

# 微衛星標記應用於不同褐色菜鴨品系 族群遺傳結構之探討<sup>(1)</sup>

張怡穎<sup>(2)(6)(8)</sup> 張惠斌<sup>(2)</sup> 魏良原<sup>(2)</sup> 陳怡蓁<sup>(3)</sup> 丁詩同<sup>(4)</sup> 王佩華<sup>(4)</sup>  
林恩仲<sup>(4)</sup> 黃振芳<sup>(5)</sup> 陳志峰<sup>(6)(7)</sup> 劉秀洲<sup>(2)</sup>

**摘要：**畜產試驗所育有多個褐色菜鴨品系，分別用於保種或選拔，其中選拔品系大多已歷經10代以上長期選拔。為探討目前實施保種或配種策略對於這些族群遺傳歧異度之影響，本試驗利用11組菜鴨微衛星標記，分析4個褐色菜鴨品系之遺傳多態性，並進行同族群跨世代與不同族群間共9個族群之遺傳結構比較。結果顯示褐色菜鴨保種族群之遺傳變異在兩世代幾乎沒有變化，而畜試一號殘差飼料採食量對照組則可能因遺傳漂變造成世代間多態性稍降。不同族群比較部分，結果顯示殘差飼料採食量選拔品系兩世代之有效交替基因數皆低於對照之畜試一號，畜試二號之選拔組及對照組間亦有類似情形。族群結構分析部分，發現保種褐色菜鴨、畜試一號在世代間之分化指數皆小於0.01，顯示目前保種及配種策略可成功維持保種褐色菜鴨及畜試一號之族群遺傳組成。後續將繼續收集更多世代間資料，增加微衛星標記數量持續監控，以確保本土鴨種之遺傳多樣性，並促進種原永續經營利用。

（關鍵語：微衛星標記、遺傳結構、遺傳多態性、褐色菜鴨）

<sup>(1)</sup> 行政院農業委員會畜產試驗所研究報告第2753號。

<sup>(2)</sup> 行政院農業委員會畜產試驗所宜蘭分所，26846 宜蘭縣五結鄉季水路28-1號。

<sup>(3)</sup> 東海大學畜產與生物科學系，40704 臺中市西屯區臺灣大道四段1727號。

<sup>(4)</sup> 國立臺灣大學動物科學技術學系，10672 臺北市基隆路三段115巷50號。

<sup>(5)</sup> 行政院農業委員會畜產試驗所，71246 臺南市新化區牧場112號。

<sup>(6)</sup> 國立中興大學動物科學系，40227 臺中市南區興大路145號。

<sup>(7)</sup> 國立中興大學鳥禽類演化與基因體研究中心，40227 臺中市南區興大路145號。

<sup>(8)</sup> 通訊作者，E-mail : yychang@mail.tlii.gov.tw。

## 緒 言

褐色菜鴨 (*Anas platyrhynchos*) 為國內蛋鴨唯一品種，具高產蛋、體型小，蛋殼堅固等特性，為加工蛋之主要來源。然而業界長期著重於產蛋性能之選拔，恐使其他如抗病性、抗緊迫、環境適應力等優良性狀，有逐年隨著特定性狀選拔而有流失之虞。為了保存本土性鴨隻之優良性狀，畜產試驗所宜蘭分所於 1987 年著手進行保種計畫，建立並維持褐色菜鴨、白色菜鴨及黑色番鴨共三個保種族群，其中褐色菜鴨之保種族群為 1987 年自屏東、宜蘭地區收購之褐色菜鴨（康等，1993）。此計畫工作項目包括保種族群各世代性能監測，生長性狀如 20 週齡體重、36 週齡體重及主翼羽長度，蛋性狀如蛋重及蛋殼強度，繁殖性狀如受精率及孵化率等（康等，1997）；另亦進行活體保存，每 1 至 2 年進行各保種族群之世代更新，並於第 8 代起實施輪迴家族配種制度，將族群個體逢機分至 15 個家族，使母鴨與其次一家族號之公鴨自然配種，所生雛鴨則屬母鴨之家族號，待下一世代更新，則使母鴨與其再次一家族號之公鴨配種，周而復始。此配種方式理論上可將初始族群之遺傳物質均勻傳遞至每一家族，期保留原始基因庫、儘可能維持最大遺傳歧異度（Alderson, 1990）。

除保種褐色菜鴨，畜產試驗所另有高產蛋數的褐色菜鴨畜試一號（行政院農業委員會畜產試驗所，2005）、自畜試一號第 5 代分別挑選育成長受精持續性的褐色菜鴨畜試二號（行政院農業委員會畜產試驗所，2004）、自畜試一號第 8 代生產均一青殼蛋的褐色菜鴨畜試三號（行政院農業委員會畜產試驗所，2008），從畜試一號第 16 代又再挑選種鴨，建立低殘差飼料採食量之褐色菜鴨高飼效品系（行政院農業委員會畜產試驗所，2018），並以畜試一號為選拔之對照組。前述選育族群除高飼效品系外皆歷經 10 代以上長期選拔，為防止劇烈近親衰退，避採全、半同胞配種方式（圖 1）。

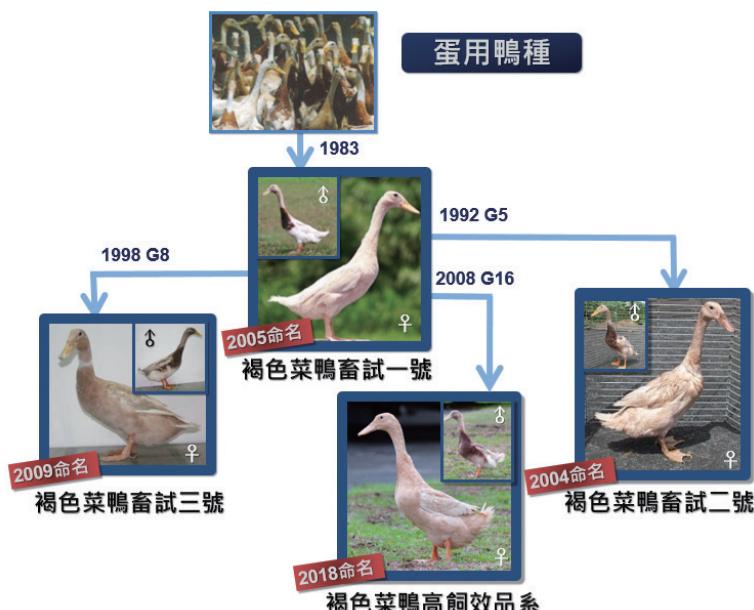


圖 1. 畜產試驗所褐色菜鴨品系關聯圖。

Fig. 1. The relationship of Brown Tsaiya duck lines in Livestock Research Institute.

