

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⁽¹⁾

張怡穎⁽²⁾ 劉秀洲⁽²⁾ 陳怡蓁⁽³⁾ 丁詩同⁽⁴⁾ 王佩華⁽⁴⁾ 林恩仲⁽⁴⁾ 蕭孟衿⁽⁵⁾ 黃振芳⁽²⁾⁽⁶⁾

收件日期：104 年 8 月 3 日；接受日期：105 年 3 月 29 日

摘 要

本試驗利用 11 組褐色菜鴨微衛星標記進行保種白色菜鴨第 11 代 (WTg11) 與第 15 代 (WTg15) 族群之跨世代遺傳分析，並與宜蘭白鴨臺畜一號第 27 代 (L102g27) 族群進行比較。保種白色菜鴨兩世代分析結果顯示，WTg15 族群所含遺傳多樣性較 WTg11 族群為低，且兩世代呈輕微遺傳分化，推測可能為輪迴配種制度曾一度中斷所致。進一步比較同期之 L102g27 與 WTg15 遺傳歧異度發現，兩族群雖為同源，然其間 F_{ST} 值已近高度遺傳分化，推測應為保種族群自成品系後，宜蘭白鴨臺畜一號為固定菜鴨體型與白羽色，又經歷了超過 20 世代之長期選拔所造成，此歷程亦導致選育白色菜鴨之遺傳多態性明顯低於其他菜鴨品種 (系)。未來將以此分析結果作為兩族群之多樣性基準，供後續遺傳監測，以確保本土鴨種遺傳之多樣性，並促進種原永續經營利用。

關鍵詞：微衛星標記、遺傳結構、種原保存、白色菜鴨、宜蘭白鴨臺畜一號。

緒 言

白色菜鴨昔稱「香鴨」，在臺灣早期養鴨產業中，偶可出現於褐色菜鴨群，亦有於民初由日本引進大阪鴨，或於民國 42 年時由農復會引進北京鴨與菜鴨交配而得等說法，由於數量稀少，而被視作藥引之珍品。民國 50 年代，白色菜鴨被認為可用於土番鴨毛色改進，在農復會與農林廳的協助下，自全臺各地收集白色羽毛且具類似菜鴨體型鴨隻約 800 隻，作為閉鎖族群，經多年選拔、改良，其菜鴨體型及白色羽色才得以固定，成為褐色菜鴨之一變種 (周及黃，1970；臺灣省畜產試驗所，1985)，並於民國 74 年正式命名為宜蘭白鴨臺畜一號，爾後又分別育成 L101、L102、L103 等三個品系；其中，L103 之近親品系現已不存，L102 品系作為民間生產白色土番鴨之母系來源，仍持續進行後裔毛色檢定。然考慮長期選拔可能喪失固有特徵與遺傳多樣性，另選中 L101 逢機品系進行種原保存計畫，作為白色菜鴨保種品系 (戴等，1986；康等，1993)。

種原保存計畫旨在維持畜禽生物的多樣性，避免由於環境快速變遷及人為選育導致物種消失或瀕臨絕種。為了保存本土性鴨隻之優良特性，畜產試驗所宜蘭分所於民國 76 年藉保種計畫，除上述白色菜鴨外，亦建立並維持褐色菜鴨及黑色番鴨共三個保種族群 (康等，1993)。此計畫過去主要分為兩部分，分別為性能監測與活體保存。前者進行保種族群各世代性能監測，包括生長性狀如 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)；後者則每 1 至 2 年進行世代更新，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。

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。為評估種原保存計畫對於白色菜鴨遺傳多樣性保存之成效，本試驗應用自褐色菜鴨基因組開發之高多態性微衛星標記進行保種族群白色菜鴨第 11 代 (WTg11) 與第

(1) 行政院農業委員會畜產試驗所研究報告第 2384 號。

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

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

(4) 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。

(5) 行政院農業委員會茶葉改良場臺東分場，95541 臺東縣鹿野鄉龍田村北二路 66 號。

(6) 通訊作者，E-mail：huangajf@mail.tlri.gov.tw。

15 代 (WTg15) 之跨世代遺傳監控，並與同期之宜蘭白鴨臺畜一號第 27 代 (L102g27) 相較，以探討兩族群是否有近親衰退之危機，並評估目前實施之保種策略，是否確能維持族群之遺傳歧異度，以確保本土鴨種遺傳多樣性，使各珍貴品種 (系) 得以永續經營。

