

微衛星標記應用於褐色菜鴨復養族群配種制度建立⁽¹⁾

張怡穎⁽²⁾⁽⁴⁾⁽⁵⁾ 陳若菁⁽³⁾ 張喬茵⁽²⁾ 郭雅心⁽²⁾ 鄭智翔⁽²⁾
蘇晉暉⁽²⁾ 魏良原⁽²⁾ 陳志峰⁽⁴⁾ 張經緯⁽²⁾

收件日期：114 年 4 月 16 日；接受日期：114 年 7 月 1 日

摘 要

褐色菜鴨高飼效品系為畜產試驗所東區分所透過殘差飼料採食量 (residual feed consumption, RFC) 選拔建立之新品系，2022 年因禽流感疫情，包含前述品系在內的所有種鴨族群皆遭防疫處置，2023 年始自己技術轉移的商業種鴨場引回無系譜族群進行復養。為確保引回種原及後代之類緣關係及遺傳多態性，本研究應用 11 組微衛星標記，自疫前族群模擬不同選配模式。結果顯示在四種模擬選配策略中，以最大分群遺傳距離法可最有效維持遺傳多態性。本研究進一步應用該法自復養族群繁殖其子代，並分析跨世代遺傳變異與族群結構變化。結果顯示，復養族群遺傳變異與疫前族群相當，惟復養子代則有遺傳變異下降趨勢，推測與另加選拔條件、候選種鴨數較少及繁殖時種鴨生殖狀態受限有關。遺傳結構分析結果亦顯示，同品系間，復養族群子代與其親代及疫前族群無明顯分化 (differentiation) 或僅有輕度分化；而比較同世代褐色菜鴨高飼效及其對照品系時，結果顯示隨復養後恢復選拔，兩品系間分化亦恢復上升。綜上所述，本研究提出一套適用於無系譜族群之可行配種策略，未來將應用於其他復養族群，並持續進行跨世代遺傳監測，以確保復養族群及其後代的遺傳多態性與族群穩定性，促其永續經營與應用。

關鍵詞：褐色菜鴨、微衛星標記、遺傳距離、配種策略。

緒 言

為提升蛋鴨飼料效率，畜產試驗所東區分所 (前為畜產試驗所宜蘭分所，以下簡稱東區分所) 於 2009 年自褐色菜鴨畜試一號建立褐色菜鴨高飼效品系，依據個體殘差飼料採食量 (residual feed consumption, RFC) 之表型值或育種價進行種鴨挑選 (行政院農業委員會，2018)。此品系於 2018 年完成命名，不僅與作為對照品系的褐色菜鴨畜試一號相同，具有高產蛋及蛋重較大的特性，相較對照品系可節省約一成飼料採食量。此品系於命名後持續選拔，並將該品系藉由技術移轉輔導推廣至商業種鴨場以提升產業生產效率。

商業種鴨場以營利為目的，管理模式不同於東區分所，無法將引進的種原進行系統性的保種作業。考量遺傳多態性為物種適應環境與持續選育之基礎資源 (Larbi *et al.*, 2018)，地方家禽常在缺乏系統選拔及未受控配種下亦面臨被高產商業品系取代之風險 (Malomane *et al.*, 2019)，因此，東區分所除了執行種鴨育種外，亦肩負種原保存責任。為進行保種或選拔，由於受限於飼養空間，各品系的族群大小僅在 200 隻至 400 隻之間，且皆為閉鎖族群，為避免嚴重近親衰退，需參考系譜資訊制定族群管理策略。如保種褐色菜鴨、白色菜鴨及五結黑色番鴨等 3 個種原保存鴨群皆分為 15 個家族，每年採輪迴配種制度繁殖下一代；而選育族群如褐色菜鴨畜試一號、高飼效品系、畜試三號、宜蘭白鴨台畜一號、五結白鴨、季新鴨及白色番鴨畜試 1 號，則依性能將候選種鴨排序，分為 12 – 20 個父系家族，再依系譜挑選母鴨，避開全、半同胞進行配種。

然東區分所之選育及保種鴨群於 2022 年 11 月因禽流感疫情進行防疫處置，原各項選拔計畫被迫中止。為維護國家珍貴畜產遺傳資源，並持續進行種鴨選育及其他鴨隻相關研究，本團隊自先前推廣至民間種鴨場之族群重新引入復養，然民間種鴨場因商業運作考量，多採 5,000 隻以上大群混養，未保有個體系譜資訊，難以應用前述輪迴配種或避開全、半同胞的方式進行配種。

(1) 農業部畜產試驗所研究報告第 2832 號。
(2) 農業部畜產試驗所東區分所。
(3) 農業部畜產試驗所遺傳生理組。
(4) 國立中興大學動物科學系。
(5) 通訊作者，E-mail: yychang@mail.tlri.gov.tw。

Fernández *et al.* (2011) 提出，族群管理有兩大影響因素，其一為所挑選的動物將直接決定後續最大有效族群數量，其二則為配種制度。對於沒有系譜的動物，利用充足分子標記資訊取代系譜資訊，或是直接依現有動物分群結構制定配種計畫。若僅逢機挑選動物配種，在各族群皆歷經長期選拔下，可能更進一步喪失基因多樣性，更易近親衰退，或影響後續選拔改進的空間及族群對環境變化的適應能力 (Chang *et al.*, 2023)。

綜合以上考量，儘管東區分所已有既定的配種制度，如何挑選種鴨以在套用相關制度後保留原族群遺傳特性仍是一大挑戰；此外，民間大群混養的方式也不利於依據分群資訊進行精細配種。在缺乏系譜資訊的族群中，應用分子標記進行遺傳監測與配種策略規劃，已逐漸成為可行替代方案 (Gorjanc and Hickey, 2018; Meuwissen *et al.*, 2020)。本研究即以褐色菜鴨高飼效品系及其對照品系為例，運用微衛星標記，分群遺傳距離作為配種依據，建立以個體平均遺傳距離為基礎的種鴨挑選方法，並制定配種表，重建系譜供後續應用，以促進各品系永續經營與發展。

材料與方法

I. 試驗動物

本試驗之供試動物為東區分所育成之褐色菜鴨高飼效品系及其對照品系的疫前族群 (第 12 代)、復養族群及其子代。疫前族群包括褐色菜鴨高飼效品系 78 公 155 母及對照品系 56 公 89 母共 380 隻個體，復養族群係利用保生種鴨畜牧場先前技轉族群所產種蛋孵化，經抗體檢測後引回東區分所，包括褐色菜鴨高飼效品系 44 公 109 母及對照品系 26 公 61 母共 240 隻個體。另自復養族群應用本試驗制定的方法繁殖子代，實際配種生產高飼效品系雛鴨 200 隻及對照品系 165 隻，自兩品系復養子代再分別逢機挑選公鴨 10 隻及母鴨 20 隻進行試驗。另與先前研究 (Chang *et al.*, 2023) 獲得之褐色菜鴨高飼效品系及其對照品系兩品系的第 2、4、5、6、7 及 8 代進行比較。

本研究涉及之動物試驗於東區分所執行，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照護及使用小組 (畜試宜動字第 112-07 號) 及畜產試驗所東區分所實驗動物照護及使用小組 (畜試東字第 113-05 號) 核准之試驗準則進行。

本計畫自前述試驗動物之翅靜脈採集新鮮血液，依 Gentra Puregene Blood Kit (QIAGEN, Netherlands) 說明書指示並參考 (Bush *et al.*, 2005) 調整用於萃取的血量以進行基因組 DNA 之萃取。所得基因組 DNA 置入 -20°C 冷凍櫃保存備用。

