

微衛星標記應用於季新鴨之遺傳結構 及其類緣關係之探討⁽¹⁾

張怡穎⁽²⁾⁽⁴⁾ 魏良原⁽²⁾ 陳志毅⁽³⁾ 劉秀洲⁽²⁾

收件日期：111 年 8 月 9 日；接受日期：111 年 12 月 29 日

摘 要

北京鴨 (Duck, *Anas platyrhynchos*) 最初於民國 40 至 50 年代引進現在的行政院農業委員會畜產試驗所，持續進行毛色、體重及受精持續性等選拔，此品系於民國 110 年命名為季新鴨。然因季新鴨為閉鎖族群，族群數量小，其基因頻率及遺傳歧異度易受選拔、配種策略影響，應定期進行遺傳監測，故本研究之目的即為分析季新鴨之遺傳變異資訊，並了解其與其他鴨種的類緣關係。本研究使用分布於 5 個染色體上共 11 組篩選自褐色菜鴨的微衛星標記進行分析，結果顯示，季新鴨整體遺傳變異略低於民間北京鴨品系，交替基因數略低於保種菜鴨及北京鴨與褐色菜鴨的合成品系等各家鴨品系，但高於選育白色菜鴨，有效交替基因數則與前述品系大致相當，此結果可能由季新鴨族群不大，加上長期選拔所造成，但不同標記間近交指數差異甚大，顯示此族群目前應尚無嚴重近親衰退之虞。類緣關係樹結果顯示，季新鴨與民間北京鴨遺傳距離最近，但與其他品種（系），包括民間北京鴨，皆未形成明確分支。本研究中季新鴨跟兩民間北京鴨品系的 pairwise F_{ST} 分別為 0.1582 及 0.1873，雖接近品種層級最低之 pairwise F_{ST} ，但綜合類緣關係樹及 STRUCTURE 分析結果，季新鴨與兩民間北京鴨品系的遺傳分化程度應仍為品系層級。後續將以本研究建立遺傳變異結果作為基準，供定期進行季新鴨遺傳監測，另遺傳結構分析的結果亦可提供於此品系推廣至產業時配種、選育參考。

關鍵詞：遺傳多態性、遺傳結構、微衛星標記、北京鴨。

緒 言

我國肉鴨以土番鴨 (mule duck, *Anas platyrhynchos* × *Cairina moschata*) 占最大宗，約近肉鴨產量 8 成，每年約生產 2,450 萬隻，其係以公番鴨與母改鴨或母北京鴨進行屬間雜交生產 (Cheng *et al.*, 2009)。產業為確保生產時的受精率，每 3 天即需進行一次人工授精，不但人力成本耗資甚鉅，頻繁注精亦易造成鴨隻緊迫，影響生產效率。故畜產試驗所宜蘭分所（下稱宜蘭分所）於分所內的北京鴨 L201 品系進行受精持續性檢定，並持續監控後裔土番鴨羽色分數，歷經 13 個世代，育成北京鴨長受精持續性品系，達到 6 天授精一次的育種目標，命名為「季新鴨」（行政院農業委員會畜產試驗所，2021）。

北京鴨原產於中國華北，深具生長快、體型大等優勢，最初於民國 40 至 50 年代就引進畜產試驗所及宜蘭分所飼養，民國 67 年起依系譜繁殖第一代（行政院農業委員會畜產試驗所，2021）。歷年來，北京鴨在宜蘭分所歷經大型北京鴨選拔，分為逢機、高產蛋及大體型三品系，原備後續雜交使用（胡等，1991）。然試驗發現北京鴨作為三品種土番鴨生產中改鴨的父系，影響土番鴨羽毛顏色甚深，故將三品系合併為現在的 L201 品系，以毛色選拔為主、體重較輕汰除為輔，第 14 代時，後裔土番鴨毛色在 3 及 7 級以內者已改進至 80.1 及 99.5%（李等，1993；李及康，1997），第 17 代開始受精持續性檢定及選拔，至今已選拔超過 16 個世代。因皆為閉鎖族群，加上族群數量小，大約在 200 至 450 隻之間，為避免嚴重近親衰退，繁殖時分為 20 個公鴨家族，避開全、半同胞進行配種，每個世代亦記錄 8、16 週齡體重與產蛋性能，作為監測之用（陳等，2019）。綜上所述，北京鴨自引進宜蘭分所已逾 50 年並已選拔超過 33 個世代。

(1) 行政院農業委員會畜產試驗所研究報告第 2728 號。

(2) 行政院農業委員會畜產試驗所宜蘭分所。

(3) 行政院農業委員會畜產試驗所新竹分所。

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

根據聯合國糧食及農業組織 (Food and Agriculture Organization of the United Nations, FAO) 建議，畜禽管理除性能監測族群變化，為確認選拔策略對於族群遺傳歧異度之影響，應另以分子標記探討族群遺傳結構 (FAO, 2012)。各種分子標記中，微衛星標記因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及低成本等特性 (Liu and Cordes, 2004; Tamaki, 2007; Gemayel *et al.*, 2010)，至今仍廣泛應用於印度、菲律賓、越南、中國等各國鴨隻族群研究 (Magpantay *et al.*, 2019; Zhang *et al.*, 2019; Pham *et al.*, 2021; Veeramani *et al.*, 2021; Zhang *et al.*, 2021)，Lai *et al.* (2020) 亦篩選新的褐色菜鴨微衛星標記，並針對我國鴨種進行分析。另已有雞隻研究提到，族群越小，其基因頻率越易隨著時間改變，顯示對於家禽種原保存及育種計畫，監測遺傳歧異度隨時間變化有其重要性 (Tu *et al.*, 2018; Palinkas-Bodzsar *et al.*, 2020)。