材料與方法

I. 試驗動物

試驗動物為畜產試驗所宜蘭分所之保種白色菜鴨第 11 代 (WTg11)、第 15 代 (WTg15) 及宜蘭白鴨臺畜一號第 27 代 (L102g27) 等三個族群。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；宜蘭白鴨臺畜一號共有 20 個家族，每家族逢機採樣公、母各 1 隻，共 40 隻。

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批准 (畜試動字 103-02 號) 之試驗準則進行。

II. 微衛星標記分析

自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 1 (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 $50\ \text{ng}$ 模板基因組 DNA、正反引子各 $0.2\ \mu\text{M}$ 、 $1\times$ PCR buffer、 $1.5\ \text{mM}$ MgCl_2 、 $0.2\ \text{mM}$ dNTP、及 $0.025\ \text{U}$ *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；除 APT025 及 APT026 兩組引子之鍊合溫度為 50°C ，其餘 9 組標記皆為 60°C ，時間為 30 秒； 72°C 延伸 30 秒，最後再以 72°C 延伸 5 分鐘。PCR 反應後，以 1.5% 瓊脂醣膠體進行電泳確認產物，再使用 ABI 3730 序列分析儀辨別 PCR 產物片段大小，並以 Peak Scanner v1.0 software (Applied Biosystems, USA) 進行基因型判別。

III. 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_a)、觀測異質度 (observed heterozygosity, H_o)、期望異質度 (expected heterozygosity, H_e) 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_{IS}) 與族群分化指數 (population genetic differentiation, F_{ST}) 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_e) 及進行哈溫平衡 (Hardy-Weinberg equilibrium) 檢定 (Guo and Thompson, 1992)。

族群分析部分首先以使用 MICROSATELLITE ANALYSER (MSA) (Dieringer and Schlötterer, 2003) 計算個體間遺傳距離 (Saitou and Nei, 1987)，並利用 PHYLIP 套裝軟體 (Felsenstein, 2002) 以鄰近相接法 (Neighbor-Joining, NJ) 繪製親緣關係樹，以觀察三族群間之分化情形。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 5,000 次後之 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 v0.6.94 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. 微衛星標記多態性

本試驗使用之 11 組褐色菜鴨微衛星標記在保種白色菜鴨第 11 代 (WTg11)、第 15 代 (WTg15) 及宜蘭白鴨臺畜一號第 27 代 (L102g27) 等三個白色菜鴨族群中所得之多態性列於表 2 及表 4，共觀測到 51 個交替基因，各基因座所含交替基因數為 2 至 9 個，平均每基因座含 4.6 個交替基因；有效交替基因數介於 1.7 (APT001) 至 6.0 (APT004) 個，平均每基因座具有 2.8 個有效交替基因。觀測異質度介於 0.150 (APT001) 到 0.660 (APT004)，平均為 0.461；期望異質度介於 0.303 (APT001) 到 0.701 (APT004)，平均為 0.586。多態性訊息含量介於 0.256 (APT001) 到 0.649 (APT004)，平均為 0.514。在 11 組標記中，APT001、APT008、APT017、APT026 與 APT032

共 5 組標記具中度多態性 ($0.25 < PIC < 0.5$)，而 APT004、APT010、APT012、APT020、APT025、APT033 共 6 組標記具高多態性 ($PIC > 0.5$)，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可用於初步了解白色菜鴨之遺傳結構。