II. 微衛星標記基因型鑑別

本研究利用之微衛星標記係篩選自褐色菜鴨 (Hsiao *et al.*, 2008)，挑選具較佳多態性者如表 1，包括 APT001、APT004、APT008、APT010、APT012、APT017、APT020、APT025、APT026、APT032 及 APT033 等共 11 組 (位於第 1、2、3、7 及 Z 號染色體)。取試驗動物基因組 DNA 進行 PCR，其反應總體積為 10 μ L，其中包含 50 ng 模板基因組 DNA、正反引子各 0.2 μ M、1X PCR buffer、1.5 mM MgCl₂、0.2 mM dNTP 及 0.375 U *Taq* DNA polymerase (TAKARA Co., Japan)。反應條件為 94°C 變性 10 分鐘，接著進行以下循環 30 次，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 10 分鐘。PCR 反應後，以 TBE 緩衝液製備 1% 瓊脂糖膠體進行電泳確認產物。基因型鑑別委請畜產試驗所臺灣畜產種原中心進行，經 ABI 3500 序列分析儀分析，以 GeneMapper 讀取各標記片段大小，再以人工整理分型。

III. 族群遺傳變異與遺傳結構分析

為模擬褐色菜鴨高飼效品系以不同策略配種後的族群遺傳多態性變化情形，本研究利用自行撰寫的 R 程式計算各標記的遺傳變異，包括交替基因數目 (Number of alleles, N_a)、有效交替基因數目 (Number of effective alleles, N_e) (Kimura and Crow, 1964)、觀測 (Observed heterozygosity, H_o) 與期望異質度 (Expected heterozygosity, H_e) (Nei, 1978)、多態性訊息含量 (Polymorphic information content, PIC) (Botstein *et al.*, 1980) 及 Wright's F-statistics 之族群近交係數 (Wright's F-statistics)。再利用 Cervus 3.0 軟體 (Kalinowski *et al.*, 2007) 針對前項所得基因型資料進行哈溫平衡 (Hardy-Weinberg equilibrium) 檢定 (Guo and Thompson, 1992)。族群分析部分使用 FSTAT 2.9.3 (Goudet, 2001) 依 (Weir and Cockerham, 1984) 所述估算族群兩兩之間之族群間分化指數 (among population genetic differentiation, F_{ST})，以評估族群間分化程度。並利用統計軟體 R 的 adegenet 套件進行族群主座標分析 (Principal coordinate analysis) 並繪圖 (Jombart and Ahmed, 2011)。

IV. 配種規畫與子代基因型模擬

本研究模擬四種利用微衛星基因型進行挑選種鴨並配種的方式，第一種方式係根據褐色菜鴨高飼效品系 G12 (疫前族群) 實際配種表及個體基因型，模擬產生受防疫處置子代基因型，因有 1 家族公鴨未能留存 DNA 樣本，為使實際系譜與不同策略模擬得以對照，故統一以 11 群進行模擬。配種表共分為 11 個公鴨家族，並依系譜挑選避開全、半同胞母鴨，共配對 11 公與 44 母。子代基因型依孟德爾遺傳定律進行模擬，每組微衛星標記分別從父母基因型各隨機獲得一個交替基因，並隨機指定性別。仿照實際留種方式，每隻種母鴨保留 3 公 4 母子代，達到預定性別留種數後，隨機移除多餘性別個體。每次模擬共產生 308 個子代個體基因型，為避免單次採樣基因型造成偏差，前述流程共模擬 100 次。

表 1. 菜鴨微衛星標記各組別之引子序列、煉合溫度及位於鴨染色體編號

Table 1. Primer sequences, annealing temperatures, and chromosome locations of the microsatellite markers in Tsaiya ducks

Locus ¹	Primer sequences (5' → 3')	Ta (°C) ²	Chr. ³	Duck genome scaffold no. ⁴
APT001	F: GTCCCACTGGTTGCTGTCC R: ACTACGCATGGCAGTGAGGTT	60	Z	1,509
APT004	F: GGGCAGGAAAATCTCCTGAAT R: TCTCAGTGGCTGAGCGGTC	60	3	192
APT008	F: CAAAGAAATCCTAGAACATCATTCAAAT R: TCTTCTGGCTTTTCACCTTAGTTTAGTA	60	1	358
APT010	F: CACTCAGGCTTTTAGGTCCATTAATA R: CATCTGAGAATGCACTTACTGTCAAA	60	2	1,199
APT012	F: TTGAGCCTCAGGTTCTAAACTCCTA R: TCATAACATTTTCAGACCAGTTTTCAGA	60	2	5
APT017	F: TGGATGGACAGACGGGTGA R: TGGAAGTTTTGATTTCTAGTGCTTACA	60	1	481
APT020	F: TTCCAAGTTTGTGTCATGCCAATAGA R: CTGACCATGTTAGGGCGTTTTAG	60	1	197
APT025	F: TCCTAAGAAACGTTGCTTCATAGACC R: GAGTTAAGCTTCATCACTCTGTGACTG	60	2	121
APT026	F: CCCTGAAAGGCTGTTTTATATATCCA R: ATGTAAATAAAGTAGCCTTGACCGGT	60	7	477
APT032	F: TCACTTCTTGACTCTCCTTGGTTT R: TGACTTGAATTCTGTTTCAGGATAAATG	60	2	45
APT033	F: CTTACCCCTACCTCATAAGGAACTG R: ATTCCAAATCTGCAAGGTGAGTATTA	60	Z	14

¹ Hsiao *et al.* (2008), developed from Tsaiya ducks.

² Annealing temperature.

³ Location on the duck chromosome.

⁴ Orthologous microsatellites in the duck genome scaffold.

第二與三種方式，則分別依最大與最小平均遺傳距離進行配種。為配合實務配種流程中需以家族為單位進行配種操作，本研究採兩階段策略制定配種表。首先以統計軟體 R 的 *poppr* 套件 (Kamvar *et al.*, 2014) 計算 Prevosti's distance (Prevosti *et al.*, 1975)，此遺傳距離不考慮突變及基因漂變，其比較個體交替基因差異的數量，並考慮了觀測差異與全體差異的比例，適用於各種類型分子標記。接著依此以 K-means 法 (Hartigan and Wong, 1979) 將公鴨與母鴨分別分為 11 群，再計算各分群間之 Nei's distance (Nei, 1978)，因設定每個公鴨家族與 4 隻以上母鴨配種，為避免種母鴨數量不足，每個公鴨分群先挑選遺傳距離前 6 個最大或最小的母鴨分群形成待配分群，再自每個待配分群依序隨機挑選公鴨，並依遺傳距離大小自待配種母鴨分群挑選母鴨，使每隻公鴨最後配對 4 個分群母鴨，再依第一種方式模擬產生 100 組 308 個子代基因型。

第四種方式則將公母個體分別隨機分配成 11 個分群，即未參考個體基因型與分群間的遺傳距離即形成待配分群，再依第二、三種方式產製配種表，及模擬產生 100 組 308 個子代基因型。

除第一種方式係根據實際系譜模擬子代基因型，故未另製作待配分群，而是直接模擬子代基因型，其他模

擬方式皆重複種鴨挑選後始模擬產生子代基因型。四種模擬方式產生之子代基因型，均進一步利用自行撰寫的 R 程式估算族群遺傳變異平均值與標準偏差，以評估不同選配模式對遺傳變異的影響。