故本研究之目的為應用微衛星標記建立季新鴨之遺傳變異資訊，並了解其與民間大型北京鴨的類緣關係，供後續進行遺傳監測及育種策略制定，以利此新品系永續經營。

材料與方法

I. 試驗動物

本研究之供試動物取自飼養於宜蘭分所的季新鴨第 12 代 (即 L201 品系第 29 世代，品系簡稱 CH)，自第 11 代每隻留種母鴨挑選後代 1 公或 1 母，共 30 公及 30 母。另自 Lai *et al.* (2020) 所使用飼養於宜蘭分所的兩個民間大型北京鴨品系，分別隨機挑選 11 隻個體 (BPA 及 BPB) 進行基因型鑑別。為釐清季新鴨與其他鴨品種 (系) 間之類緣關係，本試驗加入本團隊先前進行基因型鑑別之種原白色菜鴨第 15 代 (GWT, N = 30)、宜蘭白鴨臺畜一號第 27 代 (L102, N = 40) (張等, 2016)、種原褐色菜鴨第 17 代 (GBT, N = 30) (張等, 2018)、季新鴨前身與褐色菜鴨正反交後固定的五結白鴨第 7 代 (L401, N = 118) (行政院農業委員會畜產試驗所, 2015)、五結黑色番鴨第 16 代 (BM, N = 30) 及白色番鴨畜試 1 號第 23 代 (WM, N = 50) (張等, 2021) 等鴨群的基因型資料，各族群數量及來源如表 1。

表 1. 本研究試驗鴨隻數量及基因型來源

Table 1. Number and source of experimental animals in this study

Population ¹	No. of drake	No. of duck	Genotype source
CH	30	30	This study
BPA	6	5	Sampled from Lai <i>et al.</i> (2020), genotyped in this study
BPB	7	4	Sampled from Lai <i>et al.</i> (2020), genotyped in this study
GWT	15	15	Chang <i>et al.</i> (2016)
L102	20	20	Chang <i>et al.</i> (2016)
GBT	15	15	Chang <i>et al.</i> (2018)
L401	59	59	TLRI (2015)
BM	15	15	Chang <i>et al.</i> (2021)
WM	25	25	Chang <i>et al.</i> (2021)

¹ CH: Chihsin duck; BPA and BPB: Pekin duck introduced from the industrial farms; GWT: germplasm-conserved white Tsaiya duck; L102: Ilan White Tsaiya TLRI NO.1; GBT: germplasm-conserved brown Tsaiya duck; L401: Wujie White Duck; BM: Wujie Black Muscovy; WM: White Muscovy LRI 1.

本研究涉及之動物試驗於宜蘭分所執行，動物之使用、飼養及實驗內容係依據宜蘭分所實驗動物管理委員會核准 (畜試宜動字第 106002 號) 之試驗準則進行。

II. 微衛星標記分析

本研究自前述季新鴨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 保存備用。

本研究利用之微衛星標記係篩選自褐色菜鴨 (Hsiao *et al.*, 2008)，挑選於家鴨及番鴨各族群測試皆具較佳多態性者如表 2，包括 APT001、APT004、APT008、APT010、APT012、APT017、APT020、APT025、APT026、

APT032 及 APT033 等共 11 組 (位於 1、2、3、7 及 Z 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、1 X PCR buffer、1.5 mM $MgCl_2$ 、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。PCR 產物經稀釋與基因標準品 (GeneScan 500 Liz size standard) 混合製備成樣品盤，送國家基因體醫學研究中心 (National Center for Genome Medicine) 經 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 2. 11 組菜鴨微衛星標記引子序列、鍊合溫度及所在鴨染色體資訊

Table 2. Primer sequences, annealing temperature and orthologous microsatellites in the duck genome scaffold of the 11 Tsaiya duck-derived microsatellite markers

Locus ¹	Primer sequences (5'→3')	Ta (°C) ²	Chr. ³	Duck genome scaffold no. ⁴
APT001	F: GTCCCACTGGTTTGCTGTCC 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: TCATAACATTTTCAGACCAGTTTTTCAGA	60	2	5
APT017	F: TGGATGGACAGACGGGTGA R: TGGAAGTTTTGATTTCTAGTGCTTACA	60	1	481
APT020	F: TTCCAAGTTTGTTCATGCCAATAGA R: CTGACCATGTTAGGGCGTTTTAG	60	1	197
APT025	F: TCCTAAGAAACGTTGCTTCATAGACC R: GAGTTAAGCTTCATCACTCTGTGACTG	60	2	121
APT026	F: CCCTGAAAGGCTGTTTTATATATCCA R: ATGTAAATAAAGTAGCCTTGACCGGT	60	7	477
APT032	F: TCACTTTCTTGACTCTCCTTGTTTT R: TGAATTGAATTCTGTTTCAGGATAAATG	60	2	45
APT033	F: CTTACCCCTACCTCATAAGGAACGTG R: ATTCCAAATCTGCAAGGTGAGTATTA	60	Z	14

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

² Annealing temperature.

³ The location on the duck chromosome.

⁴ The orthologous microsatellites in the duck genome scaffold.