II. 遺傳變異分析

遺傳變異分析之結果乃依照保種白色菜鴨及宜蘭白鴨臺畜一號分為兩部分討論。保種白色菜鴨 WTg11 及 WTg15 族群之遺傳變異如表 2 所示。在 WTg15 族群中共觀察到 40 個交替基因，平均每基因座具有 3.6 個交替基因，平均有效交替基因數則為 2.4 個；其觀測異質度介於 0.300 (APT001) 到 0.862 (APT004)，平均為 0.497，而期望異質度介於 0.319 (APT025) 到 0.771 (APT004)，平均為 0.557。此 11 組微衛星標記中，除 APT033 外皆符合哈溫平衡； F_{is} 值之平均為 0.114，然與 0 無顯著差異，顯示此一族群尚未有近親衰退之虞。比較 WTg11 與 WTg15 族群遺傳分析結果，WTg11 族群具有較高之平均交替基因數 (3.9 個) 及有效交替基因數 (2.5 個)，在遺傳歧異度方面，其平均觀測異質度與期望異質度分別為 0.537 與 0.586，亦高於 WTg15 族群。各族群觀測到之交替基因與頻率如表 3，可發現 WTg11 與 WTg15 兩族群在各基因座之交替基因頻率分布雖然接近，然兩世代各有其特有交替基因 (private allele)：WTg11 族群含有特有交替基因之基因座包括 APT004、APT017、APT020 與 APT025；而 WTg15 族群含有特有交替基因之基因座則包括 APT010、APT012、APT032，其頻率介於 0.02 至 0.08。

表 1. 本試驗使用之 11 組褐色菜鴨微衛星標記之引子資訊

Table 1. Primer sequences of the 11 Brown Tsaiya microsatellite markers in this study

Locus ^a	Primer sequences (5' → 3')	T _a (°C) ^b	Duck genome scaffold no. ^c
APT001	F: GTCCCACTGGTTTGCTGTCC R: ACTACGCATGGCAGTGAGGTT	60	1,509
APT004	F: GGGCAGGAAAATCTCCTGAAT R: TCTCAGTGGCTGAGCGGTC	60	192
APT008	F: CAAAGAAATCCTAGAACATCATTCAAAT R: TCTTCTGGCTTTTCACCTTAGTTTAGTA	60	358
APT010	F: CACTCAGGCTTTTAGGTCCATTAATA R: CATCTGAGAATGCACTTACTGTCAAA	60	1,199
APT012	F: TTGAGCCTCAGGTTCTAAACTCCTA R: TCATAACATTTTCAGACCAGTTTTTCAGA	60	5
APT017	F: TGGATGGACAGACGGGTGA R: TGGAAGTTTTGATTTCTAGTGCTTACA	60	481
APT020	F: TTCCAAGTTTGTCATGCCAATAGA R: CTGACCATGTTAGGGCGTTTTAG	60	197
APT025	F: TCCTAAGAAACGTTGCTTCATAGACC R: GAGTTAAGCTTCATCACTCTGTGACTG	50	121
APT026	F: CCCTGAAAGGCTGTTTTATATATCCA R: ATGTAAATAAAGTAGCCTTGCACGGT	50	477
APT032	F: TCACTTTCTTGACTCTCCTTGGTTT R: TGAATTGAATTCTGTTTCAGGATAAATG	60	45
APT033	F: CTTCACCTACCTCATAAGGAAGT R: ATTCCAAATCTGCAAGGTGAGTATTA	60	14

^a Hsiao *et al.* (2008), developed from Tsaiya duck.

^b Annealing temperature.

^c The orthologous microsatellites in the duck genome scaffold.

表 2. 11 組褐色菜鴨微衛星標記於保種白色菜鴨第 11 代 (WTg11) 與第 15 代 (WTg15) 族群之遺傳變異
 Table 2. Genetic variation analysis of the 11th and 15th generation of germplasm-conserved White Tsaiya duck with the 11 Brown Tsaiya microsatellite markers