根據聯合國糧食及農業組織建議（FAO，2012），禽類種原保存除記錄基礎資訊、外觀質量性狀，另應以分子標記探討遺傳結構，觀察族群分化，並監控其是否受近親衰退影響。各種分子標記中，微衛星標記具有廣布於真核生物基因組、較不受選拔影響、交替基因數多、多態性訊息含量豐富等特性（Liu and Cordes, 2004; Tamaki, 2007; Gemayel *et al.*, 2010），至今仍廣泛應用於保育物種如藍鴨（Grosser *et al.*, 2017）及加拉巴哥象龜（Miller *et al.*, 2018）的多態性評估；或用於各國本土家畜禽如托斯卡尼牛（Bozzi *et al.*, 2011）、韓國土雞（Suh *et al.*, 2014; Seo *et al.*, 2017）、中國（Su and Chen, 2009）、韓國（Sultana *et al.*, 2017）及印尼本土鴨種（Maharani *et al.*, 2017）之遺傳結構分析，協助制定種原保存策略。故本試驗擬應用自褐色菜鴨基因組開發之11組高多態性微衛星標記（Hsiao *et al.*, 2008）進行保種褐色菜鴨第15、17代、褐色菜鴨畜試一號第18、20代之對照與殘差飼料採食量選拔族群、畜試二號第18代之對照與選拔族群、畜試三號之遺傳變異分析，建立各族群遺傳多態性資訊，供後續長期監控，並比較同族群跨世代與不同族群間之遺傳結構，以探討目前實施之保種策略或配種策略是否確能維持族群之遺傳歧異度，進而確保本土鴨種遺傳之多樣性，期使各珍貴品種（系）得以永續經營。

## 材料與方法

### 一、試驗動物

供試動物為畜產試驗所宜蘭分所之保種褐色菜鴨第15代（BTg15）與第17代（BTg17）、褐色菜鴨畜試一號第18代殘差飼料採食量對照與選拔族群（LRI1g18c、LRI1g18s）、褐色菜鴨畜試一號第20代殘差飼料採食量對照與選拔族群（LRI1g20c、LRI1g20s）、褐色菜鴨畜試二號第18代長受精持續性對照與選拔族群（LRI2g18c、LRI2g18s）（Hung *et al.*, 2013）及褐色菜鴨畜試三號第13代青殼蛋選拔族群（LRI3g13）共9個族群。保種族群共含15個家族，每家族逢機採樣公、母各1隻，兩世代各30隻。褐色菜鴨畜試一號自2009年第16代開始殘差飼料採食量選拔，區分為選拔及對照品系（劉等，2012），分別於2012年及2014年進行第18代及第20代採樣，第18代避開父母相同個體，採樣公、母各20隻，共40隻；第20代於殘差飼料採食量對照與選拔家族共24家族，依每隻親代種公鴨依每隻親代種公鴨逢機採樣其後代公、母各1隻，共50隻（劉，2012；張，2014）。褐色菜鴨畜試二號長受精持續性對照與選拔族群於2014年採樣，自每隻種公鴨後代逢機採樣公、母各1隻，共採樣75隻。褐色菜鴨畜試三號第13代青殼蛋選拔族群（LRI3g13），於2014年採樣，自12個家族中逢機採樣公、母各2隻，共48隻（表1）。

本研究涉及之動物試驗於畜產試驗所宜蘭分所執行，動物之使用、飼養及實驗內容係依據畜產試驗所宜蘭分所實驗動物管理委員會核准（畜試動字104-002號）之試驗準則進行。

### 二、微衛星標記分析

自上述試驗動物之翅靜脈採集新鮮血液，利用EasyPure Genomic DNA mini kit（Bioman, Taiwan）依說明書指示微調（鄭，2018）進行基因組DNA之萃取。所得基因組DNA置入-20°C保存備用。

本試驗利用之褐色菜鴨微衛星標記如表2（Hsiao *et al.*, 2008），包括APT001、

APT004、APT008、APT010、APT012、APT017、APT020、APT025、APT026、APT032 及 APT033，共 11 組。針對上述萃取所得之基因組 DNA 進行 PCR 反應，其反應總體積為 15  $\mu\text{L}$ ，其中包含 50 ng 模板基因組 DNA、正反引子各 0.2  $\mu\text{M}$ 、1 X PCR buffer、1.5 mM MgCl<sub>2</sub>、0.2 mM dNTP 及 0.375 U *Taq* DNA polymerase (TAKARA Co., Japan)。反應條件為 95°C 變性 10 分鐘，接著進行 30 次以下循環，包括 94°C 變性 20 秒、60°C 鍊合 30 秒及 72°C 延伸 30 秒，最後再以 72°C 延伸 5 分鐘。PCR 反應後，以 TBE 緩衝液製備 1% 琼脂糖膠體並進行電泳確認產物。產物與基因標準品 (GeneScan 500 Liz size standard) 製成樣品盤送國家基因體醫學研究心 (National Center for Genome Medicine) 利用 ABI 3730 序列分析儀 (Applied Biosystems, USA) 分析辨別 PCR 產物片段大小，取得分析原始檔後，再以 Peak Scanner v1.0 software (Applied Biosystems, USA) 人工判讀各微衛星標記之基因型。

表 1. 本試驗所使用試驗動物列表

Table 1. The list of experimental animal in this study

Population <sup>1</sup>	Generation	No. of drake	No. of duck
BT	15	15	15
	17	15	15
LRI1c	18	10	13
	20	12	12
LRI1s	18	9	8
	20	13	13
LRI2c	18	19	20
LRI2s	18	19	17
LRI3	13	24	24

BT: germplasm-conserved Brown Tsaiya duck.

LRI1c: the control line of Brown Tsaiya duck LRI 1.

LRI1s: the selected line of Brown Tsaiya duck LRI 1.

LRI2c: the control line of Brown Tsaiya duck LRI 2.

LRI2s: the selected line of Brown Tsaiya duck LRI 2.

LRI3: Brown Tsaiya duck LRI 3.

### 三、遺傳變異與族群遺傳結構之統計分析

統計分析乃利用 Cervus 3.0 軟體 (Kalinowski *et al.*, 2007) 針對前項所得基因型資料計算交替基因數目 (number of alleles, N<sub>a</sub>)、觀測 (observed heterozygosity, H<sub>O</sub>) 與期望異質度 (expected heterozygosity, H<sub>E</sub>) 及多態性訊息含量 (polymorphic information content, PIC)；Wright's F-statistics 之族群近交係數 (within-population inbreeding coefficient, F<sub>IS</sub>) 與族群分化指數 (population genetic differentiation, F<sub>ST</sub>) 係使用 FSTAT 2.9.3 (Goudet, 2002) 依 Weir and Cockerham (1984) 所述計算；另使用 POPGENE 1.32 軟體 (Yeh *et al.*, 1997) 計算有效交替基因數目 (number of effective alleles, N<sub>e</sub>) 及進行哈溫平衡 (Hardy-Weinberg equilibrium) 檢定 (Guo and Thompson, 1992)。

族群分析部分首先利用統計軟體 R 的 adegenet 套件進行族群主成分分析 (principal component analysis) 並繪圖 (Jombart and Ahmed, 2011) , 另以 STRUCTURE 2.3 軟體 (Pritchard *et al.*, 2000) 進行群數分布之模擬分析, 其計算開始模擬 5,000 次後 500,000 次可能的分群數 K (K = 2-10) , 每個 K 值重複模擬 20 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。另利用 PHYLIP 套裝軟體 (Felsenstein, 2002) 計算族群間遺傳距離 (Nei, 1972) , 以鄰近相接法 (Neighbor-joining, NJ) 繪製親緣關係樹 (Saitou and Nei, 1987) , 並以靴拔重抽法 (bootstrap method) 進行 1,000 次重複取樣, 以驗證褐色菜鴨保種與選育族群間之親緣關係。

表 2. 本試驗使用之 11 組褐色菜鴨微衛星標記之引子資訊

Table 2. Primer sequences of the 11 Brown Tsaiya microsatellite markers in this study

Locus <sup>1</sup>	Primer sequences (5' → 3')	Ta (°C) <sup>2</sup>	Duck genome scaffold no. <sup>3</sup>
APT001	F: GTCCC ACTGGTTGCTGTCC	60	1,509
	R: ACTACGCATGGCAGTGAGGTT		
APT004	F: GGGCAGGAAAATCTCCTGAAT	60	192
	R: TCTCAGTGGCTGAGCGGTC		
APT008	F: CAAAGAAATCCTAGAACATCATTCAAAT	60	358
	R: TCTTCTGGCTTTCACCTAGTTAGTA		
APT010	F: CACTCAGGCTTTAGGTCCATTAAATA	60	1,199
	R: CATCTGAGAATGCACTTACTGTCAA		
APT012	F: TTGAGCCTCAGGTTCTAAACTCCTA	60	5
	R: TCATAAACATTCAGACCAGTTTCAGA		
APT017	F: TGGATGGACAGACGGGTGA	60	481
	R: TGGAAGTTTGATTCTAGTGCTTACA		
APT020	F: TTCCAAGTTGTCATGCCAATAGA	60	197
	R: CTGACCATGTTAGGGCGTTTAG		
APT025	F: TCCTAACGAAACGTTGCTTCATAGACC	60	121
	R: GAGTTAACGTTCATCACTCTGTGACTG		
APT026	F: CCCTGAAAGGCTGTTTATATATCCA	60	477
	R: ATGTAATAAAGTAGCCTTGCACGGT		
APT032	F: TCACTTCTGACTCTCCTTGGTT	60	45
	R: TGACTTGAATTCTGTTCAGGATAAATG		
APT033	F: CTTCACCCCTACCTCATAAGGAAC	60	14
	R: ATTCCAAATCTGCAAGGTGAGTATT		

<sup>1</sup> Hsiao *et al.* (2008), developed from Tsaiya duck.<sup>2</sup> Annealing temperature.<sup>3</sup> The orthologous microsatellites in the duck genome scaffold.