III. 季新鴨遺傳變異與其他鴨群遺傳結構之族群統計分析

為比較季新鴨、民間北京鴨及其他鴨群之遺傳變異，本研究利用 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 (Observed heterozygosity, H_o) 與期望異質度 (Expected heterozygosity, H_e) (Nei, 1978) 及多態性訊息含量 (Polymorphic information content, PIC) (Botstein *et al.*, 1980)，並以 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)、進行哈溫平衡 (Hardy-Weinberg equilibrium) 檢定 (Guo and Thompson, 1992) 及估算 Wright's F-statistics 之族群內近交係數 (Within-population inbreeding coefficient, F_{IS})。

族群分析部分以 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 ($K = 2$ 至 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 (分群數)，並以 CLUMPAK 1.1 (Kopelman *et al.*, 2015) 統整 STRUCTURE 的結果，產出視覺化的圖形，另使用 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) 繪製類緣關係樹 (Saitou and Nei, 1987)，並以靴拔重抽法 (bootstrap method) 進行 1,000 次重複取樣，以驗證季新鴨與其他鴨品種 (系) 間之類緣關係，並以 FSTAT 2.9.3 (Goudet, 2001) 依 Weir and Cockerham (1984) 所述估算族群 pairwise F_{ST} ，以評估族群近親及族群間分化程度。

結果與討論

I. 季新鴨微衛星標記遺傳變異分析

利用 11 組微衛星標記分析季新鴨遺傳變異結果如表 3 所示。在季新鴨分別觀測到 34 個交替基因，除 Z 染色體上的 APT001 無多態性以外，4 組微衛星標記具中度 ($0.25 \leq PIC < 0.5$) 多態性，6 組標記具高度多態性 ($PIC \geq 0.5$)，顯示除了 APT001 以外之 10 組微衛星標記應可用於季新鴨遺傳變異分析。扣除 APT001 標記，此族群平均 N_a 為 3.3 個 (2 至 5 個) 交替基因，平均 N_e 為 2.5 個 (1.9 至 3.6 個)。 H_o 介於 0.350 至 0.661，平均為 0.509； H_e 介於 0.464 至 0.726，平均為 0.593。在 11 組標記中，僅有 APT033 偏離哈溫平衡，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 APT033 雖共觀測 3 個交替基因 (片段大小 234、262 及 266)，其估測無效交替基因頻率接近 0.2，扣除 Z 染色體上 APT001 及 APT033 兩組標記後，平均 F_{IS} 下降至 0.108，且不同標記間 F_{IS} 差異甚大，未顯著異於 0 ($P > 0.05$)，至第 12 代之族群平均近親系數為 0.149，配合性狀表現 (行政院農業委員會畜產試驗所，2021)，此族群目前應尚無嚴重近親衰退之虞。

比較季新鴨及兩個民間品系大型北京鴨品系之各項遺傳變異結果 (表 4)，在交替基因數部分，季新鴨僅在 APT032 具 5 個交替基因，略高於民間品系的 2 及 3 個，其餘標記皆低於民間品系或與其相當。在有效交替基因數部分，季新鴨在 APT010 為 2.9 個，高於民間品系 2.2 及 2.4 個； APT017 則有 3.6 個，介於兩民間品系 3.1 及 3.8 個之間； APT032 為 2.4 個，略高於兩民間品系的 2.0 及 2.3 個。在觀測與期望異質度部分，季新鴨與兩民間品系互見高低，但大多以民間品系高於季新鴨。兩民間品系具高度多態性的標記 ($PIC \geq 0.5$) 數皆為 7 組，亦多於季新鴨之 6 組。而在 F_{IS} 部分，三品系則皆有標記間差異甚大的情形。與兩個民間品系大型北京鴨品系 (BPA 與 BPB) 比較交替基因分布情況 (表 5)，季新鴨在 APT012、APT017、APT026 及 APT032 等標記有品系特有交替基因，且相較於 BPA 與 BPB 兩族群間各標記片段大小與交替基因頻率類似，季新鴨與兩民間品系的交替基因分布情況則有明顯不同。整體來說，以兩民間品系的遺傳變異高於季新鴨，推測此由於季新鴨經長期選拔所致。

與其他北京鴨微衛星標記研究相較，Wu *et al.* (2009) 以橫跨 16 個連鎖群 (linkage group) 的 18 組微衛星標記分析 2 個中國北京鴨自然族群 (BJ) 及 2 個櫻桃谷北京鴨品系 (CV)，雖然其平均交替基因數達 8.33 及 7.72 個，平均 H_o 分別為 0.514 與 0.527，平均 H_e 分別為 0.604 及 0.627，平均 PIC 分別為 0.573 及 0.590。與季新鴨扣除 APT001 以外 10 組微衛星標記之遺傳變異相近。

再與其他於宜蘭分所飼養之鴨品種 (系) 相較 (表 6)，季新鴨交替基因種類與交替基因頻率分布與褐色菜鴨、白色菜鴨、五結白鴨及番鴨明顯不同。與五結黑色番鴨及白色番鴨畜試 1 號相較，季新鴨明顯具較高遺傳變異，推測因菜鴨微衛星標記應用至番鴨時為跨物種使用，可能使高多態性標記因標的序列旁引子黏合區域之突變累積而無法增幅，或標記之多態性及專一性因跨屬利用而有所折扣 (張等，2021)。而相較於種原白色、褐色菜鴨 (GWT 及 GBT) 及合成品系五結白鴨 (L401) 等家鴨品種 (系)，季新鴨的交替基因數略低於前述品種 (系)，稍高於宜蘭白鴨臺畜一號 (L102)，但在有效交替基因數部分，季新鴨則與大多家鴨品種 (系) 相當。與 Lai *et al.* (2020) 研究相較，其同樣使用篩選自褐色菜鴨基因體的微衛星標記，分析民間大體型品系北京鴨，其平均交替基因數為 6.5 個，有效交替基因數為 3.6 個，民間大體型品系北京鴨的遺傳變異與褐色菜鴨保種族群及大部分選育品系相當，但高於白色菜鴨保種及選育族群，類似於本研究結果。