Locus	11 th generation						15 th generation							
	Fragment (bp)	N _a ¹	N _e ²	H _O ³	H _E ⁴	F _{IS} ⁶	Locus	Fragment (bp)	N _a ¹	N _e ²	H _O ³	H _E ⁴	PIC ⁵	F _{IS} ⁶
APT001	178-202	2	1.6	0.200	0.398	0.497	APT001	178-202	2	1.8	0.300	0.463	0.351	0.352
APT004	274-310	9	4.2	0.733	0.776	0.055	APT004	278-310	5	4.1	0.862	0.771	0.717	-0.118
APT008	180-188	3	1.9	0.500	0.494	-0.012	APT008	180-188	3	2.2	0.367	0.552	0.482	0.335
APT010	202-224	4	3.3	0.733	0.709	-0.034	APT010	202-224	5	3.2	0.700	0.702	0.638	0.003
APT012	189-205	3	2.7	0.700	0.642	-0.090	APT012	189-205	5	2.7	0.567	0.644	0.583	0.120
APT017	161-185	5	2.0	0.433	0.517	0.162	APT017	161-185	4	2.0	0.500	0.498	0.430	-0.004
APT020	185-201	5	2.6	0.567	0.632	0.103	APT020	185-197	3	2.1	0.500	0.538	0.433	0.071
APT025	105-125	4	2.4	0.379	0.590	0.358	APT025	113-125	4	1.5	0.367	0.319	0.288	-0.150
APT026	130-142	3	2.4	0.667	0.595	-0.121	APT026	130-142	3	2.4	0.633	0.589	0.499	-0.075
APT032	207-255	2	2.0	0.567	0.503	-0.127	APT032	207-259	3	2.0	0.400	0.501	0.387	0.202

¹ Number of alleles.

² Effective number of alleles.

³ Observed heterozygosity.

⁴ Expected heterozygosity.

⁵ Polymorphic information content.

⁶ Wright's fixation index, within population inbreeding estimate.

** Represents highly significant ($P < 0.01$) departure from Hardy-Weinberg equilibrium.

表 3. 保種白色菜鴨第 11 代 (WTg11)、第 15 代 (WTg15) 與宜蘭白鴨臺畜一號第 27 代 (L102g27) 觀測之交替基因一覽表
 Table 3. Observed alleles of the 11th (WTg11) and 15th (WTg15) generation of germplasm-conserved White Tsaiya duck and the 27th generation of Ilan White Tsaiya TLRI NO.1 (L102g27)

	APT001	APT004	APT008	APT010	APT012	APT017	APT020	APT025	APT026	APT032	APT033
	Size ¹	Size ¹	Size ¹	Size ¹	Size ¹	Size ¹	Size ¹	Size ¹	Size ¹	Size ¹	Size ¹
	Freq. ²	Freq. ²	Freq. ²	Freq. ²	Freq. ²	Freq. ²	Freq. ²	Freq. ²	Freq. ²	Freq. ²	Freq. ²
WTg11	178	274	180	202	189	161	185	105	130	207	230
	0.27	0.02	0.08	0.22	0.38	0.07	0.32	0.08	0.12	0.55	0.15
	202	278	184	204	193	173	189	113	138	255	266
	0.73	0.05	0.25	0.43	0.43	0.20	0.08	0.58	0.37	0.45	0.30
	286	0.02	188	208	205	177	193	117	142		270
	0.12	0.67	0.23	0.18	0.07	0.67	0.17	0.52	0.52		0.55
	290	0.05		224		181	197	125			
	0.23					0.02	0.52	0.13			
	298	0.03				185	201	0.02			
	0.20										
	306	0.03									
	0.37										
WTg15	178	278	180	202	189	161	185	113	130	207	230
	0.35	0.08	0.23	0.13	0.53	0.03	0.38	0.82	0.12	0.38	0.08
	202	294	184	204	193	173	189	117	138	255	266
	0.65	0.23	0.15	0.33	0.20	0.25	0.05	0.13	0.53	0.60	0.33
	298	0.10	188	208	197	177	197	121	142	0.02	270
	0.32	0.62	0.42	0.42	0.03	0.67	0.57	0.03	0.35	0.02	0.58
	302	0.32		212	0.05	185	125	0.02			
	0.27			224	0.07	205	0.20				
L102g27	202	294	180	202	189	173	185	105	138	207	222
	1.00	0.40	0.53	0.30	0.18	0.81	0.70	0.21	0.65	0.81	0.50
	310	0.60	188	204	193	177	189	109	142	255	266
	0.14	0.46	0.42	0.59	0.68	0.19	0.10	0.50	0.35	0.19	0.24
	192	0.01	192	201	201	197	197	113	259	0.02	270
	0.11	0.14	0.11	0.14	0.14	0.20	0.29				0.26
	205	0.01									

¹ Fragment size of PCR product.

