảnh hưởng đến mức tăng trung bình hàng ngày ở lợn (Urbanski và cs., 2015). CAST là một trong những gen ảnh hưởng đến các tế bào cơ và chất ức chế đặc hiệu của enzyme calpain (Choi và cs., 2016). Gen CAST có liên quan đến sự độ mềm của thịt, pH, màu sắc và đặc điểm mất nước sau chế biến và bảo quản ở thịt lợn. (Davoli và cs., 2017; Zhang và cs., 2018). Gen CAST ảnh hưởng đến độ béo và hàm lượng thịt nạc ở lợn. (Karel Vehovsky và cs., 2019).

2.3. Gen chỉ thị FUT1 liên quan đến khả năng miễn dịch ở lợn

Ở lợn, gen Alpha-1-fucosyltransferase (FUT1) định vị trên nhiễm sắc thể 6q11, với tổng chiều dài phiên mã 3315bp. Gen FUT1 là một gen ứng cử viên có thể kiểm soát sự bám dính vào thụ thể ETEC F18 (Vogeli và cs., 1997). Sự biến đổi của gen FUT1 trên locus M307 có mối tương quan với khả năng kháng ETEC F18, và đã đạt được thành công đề kháng với ETEC F18 (Meijerink và cs., 1997). Do đó, thông qua lựa chọn hỗ trợ đánh dấu (MAS), gen FUT1 đã được coi là gen ứng cử viên chống ETEC F18 để thực hiện nhân giống kháng bệnh (Meijerink và cs., 1997; Bao và cs., 2011). FUT1 có vai trò trong việc điều chỉnh sức đề kháng của lợn đối với ETEC F18 (Chaohui Dai và cs., 2017). Gen FUT1 có thể điều chỉnh hệ thống chuyển hóa huyết tương và một số chất chuyển hóa huyết tương cụ thể liên quan đến chuyển hóa vi khuẩn đường ruột (axit hippuric, oxindole, betaine) (Poulsen và cs., 2018).

3. Kết luận

Việc xác định các vị trí nucleotide (kiểu gen – genotype) làm cơ sở khoa học để tìm sự liên quan giữa kiểu gen với tính trạng quan tâm. Từ đó giúp quyết định kiểu gen nào có lợi cho công tác chọn giống lợn. Từ kiểu gen có lợi cho công tác chọn giống có thể tiến hành quyết định chọn giống sớm hơn, giúp: giảm quần thể đưa vào đánh giá, chọn lọc; giảm chi phí chọn giống; tăng độ chính xác của công tác chọn giống; tăng cường hiệu quả chọn giống. Do đó, việc ứng dụng các chỉ thị phân tử trong đánh giá các mô hình lai tạo giống lợn là hiệu quả và cần thiết.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1] Bao W. B., Ye L. Pan Z. Y., Zhu J., Zhu G. Q., Huang X. G., Wu S. L. (2011). Beneficial genotype of swine FUT1 gene governing resistance to E. coli F18 is associated with important economic traits. *J. Genet*, 90, 315-318.
- [2] Cafe, L. M., B. L. McIntyre, D. L. Robinson, G. H. Geesink, W. Barendse, D. W. Pethick, J. M. Thompson and P. L. Greenwood (2010). Production and processing studies on calpain-system gene markers for tenderness in brahman cattle: Growth, efficiency, temperament, and carcass characteristics. *J. Anim. Sci.* 88, 3047-3058.
- [3] Casas, E., S. N. White, T. L. Wheeler, S. D. Shackelford, M. Koohmaraie, D. G. Riley, C. C. Chase Jr, D. D. Johnson and T. P. L. Smith (2006). Effects of calpastatin and μ -calpain markers in beef cattle on tenderness traits. *J. Anim. Sci.* 84, 520-525.