由於 FAO 尚未建議鴨隻使用的微衛星標記，本研究使用之 11 組微衛星標記篩選自褐色菜鴨 (Hsiao *et al.*, 2008)，挑選於菜鴨各族群測試具較佳多態性者，綜觀此 11 組微衛星標記於北京鴨、改鴨、褐色菜鴨、白色菜

鴨等家鴨之遺傳變異， N_a 平均 7.3 個， N_e 為 3.6 個，平均 H_o 為 0.474，平均 H_e 為 0.690，平均 PIC 為 0.646，除 APT001 與 APT032 為中度多態性外，其餘標記皆為高度多態性。與 Lai *et al.* (2020) 篩選之新標記相較，其 N_a 平均為 11.3 個， N_e 為 5.4 個，平均 H_o 為 0.591，平均 H_e 為 0.747，平均 PIC 為 0.708。本團隊使用的 11 組微衛星標記在多態性上雖稍遜一籌，但其重複單位皆為四個核苷酸，可減小判讀錯誤可能性；又此 11 組微衛星標記分別位於鴨 1、2、3、7 號及 Z 染色體上，過去比對鴨染色體時，各標記皆位於不同染色體架構 (scaffold)，應有相當距離。另 Wu *et al.* (2009) 及 Lai *et al.* (2020) 分別認為 H_o 及 PIC 大於 0.5 或 H_o 需介於 0.3 至 0.8，標記始具充足多態性，適用於遺傳變異分析。本研究扣除無多態性之 APT001 後，其餘標記平均 H_o 為 0.509，平均 PIC 為 0.508，符合前述標準。綜上所述，本研究認為此 11 組微衛星標記從多態性及於染色體分布來看，確實可用於進行季新鴨的遺傳分析。

民國 70 年宜蘭分所以選育大型北京鴨為目標，原建立北京鴨雜交三品系：201 (逢機品系)、202 (高產蛋品系，選拔 40 週齡產蛋數) 及 203 (大型體品系，選拔 8 或 10 週齡體重) (胡等，1991)，然自民國 76 年起加強北京鴨毛色檢定，第 6 代後裔土番鴨毛色在 3 級以內 (僅頭頂有黑毛) 的比例為 10.9%，隔年合併三品系為一 L201 品系，自第 10 代起擴大北京鴨選拔族群數量，母鴨自先前 200 隻增加至約 400 隻，持續進行毛色選拔 (李等，1993)。第 14 代時，北京鴨 L201 後裔土番鴨毛色在 3 及 7 級以內者已分別達到 80.1 及 99.5% (李及康，1997)。後又經觀察發現土番鴨生產屬間雜交之淘汰蛋中 70 至 80% 為無精蛋，且 25.2% 為早期中止，由於鴨屬間雜交受精持續性已被證明為可選拔改善性狀 (胡等，1999)，故此族群自第 17 代在例行性毛色檢定工作外加入受精持續性檢定。自選拔長受精持續性以來，公鴨在 100 至 200 隻，母鴨大多在 200 至 300 隻，選拔百分率公鴨為 10.3 至 23.3，母鴨為 20.5 至 47.2 (行政院農業委員會畜產試驗所，2021)，由於族群不大，再加上長期選拔，可能因此使季新鴨的遺傳歧異度低於民間大型北京鴨品系及未選拔的種原白色、褐色菜鴨。

II. 遺傳結構分析

為探討季新鴨與其他鴨品種 (系) 間之類緣關係，本研究進行季新鴨與兩個民間大型北京鴨 (BPA 及 BPB) 基因型鑑別，並加入保種褐色菜鴨與白色菜鴨、選育白色菜鴨、五結白鴨、黑色番鴨及白色番鴨等鴨群的基因型資料共同進行遺傳結構分析。

表 3. 11 組菜鴨微衛星標記於季新鴨之遺傳變異

Table 3. Genetic variations of Chihsin duck with the 11 Tsaiya duck-derived microsatellite markers

Locus	Fragment (bp)	N_a^1	N_e^2	H_o^3	H_e^4	PIC ⁵	F_{IS}^6
APT001	178	1	1.0	0.000	0.000	0.000	NA
APT004	294 – 314	3	2.0	0.377	0.512	0.404	0.264
APT008	180 – 192	3	2.9	0.661	0.658	0.578	-0.005
APT010	204 – 220	3	2.9	0.610	0.661	0.581	0.077
APT012	193 – 209	5	2.9	0.526	0.660	0.594	0.203
APT017	173 – 193	4	3.6	0.633	0.726	0.669	0.128
APT020	169 – 197	3	2.1	0.533	0.528	0.424	-0.009
APT025	109 – 121	2	1.9	0.350	0.464	0.354	0.246
APT026	130 – 138	3	1.9	0.400	0.475	0.381	0.158
APT032	195 – 267	4	2.4	0.650	0.595	0.519	-0.092
APT033*	234 – 266	3	2.8	0.350	0.652	0.571	0.463
Average		3.1	2.4	0.463	0.539	0.461	0.143
SD		1.0	0.7	0.196	0.199	0.184	0.162

¹ Number of alleles.

² Number of effective 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.

NA: not available.