V. 種鴨挑選配種模式驗證

鑒於前段模擬結果，本研究進一步以最大遺傳距離法實際進行復養族群的分群及配種，惟考量需儘量維持遺傳多態性，在引回復養族群中儘可能提高公鴨家族數與每個家族配種母鴨數，故將褐色菜鴨高飼效品系所有公鴨與母鴨依基因型分別分為 12 個分群，最終依據各公鴨分群所對應遺傳距離最大的 4 個母鴨分群，各自挑選 1 隻母鴨，製成模擬配種表，如同前段所述模擬產生 100 組子代基因型供計算各項遺傳變異。

另依模擬配種表結果，實際於高飼效品系中挑選 12 公 43 母 (選拔率 27 及 39%)，對照品系則選出 9 公 38 母 (選拔率 35 及 62%)。對照品系因參考主座標分析結果後，共剔除 4 隻明顯偏離族群分布個體，進而限制公母鴨分群數量，最終僅能分出 9 個公鴨分群。兩品系進行實際配種。最終繁殖出高飼效品系雛鴨 200 隻、對照品系 165 隻，自兩品系復養子代中分別隨機抽樣公鴨 10 隻與母鴨 20 隻進行微衛星標記檢測，並與疫前族群、復養族群及模擬復養子代進行比較，以確認遺傳多態性及族群結構變化情形。

結果與討論

I. 褐色菜鴨高飼效品系與對照品系疫前族群之遺傳變異分析

褐色菜鴨高飼效品系及其對照品系疫前族群 (G12) 於 11 組菜鴨微衛星標記的遺傳變異分別如表 2 至表 3。兩品系皆觀測到 57 個交替基因，高飼效品系與對照品系於各基因座所含交替基因數分別為 3 至 7 個與 3 至 8 個，平均每基因座皆含 5.2 個交替基因，平均有效交替基因數分別為 2.6 及 2.7 個有效交替基因。高飼效品系的平均觀測異質度為 0.532，平均期望異質度為 0.601，而對照品系的平均觀測異質度為 0.518，平均期望異質度為 0.582。高飼效品系的多態性訊息含量平均為 0.529，對照品系多態性訊息含量平均則為 0.527，兩品系在 11 組微衛星標記中，皆有 7 組標記具高度多態性 ($PIC > 0.5$)。

表 2. 菜鴨微衛星標記各組別於褐色菜鴨高飼效品系第 12 代之遺傳變異 (N = 233)

Table 2. Genetic variation at the microsatellite markers in the 12th generation of the Better Feed Efficiency Brown Tsaiya (BFEBT) line (N = 233)

Locus	Fragment (bp)	N_a^1	N_e^2	H_o^3	H_e^4	PIC^5	F_{is}^6
APT001*	178 – 206	6	2.4	0.275	0.591	0.509	0.536
APT004	286 – 314	7	3.3	0.648	0.698	0.658	0.071
APT008*	168 – 192	7	2.7	0.639	0.636	0.574	-0.005
APT010	180 – 208	7	2.0	0.511	0.495	0.431	-0.033
APT012	177 – 205	6	3.3	0.717	0.694	0.633	-0.032
APT017	173 – 185	4	2.6	0.541	0.615	0.545	0.120
APT020	177 – 201	5	2.9	0.639	0.650	0.584	0.016
APT025*	105 – 121	5	2.3	0.433	0.561	0.468	0.227
APT026	130 – 146	4	3.8	0.798	0.736	0.688	-0.084
APT032	207 – 259	3	1.8	0.408	0.434	0.342	0.061
APT033*	258 – 266	3	2.0	0.240	0.505	0.390	0.524
Average		5.2	2.6	0.532	0.601	0.529	0.127
SD		1.5	0.6	0.178	0.095	0.112	0.216

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.

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

表 3. 菜鴨微衛星標記各組別於對照品系第 12 代之遺傳變異 (N = 145)

Table 3. Genetic variation at the microsatellite markers in the 12th generation of the control Brown Tsaiya line (N = 145)

Locus	Fragment (bp)	N _a ¹	N _e ²	H _o ³	H _e ⁴	PIC ⁵	F _{IS} ⁶
APT001*	178 – 206	7	2.4	0.255	0.588	0.502	0.566
APT004	290 – 314	5	2.2	0.586	0.537	0.479	-0.092
APT008*	172 – 196	7	4.6	0.676	0.783	0.752	0.137
APT010	188 – 212	5	3.2	0.703	0.690	0.634	-0.019
APT012	177 – 209	8	3.3	0.731	0.696	0.642	-0.050
APT017	173 – 189	5	1.6	0.303	0.384	0.361	0.210
APT020	177 – 201	5	3.4	0.717	0.703	0.650	-0.021
APT025*	105 – 117	4	2.7	0.352	0.623	0.561	0.436
APT026	130 – 146	5	2.7	0.717	0.625	0.581	-0.148
APT032	207 – 259	3	1.7	0.379	0.399	0.322	0.048
APT033*	258 – 266	3	1.6	0.283	0.378	0.314	0.252
Average		5.2	2.7	0.518	0.582	0.527	0.120
SD		1.6	0.9	0.201	0.141	0.146	0.227

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.

* Represented significant (P < 0.01) departure from Hardy-Weinberg equilibrium.

比較褐色菜鴨高飼效品系與對照品系的第 12 代與先前世代 (Chang *et al.*, 2023) 的遺傳變異，各項多態性略高於第 8 代，尤以交替基因數為甚，推測由於第 12 代的樣本幾乎涵蓋族群所有個體，因此相較於其他先前世代觀測到較高交替基因數及多態性。其他各項變異則與歷代族群差異不大，有效交替基因數與族群近交係數亦與先前世代相近，顯示先前由每個家族平均挑選公母鴨進行遺傳監測的方式，確實可有效反映全族群的遺傳多態性。

II. 基於疫前族群不同選配模式模擬子代之遺傳變異

為評估以基因型資訊進行種鴨選配的可行性，本研究取前述褐色菜鴨高飼效品系疫前族群 (G12) 中種鴨個體的基因型，模擬四種不同配種模式以產子代族群，並供後續遺傳變異分析，分別為：

- (i) 根據實際系譜模擬子代的基因型。
- (ii) 依最大分群遺傳距離進行種鴨挑選及配種。
- (iii) 依最小分群遺傳距離進行種鴨挑選及配種。
- (iv) 重複隨機分配種鴨至公母分群、挑選種鴨配對。

除第一種方式直接根據實際系譜重複模擬產生子代外，其他三種每次皆重複種鴨挑選再產生子代，各模式皆產生 100 個族群，每個族群生產 308 隻個體。結果顯示如表 4。

比較四種選配模式，雖然有效交替基因數在根據實際系譜的方法中最高，但與最大平均分群遺傳距離法差異不大。多態性資訊含量在四種模擬方式皆相近，另各方法的族群近交係數皆不高，可能與四種模擬方式的假設皆符合孟德爾遺傳定律有關。整體來看，不同的模擬方式在各遺傳變異並無明顯差異，但以最大平均分群遺傳距離法在多數遺傳變異指標表現較高，顯示其具維持遺傳多態性的潛力。此外，實際系譜法於各項遺傳變異的標準偏差皆低於其他組別，尤其是交替基因數及有效交替基因數，顯示此兩項變異於確定配種個體時即已固定，不易因配種批次產生變動。而在需重複挑選種鴨的三種模式中，最大與最小分群遺傳距離法在各項遺傳變異的差異最大，顯示除了分群總數外，如何將種鴨分配至各群，仍會影響最終遺傳變異。基於模擬結果，後續試驗將採最大分群遺傳距離法做為復養族群選配的依據。