## 結果與討論

### 一、微衛星標記多態性

本試驗利用 11 組菜鴨微衛星標記進行保種褐色菜鴨第 15、17 代、褐色菜鴨畜試一號第 18、20 代之殘差飼料採食量對照與選拔族群、畜試二號第 18 代之對照與選拔族群、畜試三號之遺傳分析，11 組菜鴨微衛星標記在四種褐色菜鴨族群中，共觀測到 64 個交替基因，各基因座所含交替基因數為 4 至 10 個，平均每基因座含 5.8 個交替基因，略高於白色菜鴨之 4.6 個（張等，2016）；有效交替基因數介於 2.0 (APT033) 至 6.1 (APT004) 個，平均每基因座具有 3.2 個有效交替基因，高於白色菜鴨之 2.8 個。觀測異質度介於 0.201 (APT033) 到 0.744 (APT004)，平均為 0.508；期望異質度介於 0.495 (APT033) 到 0.838 (APT004)，平均為 0.663。多態性訊息含量介於 0.445 (APT033) 到 0.816 (APT004)，平均為 0.616，與 Su and Chen (2009) 分析中國各鴨種之研究相近。11 組微衛星標記中，除 APT033 僅具中度多態性外 ( $0.25 < \text{PIC} < 0.5$ )，其餘標記皆具高度多態性 ( $\text{PIC} > 0.5$ )，且標記間皆無連鎖不平衡之情事。顯示此 11 組微衛星標記之組合應用於初步了解褐色菜鴨之遺傳結構。

### 二、遺傳變異分析

褐色菜鴨各族群之遺傳變異如表 3 所示。各族群之平均交替基因數介於 3.8 (LRI1g18s、LRI1g20c) 至 4.5 個 (BTg17、LRI2g18c)，而平均有效交替基因數則介於 3.8 (LRI1g18s、LRI1g20c) 至 4.5 個 (BTg17、LRI2g18c)。其觀測異質度介於 0.404 (LRI2g18s) 到 0.617 (LRI1g18c)，而期望異質度介於 0.505 (LRI2g18s) 到 0.640 (LRI1g20c、LRI3g13)。各褐色菜鴨族群中，僅有 LRI2g18s 與 LRI3g13，分別有 1 (APT008) 與 2 (APT001、APT008) 組標記偏離哈溫平衡，其餘族群在 11 組微衛星標記皆符合哈溫平衡。各褐色菜鴨族群之平均近交係數介於 0.057 (LRI1g18c) 至 0.189 (LRI2g18s)，然各標記之近交係數差異甚大，且在各族群皆有少數特定標記近交係數偏高的情形，而非所有標記皆偏高。根據 De Meeûs (2018)，單一族群近交係數偏高，即異質度降低，可能由無效交替基因造成。故參考 Pham *et al.* (2013) 以 FreeNA 軟體 (Chapuis and Estoup, 2007) 檢測 11 組微衛星標記的無效交替基因 (null allele)，發現 APT008 及 APT033 兩組標記估測無效交替基因頻率達 0.2 以上，而扣除兩組標記後的族群平均近交係數下降至 0.007 (L105g18S) 至 0.112 (LRI2g18s)，除 BTg15 及 LRI2g18s 以外，其餘族群的近交係數皆在 0.1 以下，從近交係數接近 0 來看，這些族群皆尚未有嚴重近親配種之虞 (Bozzi *et al.*, 2011)。

進一步比較同一鴨品系跨世代之遺傳變異與交替基因分布情形 (表 4)。保種族群第 15 代與第 17 代 (BTg15、BTg17) 在各項遺傳變異之差距皆甚小，第 17 代僅較第 15 代多 2 個特有交替基因 (private allele) (APT008 之 192 bp、APT032 之 219 bp)，各基因座之基因頻率趨勢亦相當一致。而畜試一號第 18 代與第 20 代之比較分為對照組與選拔組，對照組在兩世代之交替基因數、觀測異質度些微下降，近交係數則略升，而有效交替基因數維持不變。由於第 19 代曾因飼料品質不佳，使該代育成鴨隻僅約為其它世代之一半，配合表 3 來看，推測可能因族群個體數量劇減，使低頻率的交替基因更易因遺傳漂變 (genetic drift) 影響而自族群消失，(如 APT001 之 206 bp、APT004 之 296 bp、APT010 之 202 bp 及 APT012 之 201 bp 等，其基因頻率皆在 0.04 以下)，連帶造成雜合子個體減少。而選拔組第 18 代為高飼效性狀選拔之第 2 代，其有效交替基因數低於對照組第 18 代，可能是頻率較低的交替

基因受性狀選拔影響而被保留下來，因而相較於對照組，在選拔組兩世代比較上，較未看到多態性減低之情事。

另就同一世代之對照組與選拔組間之遺傳變異進行比較。畜試一號第18、20代及畜試二號除交替基因數外，各項目中皆以對照組具較高遺傳變異。尤其在有效交替基因數部分，二個選育品系之對照組數值與保種褐色菜鴨第15、17代接近，皆高於選拔族群。惟畜試三號雖屬選拔族群，11組微衛星標記中有2組偏離哈溫平衡，其平均遺傳變異卻高於保種或對照族群，推測青殼蛋性狀可能為少數基因所控制，又或是造成青殼蛋之相關基因原先便已廣佈於族群中，是以選拔並未大幅縮減該族群基因庫；相對來看同為選拔族群之畜試二號選拔組在各項目幾乎皆具最低遺傳變異，且具有最高平均近交係數，可能亦與其選拔性狀種類有關。又經查審定書（行政院農業委員會畜產試驗所，2004；行政院農業委員會畜產試驗所，2005；行政院農業委員會畜產試驗所，2008），針對三個選育品系第0至8代選育過程來看，其選拔百分率相去不遠，甚至畜試三號之留種比例較另兩品系稍低，然而畜試二號因分為選拔、對照兩組，其族群大小僅約為畜試一號與畜試三號之1/2至1/4，此應為造成其多態性偏低之主要原因之一。

表3. 11組菜鴨微衛星標記於保種褐色菜鴨第15、17代(BTg15、BTg17)、褐色菜鴨畜試一號第18、20代之對照(c)與選拔(s)族群(LRI1g18c、LRI1g18s、LRI1g20c、LRI1g20s)、畜試二號第18代之對照與選拔族群(LRI2g18c、LRI2g18s)、畜試三號第13代(LRI3g13)之平均遺傳變異

Table 3. Genetic variation analysis of the 15<sup>th</sup> and 17<sup>th</sup> generations of germplasm-conserved Brown Tsaiya duck (BTg15, BTg17), the 18<sup>th</sup> and 20<sup>th</sup> generations of selected and control Brown Tsaiya duck LRI 1 (LRI1g18c, LRI1g18s, LRI1g20c, LRI1g20s), the 18<sup>th</sup> generation of selected and control Brown Tsaiya duck LRI 2 (LRI2g18c, LRI2g18s), the 13<sup>th</sup> generation of Brown Tsaiya duck LRI 3 (LRI3g13) with the 11 Brown Tsaiya microsatellite markers