表 4. 應用 11 組菜鴨微衛星標記分析兩個民間大型北京鴨 (BPA 及 BPB) 之遺傳變異

Table 4. Genetic variations of Pekin duck introduced from the industrial farms (BPA and BPB) with the 11 Tsaiya duck-derived microsatellite markers

Locus	BPA							BPB							
	Fragment (bp)	N _a ¹	N _e ²	H _O ³	H _E ⁴	PIC ⁵	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 – 206	2	1.5	0.273	0.368	0.290	0.258	APT001	178 – 206	2	1.8	0.273	0.455	0.340	0.400
APT004	286 – 306	5	3.1	0.636	0.706	0.620	0.099	APT004	294 – 302	3	2.2	0.364	0.567	0.463	0.358
APT008	180 – 192	4	3.3	0.091	0.732	0.644	0.876	APT008	180 – 200	5	3.4	0.818	0.736	0.653	-0.111
APT010	204 – 212	3	2.2	0.455	0.567	0.463	0.198	APT010	204 – 224	4	2.4	0.636	0.619	0.522	-0.027
APT012	185 – 201	5	4.4	0.818	0.81	0.735	-0.010	APT012	185 – 201	5	3.8	0.818	0.771	0.697	-0.061
APT017	169 – 185	5	3.1	0.545	0.706	0.620	0.228	APT017	169 – 189	5	3.8	0.727	0.775	0.693	0.062
APT020	181 – 189	3	2.1	0.545	0.55	0.466	0.009	APT020	169 – 189	4	3.1	0.636	0.706	0.613	0.099
APT025	109 – 125	4	2.8	0.727	0.671	0.580	-0.083	APT025	109 – 125	4	2.8	0.818	0.68	0.594	-0.203
APT026	130 – 146	4	2.5	0.727	0.636	0.548	-0.143	APT026	130 – 142	3	2.1	0.545	0.541	0.422	-0.007
APT032	207 – 215	2	2.0	0.364	0.519	0.373	0.299	APT032	207 – 259	3	2.3	0.545	0.602	0.484	0.095
APT033	230 – 266	5	3.8	0.364	0.775	0.693	0.530	APT033	230 – 262	5	4.1	0.455	0.792	0.715	0.426
Average		3.8	2.8	0.504	0.640	0.548	0.205	Average		3.9	2.9	0.603	0.659	0.563	0.094
SD		1.2	0.9	0.220	0.129	0.137	0.295	SD		1.0	0.8	0.187	0.110	0.125	0.213

¹ Number of alleles.² Number of effective alleles.³ Observed heterozygosity.⁴ Expected heterozygosity.⁵ Polymorphic information content.⁶ Wright's fixation index, within population inbreeding estimate.

表 5. 季新鴨與兩個民間大型北京鴨觀測之交替基因一覽表
Table 5. Observed alleles of Chihsin duck (CH) and Pekin duck introduced from the industrial farms (BPA and BPB)

	APT001	APT004	APT008	APT010	APT012	APT017	APT020	APT025	APT026	APT032	APT033														
CH	178 ¹	1.00 ²	294	0.58	180	0.24	204	0.25	193	0.02	173	0.29	169	0.04	109	0.36	130	0.33	195	0.32	234	0.35			
			298	0.39	188	0.39	208	0.41	197	0.18	181	0.23	189	0.57	121	0.64	134	0.03	207	0.54	262	0.43			
			314	0.03	192	0.37	220	0.34	201	0.30	189	0.36	197	0.39			138	0.65	215	0.13	266	0.23			
									205	0.47	193	0.13							267	0.02					
												209	0.04												
BPA	178	0.77	286	0.09	180	0.27	204	0.32	185	0.23	169	0.05	181	0.23	109	0.50	130	0.14	207	0.55	230	0.27			
	206	0.23	294	0.45	184	0.23	208	0.59	189	0.27	173	0.45	185	0.14	117	0.05	138	0.27	215	0.45	234	0.27			
			298	0.05	188	0.41	212	0.09	193	0.09	177	0.09	189	0.64	121	0.18	142	0.55			242	0.05			
			302	0.32	192	0.09			197	0.27	181	0.09			125	0.27	146	0.05			262	0.32			
												306	0.09	201	0.14	185	0.32							266	0.09
BPB	178	0.68	294	0.32	180	0.09	204	0.55	185	0.23	169	0.05	169	0.09	109	0.27	130	0.05	207	0.50	230	0.09			
	206	0.32	298	0.09	184	0.32	208	0.32	189	0.41	173	0.27	181	0.36	113	0.09	138	0.59	215	0.41	234	0.27			
			302	0.59	188	0.41	212	0.05	193	0.14	181	0.27	185	0.14	121	0.14	142	0.36	259	0.09	238	0.32			
					196	0.14	224	0.09	197	0.09	185	0.09	189	0.41	125	0.50					242	0.09			
												200	0.05	201	0.14	189	0.32							262	0.23

¹ Fragment size (bp) of PCR product.

² Allele frequencies.