表 4. 褐色菜鴨高飼效品系模擬生產 308 隻子代之平均遺傳變異

Table 4. Average genetic variation in simulated offspring (308 individuals) of the BFEBT line under different mating strategies

Mating strategies in simulation ¹	N_a^2	N_e^3	H_O^4	H_E^5	PIC ⁶	F_{IS}^7
Based on actual pedigree repeated mating	4.27 ± 0.01	2.65 ± 0.02	0.590 ± 0.006	0.591 ± 0.003	0.522 ± 0.002	0.001 ± 0.011
Repeated selecting breeder and mating based on maximum average inter-cluster genetic distance	4.39 ± 0.19	2.61 ± 0.05	0.646 ± 0.013	0.596 ± 0.007	0.522 ± 0.007	-0.091 ± 0.020
Repeated selecting breeder and mating based on minimum average inter-cluster genetic distance	4.16 ± 0.18	2.58 ± 0.06	0.582 ± 0.013	0.586 ± 0.009	0.515 ± 0.009	0.009 ± 0.019
Random clustering and random mating	4.28 ± 0.19	2.58 ± 0.06	0.601 ± 0.017	0.588 ± 0.010	0.518 ± 0.009	-0.021 ± 0.025

¹ Except for the pedigree-based simulation, which repeated mating directly in 100 populations, all other simulations involved repeated selection of breeders prior to mating (100 populations each). For all simulations, each breeding female was retained to produce 3 male and 4 female offspring.

² Number of alleles.

³ Effective number of alleles.

⁴ Observed heterozygosity.

⁵ Expected heterozygosity.

⁶ Polymorphic information content.

⁷ Wright's fixation index, within population inbreeding estimate and standard deviations.

III. 實際復養族群及基於其模擬復養子代之遺傳變異

褐色菜鴨高飼效品系及其對照品系復養族群 (S1R 及 C1R) 的遺傳變異分別如表 5 至表 6，褐色菜鴨高飼效品系復養族群共觀測到 55 個交替基因，各基因座所含交替基因數為 2 至 8 個，平均每基因座含 5.0 個交替基因，有效交替基因數介於 1.7 至 4.0 個，平均每基因座具有 2.7 個有效交替基因。觀測異質度介於 0.431 到 0.843，平均為 0.617；期望異質度介於 0.403 到 0.747，平均為 0.600。多態性訊息含量介於 0.322 到 0.714，平均為 0.537。而其對照品系復養族群共觀測到 56 個交替基因，各基因座所含交替基因數為 2 至 8 個，平均每基因座含 5.1 個交替基因，有效交替基因數介於 1.6 至 5.1 個，平均每基因座具有 3.0 個有效交替基因。觀測異質度介於 0.333 到 0.839，平均為 0.642；期望異質度介於 0.387 到 0.804，平均為 0.627。多態性訊息含量介於 0.312 到 0.778，平均為 0.572。

表 5. 菜鴨微衛星標記各組別於褐色菜鴨高飼效品系復養族群之遺傳變異 (N = 153)

Table 5. Genetic variation at the microsatellite markers in the recovered BFEFT population (N = 153)

Locus	Fragment (bp)	N _a ¹	N _e ²	H _o ³	H _e ⁴	PIC ⁵	F _{is} ⁶
APT001*	178 – 206	7	4.0	0.562	0.747	0.714	0.248
APT004	290 – 314	6	2.2	0.569	0.556	0.521	-0.024
APT008*	184 – 196	4	2.6	0.582	0.615	0.546	0.054
APT010	192 – 212	4	2.0	0.556	0.496	0.419	-0.119
APT012	177 – 205	7	3.5	0.843	0.716	0.663	-0.178
APT017	169 – 189	6	2.6	0.660	0.611	0.550	-0.080
APT020	173 – 201	8	3.3	0.810	0.698	0.644	-0.161
APT025*	101 – 121	4	2.3	0.569	0.570	0.488	0.002
APT026	130 – 146	4	3.4	0.758	0.704	0.648	-0.077
APT032	207 – 259	2	1.7	0.451	0.403	0.322	-0.120
APT033*	258 – 270	3	1.9	0.431	0.481	0.391	0.103
Average		5.0	2.7	0.617	0.600	0.537	-0.032
SD		1.9	0.8	0.136	0.111	0.125	0.128

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.

* Represented significant (P < 0.01) departure from Hardy-Weinberg equilibrium.

與疫前族群及先前第 2、4、5、6、7 及 8 世代 (Chang *et al.*, 2023) 相較，兩品系的交替基因數相近，有效交替基因數與觀測異質度則以復養族群略高的情形，類似第 12 代的情況，由於復養族群基因型鑑定包含族群所有個體，推測因此使觀測到的交替基因及多態性略高於前幾代，而有效交替基因數在不同世代間則大致相近，顯示復養族群無明顯多態性喪失問題。

模擬子代之遺傳變異結果如表 7 所示，係以褐色菜鴨高飼效品系及其對照品系復養族群基因型資料利用最大分群遺傳距離法後挑選種鴨，並模擬產生 336 隻子代基因型之遺傳變異，共重複 100 次取平均值及標準偏差。結果顯示高飼效品系的交替基因數為 4.76 ± 0.10 ，有效交替基因數為 2.58 ± 0.04 ，觀測異質度與期望異質度分別為 0.590 ± 0.011 與 0.584 ± 0.006 ，多態性訊息含量為 0.521 ± 0.006 。而對照品系的交替基因數為 5.40 ± 0.06 ，有效交替基因數為 3.01 ± 0.05 。該品系的觀測異質度與期望異質度分別為 0.644 ± 0.010 和 0.631 ± 0.005 ，多態性訊息含量為 0.575 ± 0.005 。

與復養族群及先前世代相較，高飼效品系的模擬子代各項遺傳變異稍低於 G12 及復養族群，尤其是平均交替基因數明顯較低，但仍高於先前其他世代；而對照品系的模擬子代則略高於復養族群及先前世代。兩品系以最大平均遺傳距離模擬生產的子代，其遺傳變異皆與復養族群接近，此與疫前第 12 代族群模擬結果相似。

IV. 實際復養子代之遺傳變異

褐色菜鴨高飼效品系及其對照品系復養族群子代 (S2R 及 C2R) 各逢機採樣 10 公 20 母，其遺傳變異分別如表 8 至表 9，褐色菜鴨高飼效品系復養族群共觀測到 38 個交替基因，各基因座所含交替基因數為 2 至 5 個，平均每基因座含 3.5 個交替基因，有效交替基因數介於 1.4 至 3.2 個，平均每基因座具有 2.3 個有效交替基因。觀測異質度介於 0.167 到 0.900，平均為 0.527；期望異質度介於 0.260 到 0.692，平均為 0.507。多態性訊息含量介於 0.226 到 0.642，平均為 0.454。而其對照品系復養族群子代共觀測到 38 個交替基因，各基因座所含交替基因數為 2 至 5 個，平均每基因座含 3.5 個交替基因，有效交替基因數介於 1.5 至 2.7 個，平均每基因座具有 2.1 個有效交替基因。觀測異質度介於 0.267 到 0.633，平均為 0.436；期望異質度介於 0.320 到 0.623，平均為 0.515。多態性訊息含量介於 0.269 到 0.564，平均為 0.451。