Population	N <sup>1</sup>	N <sub>a</sub> <sup>2</sup>	N <sub>e</sub> <sup>3</sup>	H <sub>O</sub> <sup>4</sup>	H <sub>E</sub> <sup>5</sup>	PIC <sup>6</sup>	dHWE <sup>7</sup>	F <sub>IS</sub> <sup>8</sup>
BTg15	30	4.3	2.8	0.491	0.589	0.531	0	0.176 ± 0.252
BTg17	30	4.5	2.7	0.500	0.588	0.531	0	0.165 ± 0.302
LRI1g18c	23	4.1	2.9	0.617	0.639	0.563	0	0.057 ± 0.361
LRI1g18s	17	3.8	2.5	0.529	0.578	0.499	0	0.090 ± 0.321
LRI1g20c	24	3.8	2.9	0.527	0.640	0.561	0	0.173 ± 0.333
LRI1g20s	26	4.0	2.4	0.517	0.584	0.507	0	0.131 ± 0.252
LRI2g18c	39	4.5	2.6	0.487	0.560	0.508	0	0.129 ± 0.253
LRI2g18s	36	3.9	2.3	0.404	0.505	0.447	1	0.189 ± 0.266
LRI3g13	48	4.4	3.2	0.543	0.640	0.581	2	0.170 ± 0.266

<sup>1</sup> Sample size.

<sup>2</sup> Number of alleles.

<sup>3</sup> Number of effective alleles.

<sup>4</sup> Observed heterozygosity.

<sup>5</sup> Expected heterozygosity.

<sup>6</sup> Polymorphic information content.

<sup>7</sup> Number of markers departed from Hardy-Weinberg equilibrium.

<sup>8</sup> Wright's fixation indice, within population inbreeding estimate and standard deviations.

表 4. 保種褐色菜鴨第 15、17 代 (BTg15、BTg17)、褐色菜鴨畜試一號第 18、20 代之對照 (c) 與選拔 (s) 族群 (LRI1g18c、LRI1g18s、LRI1g20c、LRI1g20s)、畜試二號第 18 代之對照與選拔族群 (LRI2g18c、LRI2g18s)、畜試三號第 13 代 (LRI3g13)

Table 4. Observed alleles of the 15<sup>th</sup> and 17<sup>th</sup> generations of germplasm-conserved Brown Tsaiya duck (BTg15, BTg17), the 18<sup>th</sup> and 20<sup>th</sup> generations of selected and control Brown Tsaiya duck LRI 1 (LRI1g18c, LRI1g18s, LRI1g20c, LRI1g20s), the 18<sup>th</sup> generation of selected and control Brown Tsaiya duck LRI 2 (LRI2g18c, LRI2g18s), the 13<sup>th</sup> generation of Brown Tsaiya duck LRI 3 (LRI3g13)

	APT001	APT004	APT008	APT010	APT012	APT017	APT020	APT025	APT026	APT032	APT033	
BTg15	178 <sup>†</sup> 202	0.23 <sup>2</sup> 0.72	290 292	0.25 0.05	180 184	0.20 0.47	192 202	0.07 0.40	185 189	0.05 0.17	161 173	0.15 0.12
	206	0.05	294	0.15	188	0.32	204	0.30	193	0.53	177	0.07
			298	0.25	200	0.02	208	0.05	197	0.13	181	0.28
			302	0.10			212	0.18	205	0.12	185	0.38
			306	0.07								
			310	0.08								
			314	0.05								
BTg17	178 202	0.22 0.65	290 292	0.23 0.02	180 184	0.20 0.45	192 202	0.05 0.47	185 189	0.07 0.17	161 173	0.05 0.05
	206	0.13	294	0.12	188	0.18	204	0.20	193	0.40	177	0.08
			298	0.32	192	0.10	208	0.08	197	0.22	181	0.48
			302	0.08	200	0.07	212	0.20	205	0.15	185	0.33
			306	0.05								
			310	0.13								
			314	0.05								
LR1g18c	178 202	0.59 0.37	290 292	0.20 0.07	184 188	0.15 0.20	192 202	0.22 0.04	185 189	0.30 0.39	173 177	0.09 0.15
	206	0.04	294	0.07	192	0.41	204	0.33	193	0.20	181	0.30
			296	0.02	196	0.24	212	0.41	201	0.02	185	0.46
			298	0.37					205	0.09	201	0.11
			302	0.24								
			314	0.04								
LR1g18s	178 202	0.53 0.29	290 294	0.41 0.09	184 188	0.41 0.09	192 202	0.15 0.03	185 189	0.03 0.35	173 177	0.03 0.18
	206	0.18	298	0.21	192	0.47	204	0.68	193	0.47	181	0.44
			302	0.18	196	0.03	212	0.15	205	0.03	185	0.35
			306	0.06							197	0.03
			314	0.06							117	0.82
											201	0.18

表4. 保種褐色菜鴨第15、17代(BTg15、BTg17)、褐色菜鴨畜試一號第18、20代之對照(c)與選拔(s)族群(LRI1g18c、LRI1g18s、LRI1g20c、LRI1g20s)、畜試二號第18代之對照與選拔族群(LRI2g18c、LRI2g18s)、畜試三號第13代(LRI3g13)觀測之交替基因一覽表(續)

Table 4. Observed alleles of the 15<sup>th</sup> and 17<sup>th</sup> generations of germplasm-conserved Brown Tsaiya duck (BTg15, BTg17), the 18<sup>th</sup> and 20<sup>th</sup> generations of selected and control Brown Tsaiya duck LRI 1 (LRI1g18c, LRI1g18s, LRI1g20c, LRI1g20s), the 18<sup>th</sup> generation of selected and control Brown Tsaiya duck LRI 2 (LRI2g18c, LRI2g18s), the 13<sup>th</sup> generation of Brown Tsaiya duck LRI 3 (LRI3g13) (continuation)

	APT001	APT004	APT008	APT010	APT012	APT017	APT020	APT025	APT026	APT026	APT032	APT033
LRI1g20s	174 0.02	286 0.02	184 0.72	192 0.19	185 0.06	173 0.02	185 0.04	105 0.13	130 0.17	207 0.60	262 0.42	
	178 0.35	290 0.54	188 0.20	202 0.12	189 0.40	177 0.17	189 0.48	109 0.10	138 0.23	259 0.40	266 0.58	
202	0.50	294 0.02	192 0.04	204 0.60	193 0.48	181 0.25	193 0.33	113 0.06	142 0.42			
206	0.13	298 0.21	196 0.04	212 0.10	205 0.06	185 0.56	197 0.02	117 0.71	146 0.17			
	302 0.08							201 0.13				
	306 0.02											
LRI2g18s	178 0.36	290 0.28	184 0.25	192 0.04	185 0.25	161 0.01	177 0.24	113 0.14	138 0.89	207 0.92	262 0.29	
	202 0.35	292 0.01	188 0.03	204 0.82	189 0.04	173 0.28	185 0.04	117 0.54	142 0.10	219 0.03	266 0.69	
206	0.26	298 0.14	192 0.25	212 0.14	193 0.68	181 0.17	189 0.15	121 0.32	146 0.01	255 0.06	270 0.01	
210	0.03	302 0.08	196 0.47		197 0.01	185 0.54	193 0.56					
	310 0.22				201 0.01		197 0.01					
LRI2g18c	178 0.58	290 0.17	184 0.72	192 0.19	185 0.41	161 0.10	177 0.17	105 0.13	138 0.79	207 0.49	262 0.09	
	202 0.27	292 0.03	188 0.05	204 0.76	189 0.13	173 0.29	185 0.10	113 0.04	142 0.12	219 0.28	266 0.54	
206	0.03	294 0.27	192 0.03	212 0.05	193 0.10	177 0.01	189 0.01	117 0.78	146 0.09	255 0.09	270 0.35	
210	0.13	298 0.03	196 0.21		197 0.22	181 0.29	193 0.69	121 0.05		259 0.14	274 0.03	
	302 0.23				201 0.09	185 0.29	197 0.01					
	310 0.27				205 0.05		205 0.01					
LRI3g13	178 0.21	290 0.11	184 0.29	192 0.03	185 0.22	161 0.13	177 0.09	109 0.23	138 0.43	207 0.42	262 0.18	
	202 0.45	294 0.04	188 0.51	202 0.17	189 0.48	173 0.29	189 0.34	113 0.30	142 0.57	255 0.09	266 0.82	
206	0.34	298 0.22	192 0.04	204 0.66	193 0.16	177 0.11	193 0.20	117 0.41		259 0.36		
	302 0.11	306 0.22	200 0.02	212 0.14	201 0.01	181 0.23	197 0.25	121 0.02		263 0.13		
	310 0.20				205 0.14	185 0.24	201 0.11	125 0.02				
	314 0.09							133 0.02				

