

# 異地保種小型豬族群基因多樣性分析

廖仁寶 陳若菁 陳佳萱 吳昇陽 許晉賓 陳立人 吳明哲  
行政院農業委員會畜產試驗所

## Genetic diversity of miniature pig population under ex-situ conservation

R. B. Liaw, J. C. Chen, C. H. Chen, S. Y. Wu, C. B. Hsu, L. R. Chen and M. C. Wu

Livestock Research Institute, Council of Agriculture, Executive Yuan

The study was to establish the genetic background data of the ex-situ miniature pig population. The PCR products of the partial mtDNA D-loop from 19 pigs were sequenced to obtain a 616-bp fragment. After the DNA sequences were aligned, all the sequences were found to be identical. The closely related sequences found in the NCBI GenBank were those Lanyu pigs previously registered before by BLASTN analysis. The genetic parameters of average number of alleles, observed heterozygosity, expected heterozygosity and polymorphism information content of 19 pigs were analyzed by 12 microsatellite markers. The values of the genetic parameters were 4.5, 0.52, 0.57, and 0.51, respectively. The value of polymorphism information content showed that the genetic diversity of the population is high ( $> 0.5$ ). However, it still needs to adopt the planned breeding system in order to maintain the genetic diversity of ex-situ groups. In addition, it was found that marker SW2008 had only one allele and could be used as a marker for the descent certification in the future.

Key Words: Ex-situ conservation, Miniature pig, Genetic diversity

### 緒言

蘭嶼豬為臺灣特有的小型豬種，經過多年的選育與種原特性固定，目前經過命名登記的有蘭嶼豬保種品系、蘭嶼豬GPI-PGD純合品系、賓朗豬、花斑豬、迷彩豬。基於種原風險分散管理，重要的種原需要有備份機制，因此，除生殖細胞(精子、卵母細胞、胚)、體細胞及DNA需要冷凍保存外，活體族群在考慮有效族群大小重要因素下，必須進行異地保種措施，避免種原因疫病襲擊後採取撲殺作為後而造成重要種原的滅絕。目前小型豬為我國重要的生醫用途試驗動物，可輔助醫藥研究與生技產業發展，蘭嶼豬亦為達悟族重要的家畜動物，並與其傳統文化息息相關。此外，國外的研究機構亦對蘭嶼豬存有極大興趣，亟欲自臺灣引種，以進行小型豬之試驗研究。畜試所臺東場為主要研究、保存及推廣蘭嶼豬的單位，近來已將小族群異地保種於畜試所育種組之育種場，並建立基礎族群之遺傳背景資料與冷凍保存其遺傳物質。

### 材料與方法

(一)樣品採集與DNA萃取：以含抗凝劑採血管採集19頭蘭嶼豬血液樣品約5 mL，利用市售DNA萃取套組並參照與修改所提供的方法進行血樣DNA之萃取，並冷凍保存備用。

(二)mtDNA D環區定序與多重比對分析：應用豬mtDNA D環區專一之引子對，進行19個豬DNA樣品之PCR增幅放大，純化其產物後，利用ABI3730儀器進行序列解析，將所得之各個序列以ClustalX version 2.0 (Larkin et al., 2007)進行多重比對分析。

(三)微衛星遺傳標記分析：挑選應用於豬基因多樣性分析之12組微衛星型遺傳標記(表1)，用以分析19個DNA樣品。依據各組標記建議之PCR反應條件，進行multiplex PCR分析。取1  $\mu$ L之PCR產物與0.2  $\mu$ L之標準品並加入9  $\mu$ L之Hi-Di甲醯胺，混合均勻後，置於90°C下變性5分鐘，再將樣品以自動定序儀ABI3730進行毛細管電泳分離，最後以分析軟體GeneMapper v4.0進行分析，以得到各個樣品之交替基因。將各個樣品之交替基因列表呈excel檔格式，再利用分析程式Microsatellite Toolkit (Park, 2001)進行各個參數之運算分析，包括觀測異質度(observed heterozygosity,  $H_o$ )、期望異質度(expected heterozygosity,  $H_e$ )及多態性訊息量(polymorphism information content, PIC)。

### 結果與討論

由部分D環區片段之PCR產物進行兩端定序，利用軟體將兩條序列接合成一條，除去兩端品質較差的序列後，可得長度為616 bp的DNA片段。將19頭豬的DNA序列進行比對後，發現所有序列皆相同，再將此序列以比對工具BLASTn與NCBI GenBank進行比對，結果最為相似的序列(GenBank: EF375877, DQ518915) (Wu et al., 2007; Chen et al., 2011)為先前上傳登錄至GenBank的蘭嶼豬粒線體DNA序列。

以12種微衛星遺傳標記分析19頭蘭嶼豬DNA，基因多樣性參數如表1所示。平均交替基因數、觀測異質度、期望異質度及PIC值分別為4.5、0.52、0.57及0.51，由PIC值可得知族群的基因多樣性程度屬高度( $>0.5$ )，但仍需採用計畫性配種制度方能維持族群之基因多樣性。在12種標記的分析中，發現標記SW2008僅有一種交替基因，未來可能當作此族群後裔的驗證標記之一。

表1. 異地保種小型豬基礎族群基因多樣性分析

Locus	Allele size (bp)	No. of alleles	$H_o$	$H_e$	PIC
S0005	194-238	9	0.8947	0.8378	0.7922
S0026	92-106	4	0.5263	0.5334	0.4770
S0097	204-212	3	0.5789	0.5050	0.4255
S0101	200-208	5	0.5789	0.6757	0.6192
S0155	158-164	4	0.5000	0.5921	0.4843
S0226	185-211	3	0.7368	0.5818	0.4725
S0228	216-240	9	0.9474	0.8748	0.8342
SW122	111-127	3	0.4737	0.6529	0.5636
SW1828	78-94	5	0.2105	0.6472	0.5888
SW2008	95	1	0.0000	0.0000	0.0000
SW632	152-158	3	0.3684	0.3172	0.2747
SW72	97-115	5	0.4211	0.6245	0.5680
Mean		4.5	0.5197	0.5702	0.5083

### 結論

異地保種的小型豬族群除需建置性狀資料庫外，亦需留存遺傳物質，本研究已分析此族群的mtDNA D環區序列與微衛星標記資料，除可獲得基礎族群基因多樣性參數，並可建立分子資料庫，以監控族群遺傳背景。