進一步將疫前族群、復養族群與復養子代之平均遺傳變異彙整於表 10。可看到復養族群子代 (S2R 及 C2R) 在各項遺傳變異上均明顯低於復養族群 (S1R 及 C1R)，尤以交替基因數減少為甚。推測此情形可能與起始候選種鴨篩選，公鴨分群數較低，及僅採樣部分復養子代個體，且未依家族平均採樣等原因有關。

由於復養族群係自技轉場引回，需經類緣關係確認始能納入候選種鴨，參考主座標分析結果後，對照品系共剔除 4 隻明顯偏離族群分布個體，最終僅能分出 9 個公鴨分群；另與模擬時未設定性狀選拔門檻不同，高飼效品系另根據殘差飼料採食量檢定結果篩選種鴨，而兩品系亦需繁殖時能有效採精或有產蛋者才能列入種鴨，對照品系因繁殖期間有產蛋率下降情形，導致種鴨挑選樣本基礎受限，如前面所述，交替基因數與有效交替基因數於挑選種鴨時即大致確立，可能因此造成實際配種時這兩項遺傳變異偏低。文獻指出提高選拔強度雖可加速遺傳改進，然往往伴隨遺傳多態性犧牲 (Zhang *et al.*, 2018; Pocrnic *et al.*, 2023)。故本研究復養子代遺傳變異下降，與疫前族群模擬之結果略有差異，可能與增加選拔門檻、種鴨數受限等有關。此外，復養子代樣本數僅為族群部分個體，雖 Malomanc *et al.* (2021) 研究指出，樣本數少於 15 並不顯著影響雜合度估計，但隨樣本數減少，族群遺傳結構可能更易因個別基因型變異影響，如本研究中復養子代與親代族群全面進行基因型鑑定之規模不同，且亦非如先前世代根據家族平均採樣，可能因此未能完整反映復養族群子代的實際遺傳多態性。

表 6. 菜鴨微衛星標記各組別於對照品系復養族群之遺傳變異 (N = 87)

Table 6. Genetic variation at the microsatellite markers in the recovered control population (N = 87)

Locus	Fragment (bp)	N _a ¹	N _e ²	H _o ³	H _e ⁴	PIC ⁵	F _{IS} ⁶
APT001*	178 – 206	7	5.1	0.701	0.804	0.778	0.128
APT004	290 – 314	6	2.5	0.586	0.605	0.566	0.031
APT008*	184 – 196	4	3.2	0.828	0.684	0.620	-0.209
APT010	192 – 212	4	2.8	0.621	0.642	0.572	0.033
APT012	177 – 205	7	4.4	0.839	0.775	0.740	-0.083
APT017	169 – 189	4	1.9	0.333	0.480	0.430	0.305
APT020	173 – 201	8	3.6	0.701	0.722	0.682	0.029
APT025*	101 – 121	5	2.6	0.563	0.609	0.545	0.076
APT026	130 – 146	5	2.9	0.770	0.659	0.609	-0.168
APT032	207 – 259	2	1.6	0.425	0.387	0.312	-0.100
APT033*	258 – 270	4	2.1	0.690	0.531	0.434	-0.298
Average		5.1	3.0	0.642	0.627	0.572	-0.023
SD		1.8	1.1	0.159	0.125	0.139	0.170

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.

* Represented significant (P < 0.01) departure from Hardy-Weinberg equilibrium.

表 7. 褐色菜鴨高飼效品系及對照品系復養族群依最大平均分群間遺傳距離模擬生產子代 336 隻個體之平均遺傳變異

Table 7. Average genetic variation in 336 simulated offspring per population, based on the maximum average inter-cluster genetic distance strategy using the recovered BFEBT and control populations

Simulated populations ¹	N_a^2	N_c^3	H_o^4	H_E^5	PIC^6	F_{IS}^7
BFEBT line	4.76 ± 0.10	2.58 ± 0.04	0.590 ± 0.011	0.584 ± 0.006	0.521 ± 0.006	-0.011 ± 0.018
Control line	5.40 ± 0.06	3.01 ± 0.05	0.644 ± 0.010	0.631 ± 0.005	0.575 ± 0.005	-0.024 ± 0.014

¹ Breeder selecting was repeated prior to mating in 100 simulated populations. For all simulations, each breeding female was retained to produce 3 male and 4 female offspring, totally 336 individuals per population.

² Number of alleles.

³ Effective number of alleles.

⁴ Observed heterozygosity.

⁵ Expected heterozygosity.

⁶ Polymorphic information content.

⁷ Wright's fixation index, within population inbreeding estimate and standard deviations.

表 8. 11 組菜鴨微衛星標記於褐色菜鴨高飼效品系復養族群子代實際遺傳變異 (N = 30)

Table 8. Actual genetic variation at 11 microsatellite markers in the recovered offspring of the BFEFT line (N = 30)

Locus	Fragment (bp)	N _a ¹	N _e ²	H _O ³	H _E ⁴	PIC ⁵	F _{IS} ⁶
APT001*	178 – 206	3	2.3	0.167	0.566	0.499	0.706
APT004	290 – 314	5	2.3	0.433	0.556	0.525	0.220
APT008*	184 – 196	3	1.9	0.667	0.462	0.404	-0.444
APT010	192 – 212	3	1.4	0.267	0.263	0.241	-0.015
APT012	185 – 205	4	3.1	0.867	0.675	0.619	-0.284
APT017	173 – 189	5	3.0	0.667	0.669	0.609	0.004
APT020	177 – 201	4	2.8	0.733	0.638	0.565	-0.149
APT025*	105 – 117	3	2.1	0.633	0.530	0.440	-0.194
APT026	130 – 146	4	3.2	0.900	0.692	0.642	-0.301
APT032	207 – 259	2	1.4	0.267	0.262	0.228	-0.017
APT033*	258 – 266	2	1.4	0.200	0.260	0.226	0.232
Average		3.5	2.3	0.527	0.507	0.454	-0.022
SD		1.0	0.7	0.270	0.172	0.160	0.320

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.

* Represented significant (P < 0.01) departure from Hardy-Weinberg equilibrium.

表 9. 11 組菜鴨微衛星標記於對照品系復養族群子代之遺傳變異 (N = 30)

Table 9. Genetic variation at 11 microsatellite markers in the recovered offspring of the control line (N = 30)

Locus	Fragment (bp)	N _a ¹	N _e ²	H _O ³	H _E ⁴	PIC ⁵	F _{IS} ⁶
APT001*	178 – 206	3	2.2	0.333	0.551	0.485	0.395
APT004	290 – 306	5	1.9	0.433	0.476	0.422	0.089
APT008*	184 – 196	4	2.7	0.633	0.623	0.560	-0.017
APT010	192 – 212	3	2.1	0.433	0.515	0.434	0.159
APT012	185 – 205	4	2.6	0.467	0.618	0.548	0.245
APT017	177 – 185	3	1.9	0.300	0.466	0.403	0.356
APT020	177 – 197	4	2.6	0.600	0.616	0.564	0.026
APT025*	105 – 117	3	2.2	0.567	0.551	0.485	-0.028
APT026	130 – 146	4	1.9	0.500	0.469	0.429	-0.065
APT032	207 – 259	2	1.5	0.267	0.320	0.269	0.167
APT033*	258 – 270	3	1.8	0.267	0.455	0.366	0.414
Average		3.5	2.1	0.436	0.515	0.451	0.158
SD		0.8	0.4	0.132	0.091	0.090	0.175

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.

* Represented significant (P < 0.01) departure from Hardy-Weinberg equilibrium.