<sup>1</sup> Fragment size (bp) of PCR product.

<sup>2</sup> Allele frequencies.

與近年鴨隻微衛星研究相較，雖然單一標記之交替基因數皆較本試驗高出甚多，有些甚至可高達 29 個 (Seo *et al.*, 2016) 及 36 個 (Sultana *et al.*, 2017)，但單一品種平均交替基因數約介於 4 至 8 個，僅略高於本試驗於單一品系之分析結果，而本試驗各褐色菜鴨品系混合分析之平均交替基因數為 5.8 個，則與近年研究相近 (Su and Chen, 2009; Maharani *et al.*, 2017)。各研究中僅 Sultana *et al.* (2017) 計算品種平均有效交替基因數，結果僅 2.8 至 3.7 個，本試驗品系平均有效交替基因數則為 2.3 至 3.2 個，亦與本試驗相去無幾。而觀測異質度及期望異質度 Sultana *et al.* (2017) 為 0.471 至 0.582 及 0.531 至 0.601，亦與本試驗相近。

未來將依本次遺傳分析結果作為此族群之遺傳歧異度基準，供日後持續進行遺傳監測，以利種原永續保存與利用。

### 三、遺傳結構分析

進一步合併保種與選育褐色菜鴨族群之基因型資料，利用統計軟體 R 的 adegenet 套件進行族群主成分分析，至第二主成分之累積比例僅約 0.16，至第三主成分亦僅增至 0.17。取第一與第二主成分繪圖 (圖 2)，結果顯示褐色菜鴨畜試二號之對照與選拔組遠離其他褐色菜鴨族群在右半邊成為兩部分重疊之群集，而左半邊由上至下依序為保種褐色菜鴨、褐色菜鴨畜試一號、畜試三號之群集二號對照分開。保種褐色菜鴨兩世代之分布範圍幾乎一致；畜試一號殘差飼料採食量對照組之分布範圍較選拔組廣，兩組間有部分重疊；保種褐色菜鴨與畜試一號雖各成群集，但位於其中之畜試三號分布範圍甚大，致三品系皆未成為單獨群集。而畜試二號與畜試一號的對照組皆未受針對特定性狀選拔，理論上應具相同遺傳背景，然畜試二號自畜試一號分出後，族群間無交流，故兩者呈現完全分群的情形，此主要應係受遺傳漂變之影響。主成分分析之原理為分解較重要影響分子後，利用複迴歸分析解析反應情形 (呂, 2000)，但本試驗主成分分析累積比例低，可能需增加更多標記資訊才足夠說明褐色菜鴨品系間或世代間的分化情形。

另根據基因頻率計算族群間之遺傳距離 (Nei's distance, Nei, 1972) 並繪製個體親緣關係樹 (圖 3)，與主成分分析相同，畜試二號獨立成為一個分支，此外，畜試一號殘差飼料採食量對照組與保種族群亦各成一獨立分支，而其它分支之拔靴值則未超過 70，表示未形成明確分支。而 STRUCTURE 軟體分析結果經 Evanno 法估算 (Evanno *et al.*, 2005)，最適 K 值為 3，第一群為保種褐色菜鴨、第二群為畜試一號、第三群為畜試二號，畜試三號則混合第一群與第二群之遺傳結構。然繪成長條圖觀測，顯示目前各品系在遺傳結構上無法完全獨立分別，但仍可根據遺傳資訊進行品系區分 (圖 4)。從表 5 各族群於各群組之分布頻率表也可看出，各族群於各世代占其主要群組頻率皆達 0.9 以上，僅褐色菜鴨畜試三號在其主要群組頻率為 0.699。

褐色菜鴨族群分化分析結果如表 6 所示，根據 Wright (1965) 所述，當族群分化指數小於 0.05 表幾乎無分化；介於 0.05 至 0.25 表低至中度分化；而大於 0.25 時表高度分化。除保種褐色菜鴨、畜試一號殘差飼料採食量對照與選拔組之兩世代間無顯著分化以外，其餘品系間皆有顯著 ( $P < 0.05$ ) 低至中度分化。無顯著分化部分，保種褐色菜鴨為儘可能使遺傳歧異度最大化，皆以家族輪迴配種進行世代更新，從兩世代幾乎無分化之結果看來，此配種策略成功維持保種族群的遺傳組成；而畜試一號在世代間之分化雖不顯著，惟選拔品系之兩世代間族群分化指數略高於對照品系。顯著分化部分，以畜試二號與其餘品系間分化指數最高 (皆在 0.14 以上)，其餘品系間則多在 0.08 至 0.12 之間，此與先前主成分分析、親緣關係樹結果大致一致。其中畜試一號部分，無論是在第 18 代或第 20 代，對照與選拔組皆有顯

著分化；然在第 18 代僅極低程度分化 ( $F_{ST} = 0.0328$ )，至第 20 代時才有中度分化 ( $F_{ST} = 0.0505$ )，顯示殘差飼料採食量選拔加深了兩品系之分化情形。

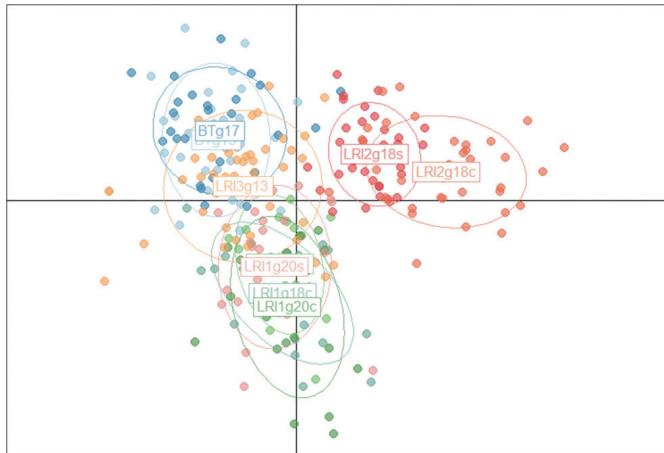


圖 2. 保種褐色菜鴨第 15、17 代 (BT15g、BT17g)、褐色菜鴨畜試一號第 18、20 代之殘差飼料採食量對照 (c) 與選拔 (s) 族群 (LRI1g18c、LRI1g18s、LRI1g20c、LRI1g20s)、畜試二號第 18 代之對照與選拔族群 (LRI2g18c、LRI2g18s)、畜試三號第 13 代 (LRI3g13) 之主成份分析圖。

Fig. 2. The results of principal component analysis of the 15<sup>th</sup> and 17<sup>th</sup> generations of germplasm-conserved Brown Tsaiya duck (BTg15, BTg17), the 18<sup>th</sup> and 20<sup>th</sup> generations of RFI selected and control Brown Tsaiya duck LRI 1 (LRI1g18c, LRI1g18s, LRI1g20c, LRI1g20s), the 18<sup>th</sup> generation of selected and control Brown Tsaiya duck LRI 2 (LRI2g18c, LRI2g18s), the 13<sup>th</sup> generation of Brown Tsaiya duck LRI 3 (LRI3g13) from the 11 Brown Tsaiya microsatellite markers.