² Allele frequencies.

宜蘭白鴨臺畜一號第 27 代 (L102g27) 族群之遺傳變異如表 4 所示，共觀察到 28 個交替基因，平均每基因座具有 2.5 個交替基因，平均有效交替基因數則為 1.9 個，其中僅 APT001 未具多態性，其餘 10 組標記之觀測異質度介於 0.150 (APT008) 到 0.700 (APT025)，10 組標記之平均為 0.377；同樣扣除 APT001 後，期望異質度介於 0.309 (APT032) 到 0.633 (APT033)，10 組標記之平均為 0.443。此 11 組微衛星標記中，除 APT008 與 APT033 外皆符合哈溫平衡，平均 F_{IS} 值為 0.140，與 0 無顯著差異，顯示此一族群應尚未有近親衰退之虞，然其值略高於同期 WTg15 族群 (0.114)。進一步與保種白色菜鴨兩世代族群相較，L102g27 族群在交替基因數、有效交替基因數、觀測異質度、理論異質度等皆有偏低之趨勢，而其 F_{IS} 值則稍高於保種白色菜鴨。檢視表 3，可發現 L102g27 於各基因座所含交替基因數皆少於 WTg11 與 WTg15 族群，且各基因座之交替基因頻率分布差異較保種白色菜鴨兩世代為大；其含有特有交替基因之基因座包括 APT008、APT012、APT025 與 APT033，頻率介於 0.11 至 0.50。

比較先前同樣利用此 11 組褐色菜鴨微衛星標記進行遺傳分析之保種褐色菜鴨 (劉, 2011)、褐色菜鴨畜試一號 (劉, 2012) 及五結黑色番鴨 (劉, 2013) 之結果，觀測交替基因數以宜蘭白鴨臺畜一號第 27 代族群為最低，其次為使用跨物種標記之五結黑色番鴨，遺傳歧異度等相關介值亦皆有此趨勢。由於保種白色菜鴨並無類似情事，推測宜蘭白鴨臺畜一號之遺傳多樣性明顯偏低之原因，可能為為了固定菜鴨體型與白色羽色而進行長達 27 個世代的選拔，造成其原始基因庫多樣性大幅縮減所致。

表 4. 11 組褐色菜鴨微衛星標記於宜蘭白鴨臺畜一號第 27 代 (L102g27) 族群之遺傳變異

Table 4. Genetic variation study of the the 27th generation of Ilan White Tsaiya TLRI NO.1 with the 11 Brown Tsaiya microsatellite markers

Locus	Fragment (bp)	N_a^1	N_e^2	H_o^3	H_e^4	PIC ⁵	F_{IS}^6
APT001	202	1	1.0	0.000	0.000	0.000	ND
APT004	294-310	2	1.9	0.450	0.486	0.365	0.074
APT008**	180-192	3	2.0	0.150	0.517	0.392	0.710
APT010	202-212	3	2.2	0.550	0.559	0.479	0.016
APT012	189-205	4	2.0	0.475	0.501	0.448	0.052
APT017	173-177	2	1.4	0.325	0.309	0.258	-0.052
APT020	185-197	3	1.9	0.500	0.466	0.410	-0.073
APT025	105-113	3	2.6	0.700	0.630	0.551	-0.111
APT026	138-142	2	1.8	0.450	0.461	0.351	0.024
APT032	207-255	2	1.4	0.225	0.309	0.258	0.272
APT033*	222-270	3	2.7	0.325	0.633	0.554	0.487
Average		2.5	1.9	0.377	0.443	0.370	0.140
SD		0.8	0.5	0.198	0.181		0.268

¹ Number of alleles.

² Effective number of alleles.

³ Observed heterozygosity.

⁴ Expected heterozygosity.

⁵ Polymorphic information content.

⁶ Wright's fixation index, within population inbreeding estimate.

* Represents significant ($P < 0.05$) departure from Hardy-Weinberg equilibrium.