表 10. 褐色菜鴨高飼效品系 (S) 及其對照品系 (C) 第 2、4、5、6、7、8、12 代、復養族群 (S1R 及 C1R) 及復養族群子代 (S2R 及 C2R) 之平均遺傳變異*

Table 10. Average genetic variation in generations 2, 4, 5, 6, 7, 8, and 12 of the BFEFT (S) and control (C) lines, and in the recovered (S1R and C1R) and recovered offspring (S2R and C2R) populations

Line & Generation	N ¹	N _a ²	N _e ³	H _o ⁴	H _e ⁵	PIC ⁶	dHWE ⁷	F _{IS} ⁸
S2	17	3.8	2.5	0.529	0.578	0.499	0	0.090 ± 0.321
S4	26	4.1	2.4	0.517	0.584	0.507	0	0.131 ± 0.252
S5	31	4.0	2.7	0.478	0.618	0.543	0	0.242 ± 0.441
S6	50	4.1	2.7	0.531	0.609	0.538	2	0.134 ± 0.207
S7	48	4.1	2.4	0.496	0.574	0.503	1	0.137 ± 0.208
S8	48	3.5	2.5	0.517	0.580	0.497	2	0.123 ± 0.272
S12	233	5.2	2.6	0.532	0.601	0.529	4	0.127 ± 0.216
S1R	153	5.0	2.7	0.617	0.600	0.537	4	-0.032 ± 0.128
S2R	30	3.5	2.3	0.527	0.507	0.454	1	-0.022 ± 0.320
C2	23	4.1	2.9	0.617	0.639	0.563	0	0.057 ± 0.361
C4	24	3.9	2.9	0.527	0.640	0.561	0	0.173 ± 0.333
C5	29	3.9	2.9	0.473	0.650	0.577	1	0.285 ± 0.446
C6	46	3.9	3.0	0.550	0.636	0.567	2	0.141 ± 0.225
C7	48	3.9	2.6	0.561	0.595	0.530	0	0.084 ± 0.208
C8	48	3.9	2.5	0.504	0.572	0.512	2	0.106 ± 0.252
C12	145	5.2	2.7	0.518	0.582	0.527	4	0.120 ± 0.227
C1R	87	5.1	3.0	0.642	0.627	0.572	4	-0.023 ± 0.170
C2R	30	3.5	2.1	0.436	0.515	0.451	2	0.158 ± 0.411

¹Sample size; ²Number of alleles; ³Effective number of alleles; ⁴Observed heterozygosity; ⁵Expected heterozygosity; ⁶Polymorphic information content; ⁷Number of markers departed from Hardy-Weinberg equilibrium; ⁸Wright's fixation indice, within population inbreeding estimate and standard deviations.

* S12, S1R, S2R, C12, C1R and C2R were conducted in this study, the other populations were conducted in the before studies (Chang *et al.*, 2023).

此外，本研究顯示配種策略可能影響哈溫平衡與族群近交係數：兩品系中偏離哈溫平衡之標記數量皆減少，另相對於對照品系，高飼效品系復養子代之分群數與復養族群相同，加上以最大分群遺傳距離法，族群近交係數維持穩定，反觀對照品系之族群近交係數有上升趨勢，但並未明顯高於早期世代。顯示兩品系並未因復養族群數量受限，造成近交係數劇烈升高之情形。

綜合以上結果，針對無系譜種原之族群復育或繁殖管理，應透過良好飼養管理，使種鴨充分表現性能，儘可能增加候選種鴨的數量，避免如繁殖時期未產蛋等情況，影響最大交替基因數及有效交替基因數，進而減少可分群數及其他遺傳變異。另需避免分群數過少，可透過增加分群遺傳距離法制定配種表。

V. 疫前族群、實際復養族群及復養子代之遺傳結構跨世代比較

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 表低至中至高度分化；而大於 0.25 時表極高度分化。歷代品系間之族群分化結果如表 11 所示，從第 2 代至第 12 代，高飼效品系與對照品系之間的遺傳分化指數呈現增加趨勢。例如，S12 與 C12 之間的 F_{ST} 達到 0.1224，顯示兩品系在第 12 代達到高峰，此現象可能與第 12 代分析個體數較多有關，反映出這些世代間遺傳差異的穩定增加。

而比較同品系復養族群及其子代，表 11 中高飼效及對照品系內的 F_{ST} 分別為 0.0357 及 0.0409，顯示透過本計畫制定之最大分群遺傳距離法繁殖，復養子代與上一世代幾無分化，與疫前族群亦僅有輕度分化（高飼效與對照分別為 0.0524 及 0.0360）。而品系間部分的 F_{ST} ，以復養族群兩品系 (0.1068) 略低於疫前族群 (0.1224)，推測因兩品系自同一技轉場透過種蛋引回，場內有少數個體未能完整分群管理所致。故在繁殖復養子代時，本研究透過微衛星標記釐清兩品系種原，並剔除有疑慮的個體始繁殖配種，可能因此在復養族群子代的 F_{ST} 遽增至 0.1925，恢復原本分化趨勢。

表 11. 利用 11 組微衛星標記分析褐色菜鴨高飼效品系 (S) 及其對照品系 (C) 第 2、4、6、7、8、12 代、復養族群 (SIR 及 CIR) 及復養族群子代 (S2R 及 C2R) 之遺傳分化指數 (對角線右上)

Table 11. Pairwise F_{ST} among generations 2, 4, 6, 7, 8, and 12 of the BFEBT (S) and control (C) lines, and in the recovered (SIR and CIR) and recovered offspring (S2R and C2R) populations (above diagonal)

	S2	C4	S4	C6	S6	C7	S7	C8	S8	C12	S12	C1R	S1R	C2R	S2R
C2	0.0307	0.0054	0.0611*	0.0104	0.0332*	0.0387*	0.0649*	0.0606*	0.0738*	0.0671*	0.0842*	0.0485*	0.1027*	0.1128*	0.1577*
S2		0.0605*	0.0177	0.034	0.0287	0.0804*	0.0387	0.0945*	0.0510*	0.0920*	0.0605*	0.0854*	0.0692*	0.1421*	0.1105*
C4			0.054*	0.0028	0.0405*	0.0276*	0.0773*	0.0353*	0.0657*	0.0470*	0.0821*	0.0368*	0.0949*	0.0871*	0.1401*
S4				0.0428*	0.0191	0.1089	0.0227	0.1172*	0.0127*	0.1083*	0.0378*	0.1001*	0.0470*	0.1569*	0.0758*
C6					0.0217	0.0191*	0.0444*	0.024*	0.0524*	0.0300*	0.0691*	0.0250*	0.0779*	0.0667*	0.1209*
S6						0.0768	0.0008	0.0875*	0.0074*	0.0725*	0.0208*	0.0576*	0.0415*	0.1221*	0.0932*
C7							0.1123*	0.0008	0.1194*	0.0148*	0.1307*	0.0323*	0.1355*	0.0559*	0.1716*
S7								0.1235*	0.0085	0.1053*	0.0237*	0.0861*	0.0502*	0.1557*	0.1016*
C8									0.1271*	0.0175*	0.1382*	0.0380*	0.1413*	0.0502*	0.1703*
S8										0.1097*	0.0074*	0.0958*	0.0241*	0.1686*	0.0650*
C12											0.1224*	0.0184*	0.1217*	0.0360*	0.1546*
S12												0.1051*	0.0180*	0.1770*	0.0524*
C1R													0.1068*	0.0409*	0.1570*
S1R														0.1784*	0.0357*
C2R															0.1925*