表 6. 應用 11 組菜鴨微衛星標記分析季新鴨 (CH)、種原白色菜鴨第 15 代 (GWT)、宜蘭白鴨臺畜一號 (L102)、種原褐色菜鴨第 17 代 (GBT)、五結白鴨第 7 代 (L401)、五結黑色番鴨第 16 代 (BM)、白色番鴨畜試 1 號第 23 代 (WM) 及於兩個民間大型北京鴨 (BPA 及 BPB) 之平均遺傳變異

Table 6. The average of genetic variations of Chihsin duck (CH), germplasm-conserved white Tsaiya duck (GWT), Ilan White Tsaiya TLRI NO.1 (L102), germplasm-conserved brown Tsaiya duck (GBT), Wujie White Duck (L401), Wujie Black Muscovy (BM), White Muscovy LRI 1 (WM), Pekin duck introduced from the industrial farms (BPA and BPB) with the 11 Tsaiya duck-derived microsatellite markers

Population [*]	N _i	N _a ²	N _e ³	H _O ⁴	H _E ⁵	PIC ⁶	dHWE ⁷	F _{IS} ⁸
CH	60	3.1	2.4	0.463	0.539	0.461	1	0.143 ± 0.162
BPA	11	3.8	2.8	0.504	0.604	0.548	0	0.205 ± 0.295
BPB	11	3.9	2.9	0.603	0.659	0.563	0	0.094 ± 0.213
GWT	30	3.6	2.4	0.497	0.557	0.479	1	0.114 ± 0.215
L102	40	2.5	1.9	0.377	0.443	0.370	2	0.140 ± 0.268
GBT	30	4.5	2.7	0.500	0.588	0.531	0	0.165 ± 0.302
L401	118	4.1	2.4	0.492	0.503	0.450	6	0.090 ± 0.330
BM	30	3.0	2.1	0.340	0.420	0.370	1	0.214 ± 0.208
WM	50	2.4	1.6	0.294	0.315	0.263	0	0.062 ± 0.174

^{*} CH, BPA, and BPB were genotyped in this study, while BPA and BPB were sampled in Lai *et al.* (2020); GWT and L102 were genotyped in Chang *et al.* (2016, in Chinese); GBT was genotyped in Chang *et al.* (2018, in Chinese); L401 was genotyped in TLRI (2015, in Chinese); BM and WM were genotyped in Chang *et al.* (2021, in Chinese).

¹ Sample size.

² Number of alleles.

³ Number of effective alleles.

⁴ Observed heterozygosity.

⁵ Expected heterozygosity.

⁶ Polymorphic information content.

⁷ Number of markers departed from Hardy-Weinberg equilibrium.

⁸ Wright's fixation indice, within population inbreeding estimate and standard deviations.

根據各族群基因頻率計算族群間之遺傳距離 (Nei's distance, Nei, 1972) 並繪製類緣關係樹 (圖 1)，將 BM 及 WM 番鴨設為外群 (outgroup)，結果顯示除兩種番鴨拔靴值 (bootstrap value) 為 99，白色菜鴨 (WT 及 L102) 拔靴值為 92，分別成為獨立分支外，其它分支之拔靴值皆未超過 70，表示未形成明確分支。但自圖上可看到季新鴨與民間大型北京鴨最為接近，再來是 L401，接著是兩個白色菜鴨品系，褐色菜鴨則與前述鴨族群有較遠之遺傳距離。查這些鴨品種 (系) 發展歷程，季新鴨最早源自北京鴨 (行政院農業委員會畜產試驗所，2021)，L401 則是應用季新鴨前身 L201 品系與褐色菜鴨畜試二號正反交，並選拔受精蛋數選育而成 (行政院農業委員會畜產試驗所，2015) 之品系；白色菜鴨則是民國 50 年代自全臺各地收集白色羽毛且具類似菜鴨體型的鴨隻閉鎖選育而成，亦有民國 42 年時由農復會引進北京鴨與菜鴨交配而得之說法，有可能具部分北京鴨血統 (張等，2016)。以上顯示本研究分析結果確實反應相關鴨品種 (系) 發展及類緣關係。

圖 2 顯示 STRUCTURE 軟體分析以 CLUMPAK 1.1 統整視覺化之結果，經 Evanno 法估算 (Evanno *et al.*, 2005) 最適 K 值為 2。K = 2 時，僅區分家鴨與兩種番鴨；K = 3 時，則分出菜鴨 (GBT、GWT 及 L102)，但有一半的模擬結果未相同；K = 4 時，分出北京鴨 (CH、BPA 及 BPB)，雖然 BPA 及 BPB 未成一獨立群集；K = 5 時，季新鴨與民間北京鴨分至不同群集，GBT 自菜鴨中分離出來，有趣的是，民間北京鴨與 GBT 分至同一群集，BPA 及 BPB 仍未成獨立群集；而 K = 6 時，民間北京鴨自成一群集，另 GWT 也有一部分分至同一群集，另自 K = 6 以降即無模擬 20 次皆有一致結果之 K 值，而兩種白色菜鴨與番鴨始終無法分至獨立群集，此類似 Lai *et al.* (2020) 的結果，應與分析族群同時包含番鴨、北京鴨與菜鴨，族群間差異過大有關，如單就番鴨 (張等，2021) 及白色菜鴨 (張等，2016) 進行分析時，各品系仍可分為不同群集。

而各族群之族群分化分析結果如表 7 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。本研究之各族群兩兩相較之下，所有組合間皆有顯著分化。不同品系間的 F_{ST} 最低為 0.0248 (兩民間北京鴨 BPA 與 BPB)，最高為 0.2314 (GWT 與 L102)；