** Represents extremely significant ($P < 0.001$) departure from Hardy-Weinberg equilibrium.

III. 遺傳結構分析

白色菜鴨族群分化分析結果如表 5 所示，根據 Wright (1965) 所述，當 F_{ST} 值 < 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。保種白色菜鴨 WTg11 與 WTg15 族群間之 F_{ST} 值為 0.0146 (P

= 0.00067), 屬低度分化, 與前述遺傳歧異度略降、交替基因頻率變化等情況吻合。推測此乃由於保種白色菜鴨第 12 代族群更新時曾因飼料品質問題造成採精不易, 使該代非採輪迴雜交, 而是改以混合多個家族公鴨精液方式進行繁殖有關, 因而造成後續代表現較低之遺傳歧異度。而 L102g27 與保種白色菜鴨 WTg11 及 WTg15 族群間之 F_{ST} 值分別為 0.1866 ($P = 0.00033$) 與 0.2314 ($P = 0.00033$), 皆屬中度分化; 然以 L102g27 與 WTg15 族群間之 F_{ST} 值為高, 已近高度分化, 顯示兩族群若依照目前保種、選拔方向持續進行, 其分化關係應隨之愈深。

表 5. 利用 11 組褐色菜鴨微衛星標記分析保種白色菜鴨第 11 代 (WTg11)、第 15 代 (WTg15) 與宜蘭白鴨臺畜一號第 27 代 (L102g27) 之遺傳分化指數 (F_{ST})

Table 5. F_{ST} value based on 11 Brown Tsaiya microsatellite markers for the 11th (WTg11) and 15th (WTg15) generation of germplasm-conserved White Tsaiya duck and the 27th generation of Ilan White Tsaiya TLRI NO.1 (L102g27)¹

	WTg11	L102g27
WTg11		0.1866 (0.00033)
WTg15	0.0146 (0.00067)	0.2314 (0.00033)

¹ F_{ST} and p-value in bracket.

進一步合併 WTg11、WTg15 及 L102g27 等三個族群之基因型資料, 計算個體間之遺傳距離並繪製個體親緣關係樹 (圖 1), 結果顯示來自 L102g27 族群之個體可形成一完全獨立分支, 而保種白色菜鴨 WTg11 與 WTg15 族群之個體雖有部分形成分支, 但大多仍成相互交雜狀態。利用 STRUCTURE 軟體所得之結果與個體親緣關係樹圖類似, 經 Evanno 法估算 (Evanno *et al.*, 2005), 最適 K 值為 2, 顯示保種白色菜鴨第 11 代、第 15 代族群並無分群之情形, 而宜蘭白鴨臺畜一號第 27 代族群之遺傳組成則顯著異於前述兩者 (圖 2)。