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

另利用統計軟體 R 的 *adeigenet* 套件對褐色菜鴨高飼效品系及其對照品系各世代基因型資料進行族群主座標分析，至第二主座標之累積比例分別為 10.4%，取第一與第二主座標繪圖（圖 1）。褐色菜鴨高飼效品系及其對照品系在圖上分布雖成兩群，其中仍有部分交疊，以 S2R 與 C2R 之範圍略小於先前世代，然各世代分布範圍無明顯差異，顯示復養族群與其子代之族群結構仍與疫前族群大致相同。未來仍應定期進行跨世代遺傳監測，以維護珍貴種原。

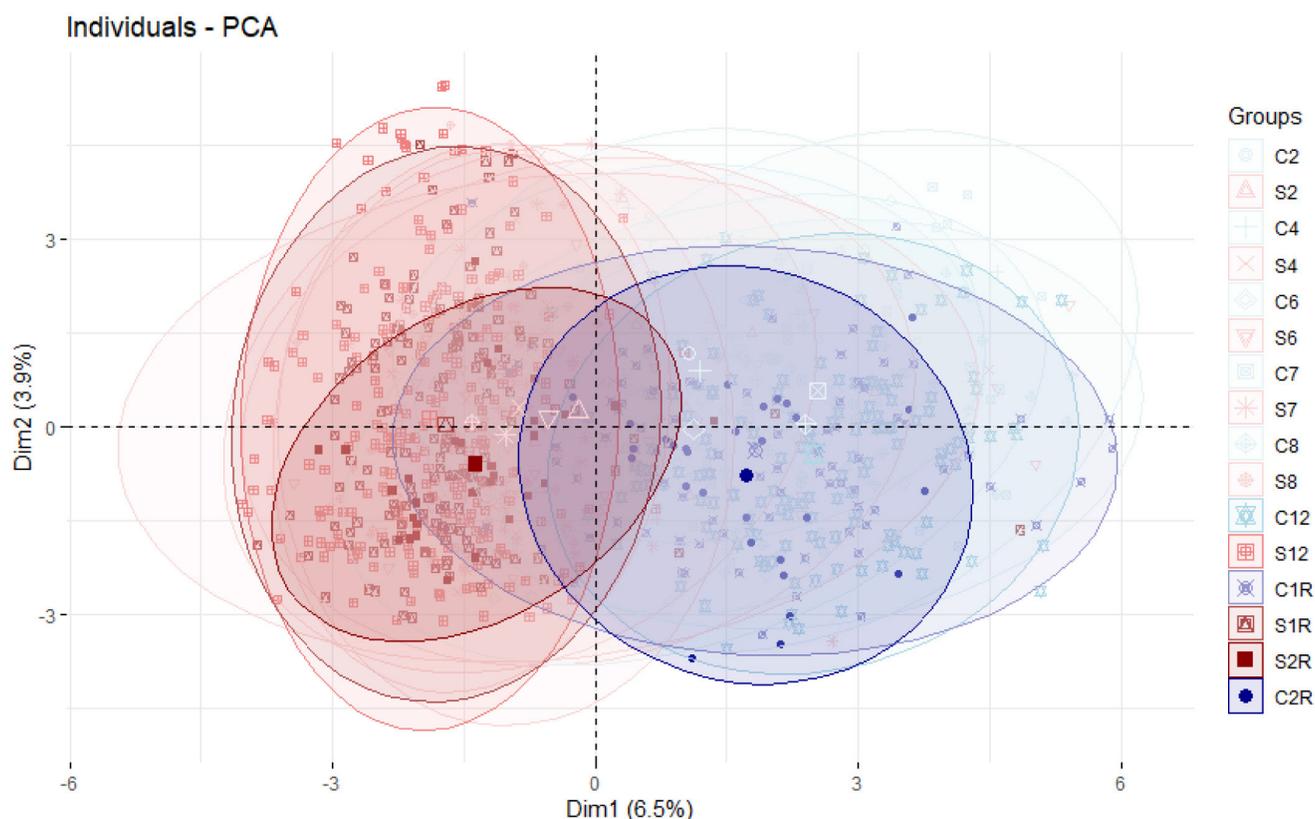


圖 1. 褐色菜鴨高飼效品系(S)及其對照品系(C)第2、4、6、7、8、12代、復養族群(S1R及C1R)及復養族群子代(S2R及C2R)之主座標分析圖，Dim1及2分別表示標記解釋族群遺傳變異的百分比。

Fig. 1. Principal coordinate analysis (PCoA) based on 11 microsatellite markers for generations 2, 4, 6, 7, 8, and 12 of the BFEFT (S) and control (C) lines, and for the recovered (S1R and C1R) and recovered offspring (S2R and C2R) populations. Dim1 and Dim2 represent the percentage of genetic variation explained by the first and second principal coordinates, respectively.

整體而言，族群分化指數與主座標結果分析顯示，褐色菜鴨高飼效品系與對照品系自歷代選拔以來逐漸分化，而復養後經適當管理，族群間結構仍能維持與疫前相近，復養族群與復養族群子代之性能與先前世代亦無顯著差異（未發表資料）。後續應持續進行跨世代族群結構與遺傳多樣性之監測，以維護珍貴種原，確保復育計畫之遺傳穩定性與永續經營。

根據 Zhang *et al.* (2018) 研究，確保育種計畫永續發展的關鍵常用策略包括最小化平均親緣關係、最適貢獻選拔 (Optimum Contribution Selection, OCS)、家族輪迴配種 (需系譜或分群資訊) 等方式，前兩者可透過分子標記應用，由於 OCS 需要全基因體資訊，考量成本及復養引種的時限，本研究仍使用微衛星標記，結果亦顯示在模擬與實際應用中，本法仍具備一定程度的遺傳多態性維持能力。未來將進一步考慮導入 OCS，以獲取遺傳改進及維持多態性間最佳平衡 (Henryon *et al.*, 2015) 或結合共同祖先率等參數 (Pocmic *et al.*, 2023) 的方式，並針對不同配種策略進行之量化比較，以於遺傳改進與多態性維持間取得更佳平衡。

結 論

針對無系譜種原的族群管理，需注意避免減少分群組數、並可透過增加平均組間遺傳距離制定配種方式。最重要的是種鴨挑選，將影響最大交替基因數及有效交替基因數，進而影響其他遺傳變異，此應透過良好飼養管理，使

種鴨能充分表現性能，避免如繁殖時期未產蛋等情況，儘可能增加候選種鴨的數量。本研究相關配種策略將應用至其他復養族群，未來除了持續性狀檢定與遺傳監測，隨分子標記與配種軟體發展，應再結合實務可行的選配策略，兼顧平衡遺傳改進及多態性保存，以因應環境變遷下珍貴種原的永續經營與應用。

誌 謝

本研究承農業部經費支持(112農科-2.5.1-畜-L1(7)、113農科-2.4.1-畜-01(2))。特別感謝畜產試驗所東區分所劉秀洲分所長(退休)概予支持及指導，試驗期間承蒙林秀齡、林美葉、柯惠君、馮國銘及黃順和協助復養、採樣作業，另亦感謝畜產試驗所東區分所宜蘭場區所有同仁與保生種鴨畜牧場協助試驗之進行，特此誌謝。