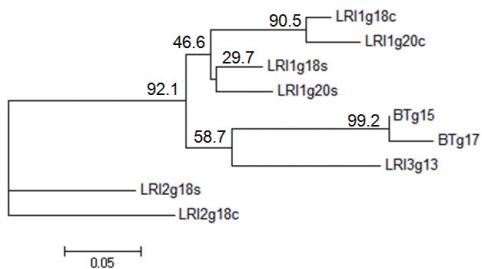


圖 3. 保種褐色菜鴨第 15、17 代 (BT15g、BT17g)、褐色菜鴨畜試一號第 18、20 代之殘差飼料採食量對照 (c) 與選拔 (s) 族群 (LRI1g18c、LRI1g18s、LRI1g20c、LRI1g20s)、畜試二號第 18 代之對照與選拔族群 (LRI2g18c、LRI2g18s)、畜試三號第 13 代 (LRI3g13) 之親緣關係樹圖。分支上數值為該分支上之拔靴值 (Bootstrap value)。

Fig. 3. The phylogenetic tree of the 15<sup>th</sup> and 17<sup>th</sup> generations of germplasm-conserved Brown Tsaiya duck (BTg15, BTg17), the 18<sup>th</sup> and 20<sup>th</sup> generations of RFI selected and control Brown Tsaiya duck LRI 1 (LRI1g18c, LRI1g18s, LRI1g20c, LRI1g20s), the 18<sup>th</sup> generation of selected and control Brown Tsaiya duck LRI 2 (LRI2g18c, LRI2g18s), the 13<sup>th</sup> generation of Brown Tsaiya duck LRI 3 (LRI3g13) from the 11 Brown Tsaiya microsatellite markers.

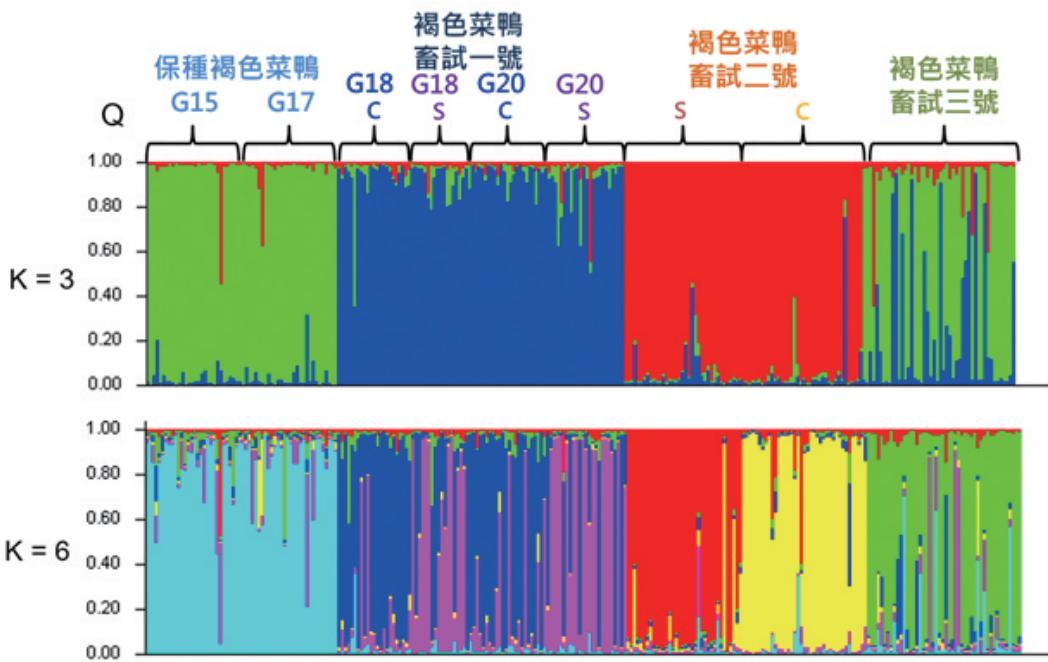


圖 4. 保種褐色菜鴨第 15、17 代、褐色菜鴨畜試一號第 18、20 代之殘差飼料採食量對照與選拔族群、畜試二號第 18 代之對照與選拔族群、畜試三號第 13 代以 STRUCTURE 軟體進行分群分析之結果。此圖可能分群數（K）設為 3 與 6；Q：個體基因源自該群集之比例，不同群集以不同顏色表示，縱軸每圖條代表一個體。

Fig. 4. Genetic cluster analysis for the 15<sup>th</sup> and 17<sup>th</sup> generations of germplasm-conserved Brown Tsaiya duck (BTg15, BTg17), the 18<sup>th</sup> and 20<sup>th</sup> generations of RFI selected and control Brown Tsaiya duck LRI 1 (LRI1g18c, LRI1g18s, LRI1g20c, LRI1g20s), the 18<sup>th</sup> generation of selected and control Brown Tsaiya duck LRI 2 (LRI2g18c, LRI2g18s), the 13<sup>th</sup> generation of Brown Tsaiya duck LRI 3 (LRI3g13) populations using STRUCTURE software. K: possible number of subpopulation; Q: proportional membership of Brown Tsaiya ducks to genetic clusters. Colors correspond to different genetic clusters. Each vertical bar represents a single individual.

表 5. 利用 11 組微衛星標記進行 STRUCTURE 分析 ( $K = 3$ ) 保種褐色菜鴨第 15、17 代 (BT15g、BT17g)、褐色菜鴨畜試一號第 18、20 代之殘差飼料採食量對照 (c) 與選拔 (s) 族群 (LRI1g18c、LRI1g18s、LRI1g20c、LRI1g20s)、畜試二號第 18 代之對照與選拔族群 (LRI2g18c、LRI2g18s)、畜試三號第 13 代 (LRI3g13) 之於各群組之分布頻率表

Table 5. Frequencies of each clusters ( $K = 3$ ) inferred by STRUCTURE based on 11 Brown Tsaiya microsatellite markers for the 15<sup>th</sup> and 17<sup>th</sup> generations of germplasm-conserved Brown Tsaiya duck (BTg15, BTg17), the 18<sup>th</sup> and 20<sup>th</sup> generations of RFI selected and control Brown Tsaiya duck LRI 1 (LRI1g18c, LRI1g18s, LRI1g20c, LRI1g20s), the 18<sup>th</sup> generation of selected and control Brown Tsaiya duck LRI 2 (LRI2g18c, LRI2g18s), the 13<sup>th</sup> generation of Brown Tsaiya duck LRI 3 (LRI3g13)

Population	Sample size	Inferred clusters		
		1	2	3
BTg15	30	0.030	0.033	0.937
BTg17	30	0.029	0.036	0.935
LRI1g18c	23	0.021	0.930	0.049
LRIg18s	17	0.025	0.923	0.052
LRI1g20c	24	0.017	0.951	0.032
LRI1g20s	26	0.039	0.907	0.054
LRI2g18s	36	0.931	0.048	0.021
LR2g18c	39	0.936	0.039	0.025
LRI3g13	48	0.055	0.246	0.699