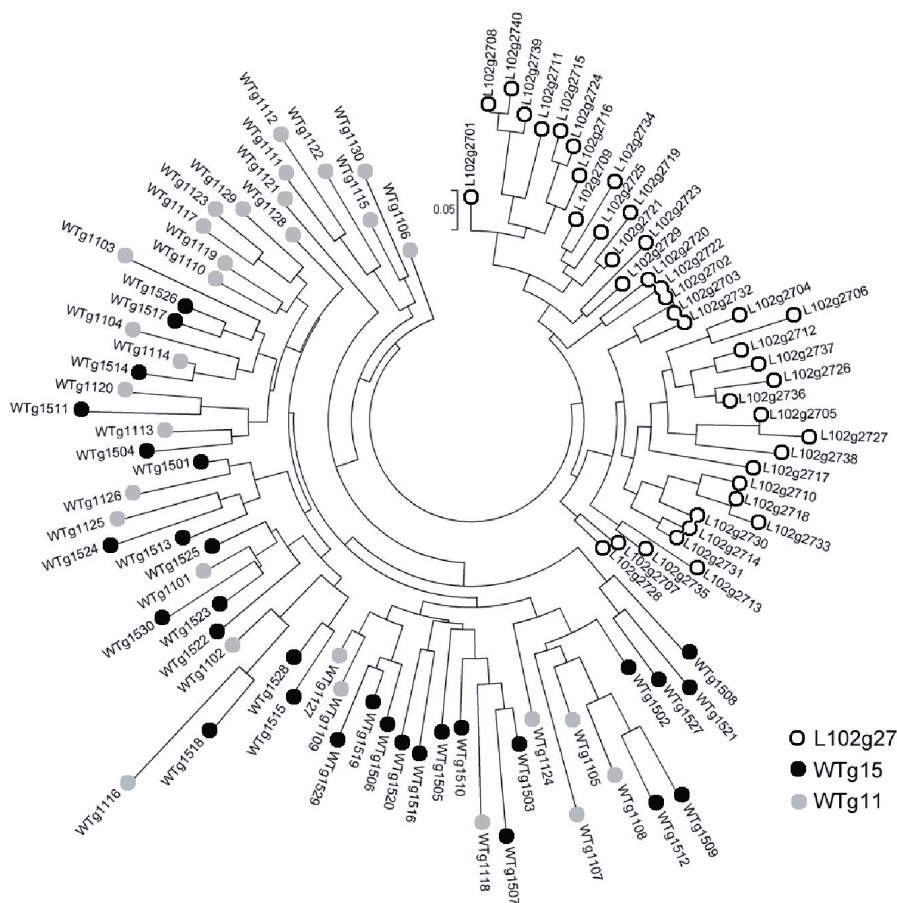


圖 1. 保種白色菜鴨第 11 代 (WTg11)、第 15 代 (WTg15) 與宜蘭白鴨臺畜一號第 27 代 (L102g27) 之個體親緣關係樹。

Fig. 1. The individual phylogenetic tree of the 11th (WTg11) and 15th (WTg15) generation of germplasm-conserved White Tsaiya duck and the 27th generation of Ilan White Tsaiya TLRI NO.1 (L102g27) from the 11 Brown Tsaiya microsatellite markers.

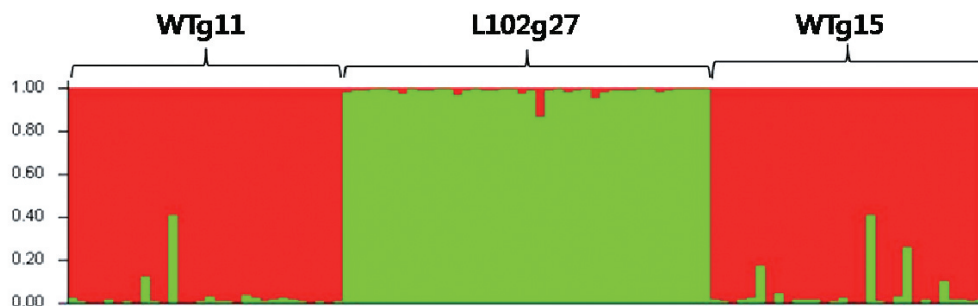


圖 2. 保種白色菜鴨第 11 代 (WTg11)、第 15 代 (WTg15) 與宜蘭白鴨臺畜一號第 27 代 (L102g27) 族群以 STRUCTURE 軟體進行分群分析之結果。此圖可能分群數 (K) 設為 2；Q：個體基因源自該群集之比例，不同群集以不同顏色表示，縱軸每圖條代表一個體。

Fig. 2. Genetic cluster analysis for the 11th (WTg11) and 15th (WTg15) generation of germplasm-conserved White Tsaiya duck and the 27th generation of Ilan White Tsaiya TLRI NO.1 (L102g27) populations using STRUCTURE software. K: possible number of subpopulation; Q: proportional membership of White Tsaiya ducks to genetic clusters. Colors correspond to different genetic clusters. Each vertical bar represents a single individual.