- [4] Ciobanu, D. C., J. W. M. Bastiaansen, S. M. Lonergan, H. Thomsen, J. C. M. Dekkers, G. S. Plastow and M. F. Rothschild (2004). New alleles in calpastatin gene are associated with meat quality traits in pigs. *J. Anim. Sci*, 82, 2829-2839.
- [5] Chaohui Dai, Li Sun, Riwei Xia, Shouyong Sun, Guoqiang hu, Shenglong Wu, Wenbin Bao (2017). Correlation between the methylation of the FUT1 promoter region and FUT1 expression in the duodenum of piglets from newborn to weaning. *Biotech*, 7(4), 247.
- [6] Cheng WT, Lee CH, Hung CM, Chang TJ, Chen CM (2000). Growth hormone gene polymorphisms and growth performance traits in Duroc, Landrace and Tao-Yuan pigs. *Theriogenology*, 54(8), 1225-1237.
- [7] Choi J.S., S.K., Jin, Y.H., Jeong, Y.C., Jung, J.H., Jung, K.S., Shim, Y.I., Choi (2016). Relationships between Single Nucleotide Polymorphism Markers and Meat Quality Traits of Duroc Breeding Stocks in Korea. *Asian Australas. J. Anim. Sci*, 29(9), 1229-1238.
- [8] Ernst, C. W., Robic, A., Yerle, M., Wang, L., & Rothschild, M. F. (1998). Mapping of calpastatin and three microsatellites to porcine chromosome 2q2.1–q2.4. *Animal Genetics*, 29, 212-215.
- [9] Franco Mauricio M., Antunes Robson C., Silva Heyder D., Goulart Luiz R. (2005). Association of PIT1, GH and GHRH polymorphisms with performance and carcass traits in Landrace pigs. *Journal of Applied Genetics*, Vol. 46 (2), 195-200.
- [10] Gandolfi, G., L. Pomponio, P. Ertbjerg, A. H. Karlsson, L. Nanni Costa, R. Lametsch, V. Russo and R. Davoli (2011). Investigation on CAST, CAPN1 and CAPN3 porcine gene polymorphisms and expression in relation to post-mortem calpain activity in muscle and meat quality. *Meat Sci*, 88, 694-700.
- [11] Jing Li, Xue – Qin Ran, Jia – Fu (2006). Identification and function of the growth hormone gene in Rongjiang pig of China. *Acta Physiologica Sinica*, Vol. 58 (3), 217-224.
- [12] Karel Vehovsky, Katerina Zadinova, Roman Stupka, Jaroslav Citek, Monika Okrouhla Nicole Lebedova, Michal ŠPRYSL (2019). Effect of the SER638ARG variation in the CAST gene and SNP G.1843C→T in the RYR1 gene on carcass traits in Crosbrees. *Genetica*, Vol. 51, No1, 61-68.
- [13] Meijerink E. Fries R. Vogeli P. Masabanda J. Wigger G. S. Tricker C., và cộng sự (1997). Two $\alpha(1,2)$ fucosyltransferase genes on porcine Chromosome 6q11 are closely linked to the blood group inhibitor (S) and Escherichia coli F18 receptor (ECF18R) loci. *Mamm. Genome*, 8, 736-741.
- [14] Meuwissen, T., Hayes, B., and Goddard, M (2016). Genomic selection: A paradigm shift in animal breeding. *Anim*, 6, 6-14.
- [15] Meyers, S. N., & Beaver, J. E (2008). Investigating the genetic basis of pork tenderness: genomic analysis of porcine CAST. *Animal Genetics*, 39(5), 531-543.
- [16] Nguyễn Thị Diệu Thuý, Nguyễn Thu Thuý, Nguyễn Văn Cường (2004). Đa hình di truyền gen hormone sinh trưởng ở giống lợn Móng Cái. *Tạp chí Công nghệ Sinh học*, 2(1), 19-24.
- [17] Poulsen AR, Luise D, Curtasu MV, Sugiharto S, Canibe N, Trevisi P, và cộng sự (2018). Effects of alpha-(1,2)-fucosyltransferase genotype variants on plasma metabolome, immune responses and gastrointestinal bacterial enumeration of pigs pre- and post-weaning. *PLoS One*, 13(8), e0202970.

- [18] Schellander, K., Peli, J., Kneissl, F., Schmoll, F. and Mayr, B (1994). Variation of the growth hormone gene in RYR 1 genotyped Austrian pig breeds. *J. Anim Breed Genet*, 111, 162-166.
- [19] Vize PD, Wells JRE (1987). Isolation and characterization of the porcine growth hormone gene. *Gene* 55, 339-344.
- [20] Vogeli P., Meijerink E., Fries R., Stricker C., Bertschinger H.U (1997). A molecular test for the detection of E. coli F18 receptors: a breakthrough in the struggle against oedema and post-weaning diarrhoea in swine. *Schweiz Arch Tierheilk*, 139, 479-484.
- [21] Verner J, Humpolíček P, Knoll A. (2007). Impact of MYOD family genes on pork traits in Large White and Landrace pigs. *J Anim Breed Genet*, 124, 81-85.
- [22] Zeng C, Liu XL, Wang WM, et al. 2014. Characterization of GHRs, IGFs and MSTNs, and analysis of their expression relationships in blunt snout bream, *Megalobrama amblycephala*. *Gene*, 35, 239-49.
- [23] Zhang, J., J., Chai L., Zonggang, H., He, L., Chen, X., Liu Q., Zhou (2018). Meat and nutritional quality comparison of purebred and crossbred pigs. *J Anim Sci*, 89, 202-210.