參考文獻

- 行政院農業委員會。2018。褐色菜鴨高飼效品系審定書。(農牧字第1070042719號)。
- 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(3): 314-331.
- Bush, K. L., M. D. Vinsky, C. L. Aldridge, and C. A. Paszkowski. 2005. A comparison of sample types varying in invasiveness for use in DNA sex determination in an endangered population of greater Sage-Grouse (*Centrocercus urophasianus*). *Conserv. Genet.* 6(5): 867-870.
- Chang, Y. Y., H. C. Liu, and C. F. Chen. 2023. Monitoring changes in the genetic structure of Brown Tsaiya duck selected for feeding efficiency by microsatellite markers. *Anim. Biosci.* 36(3): 417-428.
- Fernández, J., T. H. E. Meuwissen, M. A. Toro, and A. Mäki-Tanila. 2011. Management of genetic diversity in small farm animal populations. *Animal* 5(11): 1684-1698.
- Gorjanc, G. and J. M. Hickey. 2018. AlphaMate: a program for optimizing selection, maintenance of diversity and mate allocation in breeding programs. *Bioinformatics* 34(19): 3408-3411.
- Goudet, J. 2001. FSTAT a program to estimate and test gene diversities and fixation indices (version 293). <https://www2.unil.ch/popgen/softwares/fstat.htm> (Accessed 3/22 2025).
- Guo, S. W. and E. A. Thompson. 1992. Performing the exact test of Hardy-Weinberg proportion for multiple alleles. *Biometrics* 48(2): 361-372.
- Hartigan, J. A. and M. A. Wong. 1979. Algorithm AS 136: A K-means clustering algorithm. *J. R. Stat. Soc. Ser. C (Appl. Stat.)* 28(1): 100-108.
- Henryon, M., T. Ostensen, B. Ask, A. C. Sørensen, and P. Berg. 2015. Most of the long-term genetic gain from optimum-contribution selection can be realised with restrictions imposed during optimisation. *Genet. Sel. Evol.* 47(1): 21.
- 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-Australas. J. Anim. Sci.* 21(5): 624-627.
- Jombart, T. and I. Ahmed. 2011. adegenet 1.3-1: new tools for the analysis of genome-wide SNP data. *Bioinformatics* 27(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(5): 1099-1106.
- Kamvar, Z. N., J. F. Tabima, and N. J. Grünwald. 2014. Poppr: an R package for genetic analysis of populations with clonal, partially clonal, and/or sexual reproduction. *PeerJ* 2: e281.
- Kimura, M. and J. F. Crow. 1964. The number of alleles that can be maintained in a finite population. *Genetics* 49(4): 725-738.
- Larbi, M. B., N. M'Hamdi, and B. Rekik. 2018. The role of genetic diversity conservation in indigenous poultry production. *J. New Sci. Agric. Biotechnol.* 52(4): 3508-3511.
- Malomane, D. K., H. Simianer, A. Weigend, C. Reimer, A. O. Schmitt, and S. Weigend. 2019. The SYNBREED chicken diversity panel: a global resource to assess chicken diversity at high genomic resolution. *BMC Genomics* 20(1): 345.
- Malomane, D. K., S. Weigend, A. O. Schmitt, A. Weigend, C. Reimer, and H. Simianer. 2021. Genetic diversity in global

- chicken breeds in relation to their genetic distances to wild populations. *Genet. Sel. Evol.* 53(1): 36.
- Meuwissen, T. H. E., A. K. Sonesson, G. Gebregiorgis, and J. A. Woolliams. 2020. Management of genetic diversity in the era of genomics. *Front. Genet.* 11: 880.
- Nei, M. 1978. Estimation of average heterozygosity and genetic distance from a small number of individuals. *Genetics* 89(3): 583-590.
- Pocrnic, I., J. Obšteter, R. C. Gaynor, A. Wolc, and G. Gorjanc. 2023. Assessment of long-term trends in genetic mean and variance after the introduction of genomic selection in layers: a simulation study. *Front. Genet.* 14: 1168212.
- Prevosti, A., J. Ocaña, and G. Alonso. 1975. Distances between populations of *Drosophila subobscura*, based on chromosome arrangement frequencies. *Theor. Appl. Genet.* 45(6): 231-241.
- Weir, B. S. and C. C. Cockerham. 1984. Estimating F-statistics for the analysis of population structure. *Evolution* 38(6): 1358-1370.
- Wright, S. 1965. The interpretation of population structure by F-statistics with special regard to systems of mating. *Evolution* 19(3): 395-420.
- Zhang, M., W. Han, H. Tang, G. Li, M. Zhang, R. Xu, Y. Liu, T. Yang, W. Li, J. Zou, and K. Wu. 2018. Genomic diversity dynamics in conserved chicken populations are revealed by genome-wide SNPs. *BMC Genomics* 19(1): 598.

Establishment of a mating strategy for recovered Brown Tsaiya duck populations using microsatellite markers ⁽¹⁾

Yi-Ying Chang ⁽²⁾⁽⁴⁾⁽⁵⁾ Jo-Ching Chen ⁽³⁾ Chao-Ying Chang ⁽²⁾ Ya-Hsin Kuo ⁽²⁾
Chih-Hsiang Cheng ⁽²⁾ Chin-Hui Su ⁽²⁾ Liang-Yuan Wei ⁽²⁾
Chih-FengChen ⁽⁴⁾ and Chin-Wei Chang ⁽²⁾

Received: Apr. 16, 2025; Accepted: Jul. 1, 2025

Abstract

Eastern Region Branch, Taiwan Livestock Research Institute previously established a Brown Tsaiya duck line, Better Feed Efficiency Brown Tsaiya (BFEFT), with improved residual feed consumption (RFC) through selection. In 2022, all duck populations, including the above line, were culled due to an avian influenza outbreak. In 2023, BFEFT and its control population without pedigree were reintroduced via technology transfer commercial breeding farm. To ensure the phylogeny and genetic diversity of the reintroduced populations and their descendants, this study applied 11 microsatellite markers to simulate different mating strategies based on the pre-outbreak population (S12 and C12). Among the four strategies, the method based on maximizing average inter-cluster genetic distance was found to be the most effective in maintaining genetic diversity. This method was further applied in the reproduction of the recovered populations (S1R and C1R) to their offspring (S2R and C2R), followed by analysis of cross-generational genetic analysis. The results showed that the genetic diversity of the S1R and C1R was comparable to that of the S12 and C12, while a decreasing trend in genetic variation was observed in S2R and C2R. This may be attributed to additional selection criteria, limited numbers of candidate breeders, and reproductive constraints during the breeding period. Population structure analysis also indicated that, within the same line, the S2R and C2R showed no significant or only mild differentiation from their parental (S1R and C1R) or pre-outbreak populations (S12 and C12), respectively. In contrast, comparisons between lines of the same generation (e.g., S2R vs. C2R) revealed increasing differentiation, likely due to the resumption of selection post-recovery. In conclusion, this study proposes a feasible mating strategy applicable to pedigree-unknown populations. The approach will be applied to other recovered lines and accompanied by continued intergenerational genetic monitoring to maintain genetic diversity and population stability, ensuring sustainable utilization and conservation of valuable genetic resources.

Key words: Brown Tsaiya duck, Microsatellite marker, Genetic distance, Mating strategy.

(1) Contribution No. 2832 from Taiwan Livestock Research Institute (TLRI), Ministry of Agriculture (MOA).

(2) Eastern Region Branch, MOA-TLRI, Ilan 26846, Taiwan, R. O. C.

(3) Genetics and Physiology Division, MOA-TLRI, HsinHua Tainan 71246, Taiwan, R. O. C.

(4) Department of Animal Science, National Chung Hsing University, No. 145, Xingda Rd., Taichung 40227, Taiwan, R. O. C.

(5) Corresponding author, E-mail: yychang@mail.tlri.gov.tw.