褐色菜鴨的選育始自畜試一號，其原始族群的來源不同於保種褐色菜鴨，乃源於 1984 年自中南部四個種鴨場（東港、下營、柳營、斗南）購入褐色公菜鴨共 67 隻，另由臺北縣、桃園縣四個蛋鴨場贈與母菜鴨共 200 隻，依公鴨來源分為四個品系，分別與來自四個蛋鴨場之母鴨以自然交配繁殖，依系譜進行檢定選留（行政院農業委員會畜產試驗所，2005），並分別民國 1982 年與 1998 年時挑選個體選拔長受精持續性（畜試二號）與青殼蛋性狀（畜試三號），原畜試一號自第 16 代起分為對照、選拔品系，開始選拔低殘差飼料採食量性狀。而保種褐色菜鴨之購入來源則於民國 1987 年由屏東及宜蘭地區收購繁殖。有趣的是，在主成分分析圖與族群親緣關係樹圖中皆可發現，相較於對照組，畜試一號與畜試二號的選拔組與保種褐色菜鴨的遺傳距離似乎較接近。然由於目前主成分分析解釋比例仍低，親緣關係樹中相關分支之拔靴值亦未超過門檻，應尚不足解釋品系分化關係，未來需持續收集更多世代間資料，增加微衛星標記數量，以確認品系分化方向。

表 6. 利用 11 組微衛星標記分析保種褐色菜鴨第 15、17 代 (BT15g、BT17g) 、褐色菜鴨畜試一號第 18、20 代之殘差飼料採食量對照 (c) 與選拔 (s) 族群 (LRI1g18c、LRI1g18s、LRI1g20c、LRI1g20s) 、畜試二號第 18 代之對照與選拔族群 (LRI2g18c、LRI2g18s) 、畜試三號第 13 代 (LRI3g13) 之遺傳分化指數 (對角線右上)

Table 6.  $F_{ST}$  value based on 11 Brown Tsaiya microsatellite markers for the 15<sup>th</sup> and 17<sup>th</sup> generations of germplasm-conserved Brown Tsaiya duck (BTg15, BTg17), the 18<sup>th</sup> and 20<sup>th</sup> generations of RFI selected and control Brown Tsaiya duck LRI 1 (LRI1g18c, LRI1g18s, LRI1g20c, LRI1g20s), the 18<sup>th</sup> generation of selected and control Brown Tsaiya duck LRI 2 (LRI2g18c, LRI2g18s), the 13<sup>th</sup> generation of Brown Tsaiya duck LRI 3 (LRI3g13)<sup>1</sup>

	BT17g	LRI1g18c	LRI1g18s	LRI1g20c	LRI1g20s	LRI2g18s	LRI2g18c	LRI3g13
BTg15	0.0004	0.1068*	0.0901*	0.1114*	0.0781*	0.1886*	0.1882*	0.0834*
BTg17		0.1100*	0.0999*	0.1227*	0.0992*	0.2043*	0.1926*	0.1101*
LRI1g18c			0.0328*	0.0060	0.0641*	0.1612*	0.1475*	0.0860*
LRI1g18s				0.0600*	0.0219	0.1432*	0.1456*	0.0847*
LRI1g20c					0.0505*	0.1706*	0.1443*	0.1003*
LRI1g20s						0.1531*	0.1492*	0.0898*
LRI2g18s							0.1239*	0.1541*
LRI2g18c								0.1536*

<sup>1</sup>  $F_{ST}$  and p-value in bracket.

\*  $F_{ST}$  with significant differentiation ( $P < 0.05$ ).

## 結論

從遺傳變異分析，顯示褐色菜鴨保種與選育族群皆尚未有嚴重新親配種之虞，且從世代間之分化指數極小來看，顯示目前保種及配種策略可成功維持保種褐色菜鴨、畜試一號對照組之遺傳組成。後續應收集更多世代資料，增加微衛星標記數量，以確認品系分化方向，並將本次遺傳分析結果作為族群之遺傳歧異度基準，供日後持續進行遺傳監測比較，促進種原永續經營利用。

## 誌謝

本研究承行政院農業委員會經費支持 (104 農科 -2.7.1-L1 (3))，並承科技部生技類核心設施平臺維運計畫下之國家基因體醫學研究中心協助微衛星標記基因型分析。試驗期間承蒙林阿葉、林秀齡、林美葉、柯惠君、陳淑惠、馮國銘、黃順和及簡春萍等宜蘭分所同仁協助試驗之進行，特此誌謝。

## 參考文獻

- 行政院農業委員會畜產試驗所。2004。「褐色菜鴨畜試二號」品系登記審定書。
- 行政院農業委員會畜產試驗所。2005。「褐色菜鴨畜試一號」品系登記審定書。
- 行政院農業委員會畜產試驗所。2008。「褐色菜鴨畜試三號」品系登記審定書。
- 行政院農業委員會畜產試驗所。2018。「褐色菜鴨高飼效品系」品系登記審定書。
- 呂秀英。2000。作物模式化在改良基因型適應性上的應用。科學農業 48：199-205。
- 張怡穎。2014。保種鴨群與經濟性狀選育鴨群遺傳歧異度之比較。行政院農業委員會畜產試驗所 103 年度科技計畫研究報告。
- 鄭智翔。2018。鴨隻遺傳資源保存與遺傳監測。行政院農業委員會畜產試驗所 107 年度科技計畫研究報告。
- 張怡穎、劉秀洲、陳怡蓁、丁詩同、王佩華、林恩仲、蕭孟衿、黃振芳。2016。微衛星標記應用於白色菜鴨保種族群與宜蘭白鴨臺畜一號遺傳結構之探討。畜產研究 49：138-147。
- 康清亮、李舜榮、胡怡浩、黃振芳。1993。褐色菜鴨、白色菜鴨、黑色番鴨種原保存族群的生長及產蛋性能之觀察。畜產研究 26：317-326。
- 康清亮、李舜榮、黃振芳、黃加成。1997。菜鴨、黑色番鴨種原保存與利用。八十六年度畜產評議會工作報告。
- 劉秀洲。2012。保種鴨群遺傳歧異度之監控。行政院農業委員會畜產試驗所 101 年度科技計畫研究報告。
- 劉秀洲、杜宗哲、C. Marie-Etancelin、李淵百、黃振芳、陳志峰。2012。褐色菜鴨殘差飼料採食量之遺傳參數估算。畜產研究 45：131-140。
- Alderson, L. 1990. Genetic conservation of domestic livestock. Wallingford, U.K.: CAB International.
- Bozzi, R., I. A'lvarez, A. Crovetti, I. Fernández, D. De Petris, and F. Goyache. 2011. Assessing priorities for conservation in Tuscan cattle breeds using microsatellites. Animal 6: 203-211.
- Chapuis, M. P., and A. Estoup. 2007. Microsatellite null alleles and estimation of population differentiation. Mol. Biol. Evol. 24: 621-631.
- De Meeûs, T. 2018. Revisiting FIS, FST, Wahlund Effects, and null alleles. J. Hered. 109: 446-456.
- 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. 2012. Phenotypic characterization of animal genetic resources. FAO Animal Production and Health Guidelines No. 11. Rome.
- Felsenstein, J. 2002. PHYLIP 3.6 (Phylogeny Inference Package). Department of Genetics, University of Washington, Seattle, WA. Software. Accessed Aug. 31, 2018. <http://evolution.gs.washington.edu/phylip.html>.
- Gemayel, R., M. D. Vinces, M. Legendre, and K. J. Verstrepen. 2010. Variable tandem repeats