而品種間的 F_{ST} 最低為 0.2026 至 0.2253 (L401 與兩民間北京鴨)，最高為 0.3794 (CH 與 L102)。Lai *et al.* (2020) 研究中，各鴨種兩兩組合亦皆為顯著分化，褐色菜鴨品系間 F_{ST} 分布為 0.092 至 0.167，白色菜鴨兩品系的 F_{ST} 為 0.240，與本研究 0.2314 相當接近；Lai *et al.* (2020) 於品種間分析部分，民間北京鴨與褐色菜鴨品系間的 F_{ST} 分布為 0.190 至 0.247，與白色菜鴨品系的 F_{ST} 分布為 0.257 至 0.286。而本研究民間北京鴨與 GBT 之 F_{ST} 為 0.2243 及 0.2455，與白色菜鴨則自 0.2391 至 0.3302，亦與 Lai *et al.* (2020) 的研究有相近趨勢。而本研究主要探討的季新鴨與保種褐色菜鴨的 F_{ST} 為 0.3187，與兩白色菜鴨品系間的 F_{ST} 則分別為 0.3146 及 0.3794，相對民間北京鴨與褐色菜鴨、白色菜鴨的 F_{ST} 高出一些，此或許與季新鴨長期以小族群進行選拔有關。另外保種褐色菜鴨、保種白色菜鴨與各鴨種的 F_{ST} 接近，或可部分說明類緣關係樹大多未形成明確分支，以及 STRUCTURE 結果發生褐色菜鴨與北京鴨分至同一群集的情況。綜整以上本研究及其他研究結果，鴨品系間的 F_{ST} 自 0.092 至 0.240，

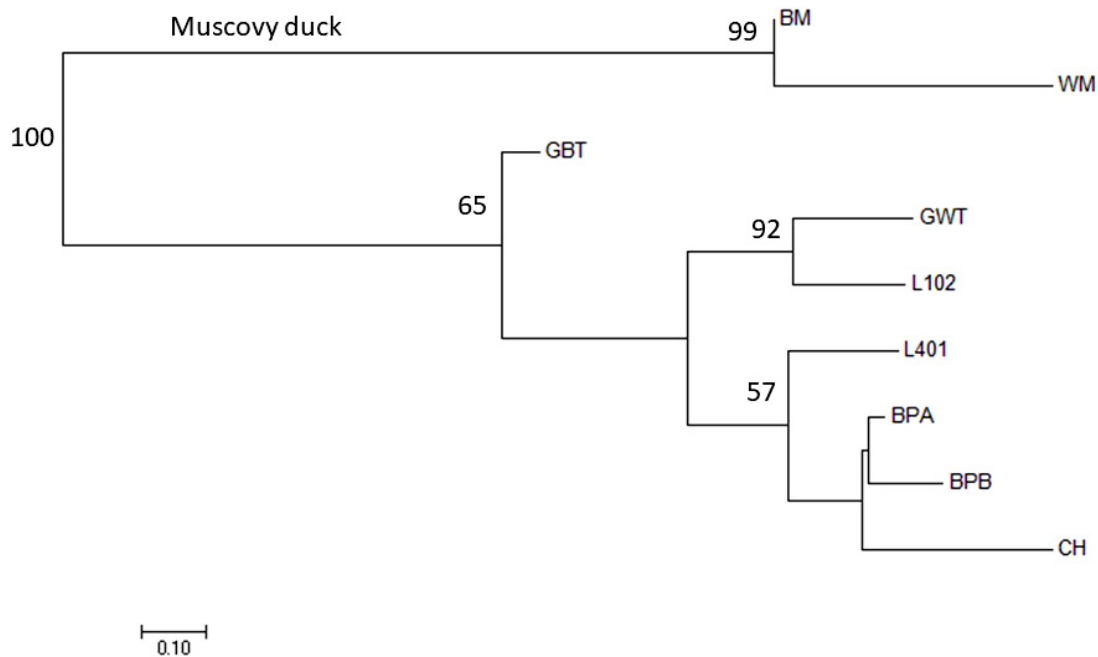


圖 1. 季新鴨 (CH)、種原白色菜鴨第 15 代 (GWT)、宜蘭白鴨臺畜一號 (L102)、種原褐色菜鴨第 17 代 (GBT)、五結白鴨第 7 代 (L401)、五結黑色番鴨第 16 代 (BM)、白色番鴨畜試 1 號第 23 代 (WM) 及於兩個民間大型北京鴨 (BPA 及 BPB) 之類緣關係樹圖。分支上數值為該分支上之拔靴值 (Bootstrap value)。

Fig. 1. The phylogenetic tree of Chihsin duck (CH), germplasm-conserved white Tsaiya duck (GWT), Ilan White Tsaiya TLRI NO.1 (L102), germplasm-conserved brown Tsaiya duck (GBT), Wujie White Duck (L401), Wujie Black Muscovy (BM), White Muscovy LRI 1 (WM), Pekin duck introduced from the industrial farms (BPA and BPB). The numbers on the branches are bootstrap values.

表 7. 利用 11 組微衛星標記分析季新鴨 (CH)、種原白色菜鴨第 15 代 (GWT)、宜蘭白鴨臺畜一號 (L102)、種原褐色菜鴨第 17 代 (GBT)、五結白鴨第 7 代 (L401) 及兩個民間大型北京鴨 (BPA 及 BPB) 之遺傳分化指數 (對角線右上)，各族群間皆為顯著分化 ($P < 0.05$)

Table 7. F_{ST} value based on 11 Brown Tsaiya microsatellite markers for Chihsin duck (CH), germplasm-conserved white Tsaiya duck (GWT), Ilan White Tsaiya TLRI NO.1 (L102), germplasm-conserved brown Tsaiya duck (GBT), Wujie White Duck (L401), Pekin duck introduced from the industrial farms (BPA and BPB), all the F_{ST} values are significant differentiation ($P < 0.05$)