結 論

綜合遺傳變異與結構分析之結果，雖保種白色菜鴨自第 11 代至第 15 代間可能因輪迴雜交系統一度中斷，造成遺傳多態性稍降及兩世代各有其特有交替基因，然其程度尚未造成兩世代顯著分群，加上性狀監測並無明顯差異，故推測暫無顯著近親衰退危機。另一方面，宜蘭白鴨臺畜一號與保種白色菜鴨雖同屬白色菜鴨，外型上亦幾乎相同，但因其之長期選拔歷程，使兩族群遺傳組成迥異；而比較目前曾進行遺傳分析之各鴨群，宜蘭白鴨臺畜一號第 27 代族群之遺傳多態性亦明顯偏低。然自性能表現與 F_{IS} 值來看，宜蘭白鴨臺畜一號目前應無嚴重近親衰退情事，故應將本次遺傳分析結果作為此族群之多樣性基準，供日後持續進行遺傳監測比較，並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 (103 農科 -2.1.7-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

- 臺灣省畜產試驗所。1985。「白色菜鴨新品種登記命名送審報告」。
- 周光宇、黃暉煌。1970。臺灣的養鴨。中國農村復興委員會畜牧第 8 號：p 3-4。臺北。
- 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(4)：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。2011。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 100 年度科技計畫研究報告。
- 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。2013。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 102 年度科技計畫研究報告。
- 戴謙、劉瑞珍、蕭懿文、黃暉煌。1986。宜蘭白菜鴨產蛋性狀的遺傳數據估算。臺灣省政府農林廳畜產試驗評議會試驗研究報告。
- Dieringer, D. and C. Schlötterer. 2003. MICROSATELLITE ANALYSER (MSA): a platform independent analysis tool for large microsatellite data sets. Mol. Ecol. Notes 3: 167-169.
- 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 available at: <http://evolution.gs.washington.edu/phylip.html>.
- 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.
- 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.
- 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.
- 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.
- 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 germplasm-conserved White Tsaiya duck and Ilan White Tsaiya TLRI NO.1 by microsatellite markers ⁽¹⁾

Yi-Ying Chang ⁽²⁾ Hsiu-Chou Liu ⁽²⁾ Yi-Chen Chen ⁽³⁾ Shih-Torng Ding ⁽⁴⁾ Pei-Hwa Wang ⁽⁴⁾
En-Chung Lin ⁽⁴⁾ Meng-Chin Hsiao ⁽⁵⁾ and Jeng-Fang Huang ⁽²⁾⁽⁶⁾

Received: Aug. 3, 2015; Accepted: Mar. 29, 2016

Abstract

In this study, we applied the 11 Brown Tsaiya duck-derived microsatellite markers to conduct a genetic analysis to the 11th (WTg11) and 15th (WTg15) generation of germplasm-conserved White Tsaiya ducks and made comparison with the 27th generation of Ilan White Tsaiya TLRI NO.1 (L102g27). Compared with the WTg11 population, the WTg15 population had lower genetic diversity, and there was slight genetical difference between the two generations; this may be caused by one-time pulse of rotation crossbreeding system. In the comparison between the selected (L102g27) and conserved (WTg11 and WTg15) populations, the F_{ST} values indicated that there was nearly high differentiation between the two homologous populations, supposed to be resulted from the long-term selection over 20 generations for the body size and white feather color after the isolation of conserved line; it may also lead to obviously lower genetic diversity in selected White Tsaiya ducks than other Tsaiya breeds (lines). For ensuring genetic diversity of local duck breeds and achieving sustainable production, in the future, the result of genetic analysis in this study would be applied as a baseline for following monitoring.

Key words: Microsatellite markers, Genetic structure, Germplasm conservation, White Tsaiya duck, Ilan White Tsaiya TLRI NO.1.

(1) Contribution No. 2384 from Livestock Research Institute, Council of Agriculture, Executive Yuan.

(2) ILan Branch, Livestock Research Institute, Council of Agriculture, Executive Yuan, 28-1 Je Hsui Rd., Wu-Chieh, Ilan 268, Taiwan, R.O.C.

(3) Department of Animal Science and Biotechnology, Tunghai University, No.1727, Sec. 4, Taiwan Blvd., Xitun District, Taichung 40704, Taiwan, R.O.C.

(4) Department of Animal Science and Technology, National Taiwan University, No. 50, Lane 155, Sec. 3, Keelung Rd., Taipei 10672, Taiwan, R.O.C.

(5) Taitung Branch of Tea Research and Extension Station, Council of Agriculture, Executive Yuan, 66 Beier Road, Luye Township, Taitung 955, Taiwan, R.O.C.

(6) Corresponding author, E-mail: huangajf@mail.tlri.gov.tw.