- accelerate evolution of coding and regulatory sequences. Annu. Rev. Genet. 44: 445-477.
- Goudet, J. 2002. FSTAT: a program to estimate and test gene diversities and fixation indices. Version 2.9.3. Department of ecology and evolution, Lausanne University, Lausanne, Switzerland.
- Grosser, S., J. Abdelkrim, J. Wing, B. C. Robertson and N. J. Gemme. 2017. Strong isolation by distance argues for separate population management of endangered blue duck (*Hymenolaimus malacorhynchos*). Conserv. Genet. 18: 327-341.
- Guo, S. W. and E. A. Thompson. 1992. Performing the exact test of Hardy-Weinberg proportion for multiple alleles. Biometrics 48: 361-372.
- Hsiao, M. C., H. C. Liu, Y. C. Hsu, Y. H. Hu, S. H. Li, and S. R. Lee. 2008. Isolation and characterization of microsatellite markers in Tsaiya duck. Asian-Aust. J. Anim. Sci. 21: 624-627.
- Hung, C. M., Y. F. Lin, H. L. Liu, M. Y. Tsai, C. H. Hsieh, J. P. Poivey, R. Rouvier, and Y. S. Cheng. 2013. Effect of selection stopping in a line of Brown Tsaiya Ducks improved on the duration of fertility. pp. 58-63. In: "Genetic, breeding and reproduction" part of Proceeding of the 5<sup>th</sup> World Waterfowl Conference. Hanoi, Vietnam.
- Jombart, T., and I. Ahmed. 2011. adegenet 1.3-1: new tools for the analysis of genome-wide SNP data. Bioinformatics. 21: 3070-3071.
- 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.
- Liu, Z. J., and J. F. Cordes. 2004. DNA marker technologies and their applications in aquaculture genetics. Aquaculture 238: 1-37.
- Maharani, D., D. N. H. Hariyono, S. Cho, P. Manjula, D. Seo, N. Choi, J. H. P. Sidadolog, and J. Lee. 2017. Genetic diversity among Indonesian local duck populations in Java Island assessed by microsatellite markers. J. Anim. Breed. Genomics 1: 136-142.
- Miller, J. M., M. C. Quinzin, D. L. Edwards, D. A. R. Eaton, E. L. Jensen, M. A. Russello, J. P. Gibbs, W. Tapia, D. Rueda, and A. Caccone. 2018. Genome-wide assessment of diversity and divergence among extant Galapagos giant tortoise species. J. Hered. 109: 611-619.
- Nei, M. 1972. Genetic distance between populations. Amer. Nat. 106: 283-292.
- Pham, M. H., C. Berthouly-Salazar, X. H. Tran, W. H. Chang, R. P. M. A. Crooijmans, D. Y. Lin, V. T. Hoang, Y. P. Lee, M. Tixier-Boichard, and C. F. Chen. 2013. Genetic diversity of Vietnamese domestic chicken populations as decision-making support for conservation strategies. Anim. Genet. 44: 509-521.
- Pritchard, J. K., M. Stephens, and P. Donnelly. 2000. Inference of population structure using multilocus genotype data. Genetics 155: 945-959.
- Saitou, N., and M. Nei. 1987. The Neighbor-joining method: a method for reconstructing phylogenetic trees. Mol. Biol. Evol. 4: 406-425.
- Seo, J. H., J. H. Lee, and H. S. Kong. 2017. Assessment of genetic diversity and phylogenetic relationships of Korean native chicken breeds using microsatellite markers. Asian-Australas. J.

- Anim. Sci. 30: 1365-1371.
- Su, Y., and G. H. Chen. 2009. DNA microsatellite analysis of genetic diversity among Chinese indigenous laying-type ducks (*Anas platyrhynchos*). Czech J. Anim. Sci. 54: 128-135.
- Suh, S., A. Sharma, S. Lee, C. Y. Cho, J. H. Kim, S. B. Choi, H. Kim, H. H. Seong, S. H. Yeon, D. H. Kim, and Y. G. Ko. 2014. Genetic diversity and relationships of Korean chicken breeds based on 30 microsatellite markers. Asian-Australas. J. Anim. Sci. 27: 1399-1405.
- Sultana, H., D. Seo, N. Choi, Y. Kim, P. Manjula, M. S. A. Bhuiyan, K. Heo, and J. Lee. 2017. Genetic diversity analyses of Asian duck populations using 24 microsatellite markers. Korean J. Poult. Sci. 44: 75-81.
- Tamaki, K. 2007. Molecular forensics. In: Minisatellite and microsatellite DNA typing analysis. John Wiley & Sons, Ltd. England. pp. 71-86.
- Weir, B. S., and C. C. Cockerham. 1984. Estimating F-statistics for the analysis of population structure. Evolution 38: 1358-1370.
- Wright, S. 1965. The interpretation of population structure by F-Statistics with special regard to systems of mating. Evolution 19: 395-420.
- Yeh, F. C., R. C. Yang, T. B. J. Boyle, Z. H. Ye, and J. X. Mao. 1997. POPGENE, the user-friendly shareware for population genetic analysis. Molecular biology and biotechnology centre, University of Alberta, Canada.

# **Study on genetic structure in different Brown Tsaiya duck lines with microsatellite markers <sup>(1)</sup>**

Yi-Ying Chang <sup>(2)(6)(8)</sup>, Wey-Peng Chang <sup>(2)</sup>, Liang-Yuan Wei <sup>(2)</sup>, Yi-Chen Chen <sup>(3)</sup>, Shih-Torng Ding <sup>(4)</sup>, Pei-Hwa Wang <sup>(4)</sup>, En-Chung Lin <sup>(4)</sup>, Jeng-Fang Huang <sup>(5)</sup>, Chih-Feng Chen <sup>(7)</sup> and Hsiu-Chou Liu <sup>(2)</sup>

## **ABSTRACT**

Several Brown Tsaiya duck lines are conserved or selected at the Livestock Research Institute in Taiwan, and most of the selected lines have been selected for over 10 generations. In order to investigate the exact effects of conservative and mating strategies on the genetic diversity of Brown Tsaiya duck populations, we applied the 11 Brown Tsaiya duck-derived microsatellite markers to conduct a genetic analysis to Brown Tsaiya duck lines and made comparison between different generations in a line or different lines. The results showed that genetic variations were almost the same between the two generations in germplasm-preserved Brown Tsaiya ducks, while the diversity of the RFI control line of Brown Tsaiya LRI 1 might be brought down by the genetic drift. On the cross-line comparison, the numbers of effective alleles were higher in control lines than the selected ones in Brown Tsaiya LRI 1 and LRI 2. Among the populations, Brown Tsaiya LRI 2 had comparatively low genetic variations, probably resulting from the smaller population size. The pairwise differentiation indices were less than 0.01 between both of germplasm-preserved Brown Tsaiya duck and the RFI control line of Brown Tsaiya LRI 1. This suggested that the current mating strategies might be helpful to keeping the genetic structure in the two lines. For ensuring diversity of local duck breeds and achieving sustainable production, we need to obtain more information of cross-generation samples and markers to evaluate the genetic status of Brown Tsaiya duck lines in the future.

(Key Words: Microsatellite markers, Genetic structure, Genetic polymorphism, Brown Tsaiya duck)

<sup>(1)</sup> Contribution No. 2753 from Livestock Research Institute, Council of Agriculture, Executive Yuan.

<sup>(2)</sup> ILan Branch, COA-LRI, No. 28-1, Jishui Rd., Wujie Township, Yilan 26846, Taiwan.

<sup>(3)</sup> Department of Animal Science and Biotechnology, Tunghai University, No.1727, Sec. 4, Taiwan Blvd., Taichung 40704, Taiwan.

<sup>(4)</sup> Department of Animal Science and Technology, National Taiwan University, No. 50, Ln. 155, Sec. 3, Keelung Rd., Taipei 10672, Taiwan.

<sup>(5)</sup> Livestock Research Institute, Council of Agriculture (COA-LRI), Executive Yuan, No. 112, Farm Rd., Hsinhua, Tainan 71246, Taiwan.

<sup>(6)</sup> Department of Animal Science College of Agriculture and Natural Resources, National Chung Hsing University, 145, Xingda Rd., Taichung 40227, Taiwan.

<sup>(7)</sup> The iEGG and Animal Biotechnology Center, National Chung Hsing University, No. 145, Xingda Rd., Taichung 40227, Taiwan.

<sup>(8)</sup> Corresponding author, E-mail: yychang@mail.tlri.gov.tw.