Population	GWT	L102	GBT	L401	BPA	BPB
CH	0.3146	0.3794	0.3187	0.2484	0.1582	0.1873
GWT		0.2314	0.2596	0.3278	0.2500	0.2391
L102			0.3082	0.3067	0.3262	0.3302
GBT				0.2870	0.2243	0.2455
L401					0.2026	0.2253
BPA						0.0248

品種間則自 0.190 至 0.330，而本研究中季新鴨跟兩民間北京鴨品系的 F_{ST} 分別為 0.1582 及 0.1873，雖接近上述品種間最低之 F_{ST} ，但綜合類緣關係樹及 STRUCTURE 分析結果，季新鴨與兩民間北京鴨品系的遺傳分化程度應仍為品系層級。

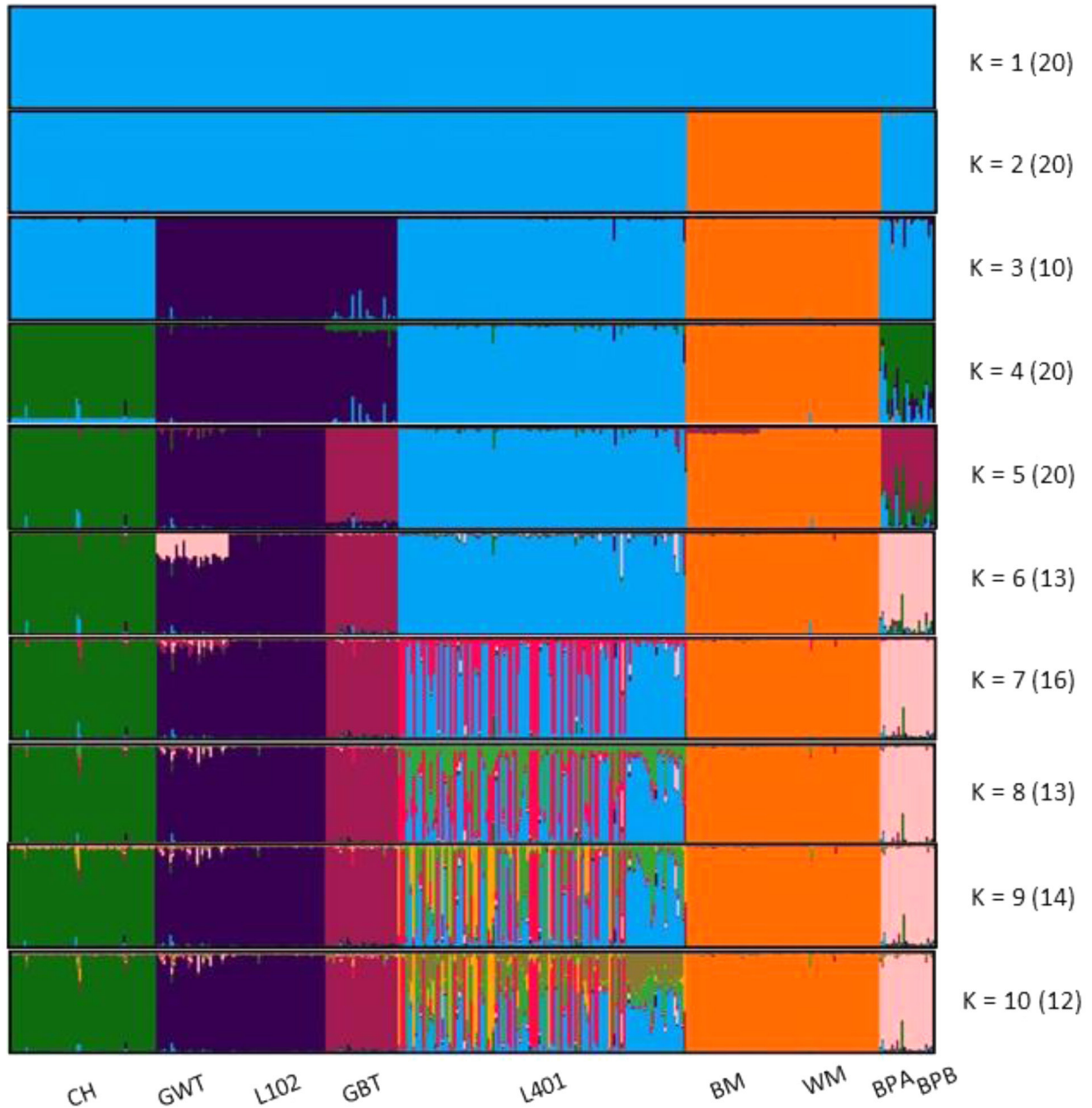


圖 2. 季新鴨 (CH)、種原白色菜鴨第 15 代 (GWT)、宜蘭白鴨臺畜一號 (L102)、種原褐色菜鴨第 17 代 (GBT)、五結白鴨第 7 代 (L401)、五結黑色番鴨第 16 代 (BM)、白色番鴨畜試 1 號第 23 代 (WM) 及兩個民間大型北京鴨 (BPA 及 BPB) 以 STRUCTURE 軟體進行分群分析之結果，品系後的數字為世代數此圖可能分群數 (K) 設為 2 至 10，後方括號內的數字表示在 95% 閾值下模擬 100 次中相同結果之次數；不同顏色代表該不同群集，縱軸每圖條代表一個體。

Fig. 2. STRUCTURE clustering of Chihsin duck (CH), germplasm-conserved white Tsaiya duck (GWT), Ilan White Tsaiya TLRI NO.1 (L102), germplasm-conserved brown Tsaiya duck (GBT), Wujie White Duck (L401), Wujie Black Muscovy (BM), White Muscovy LRI 1 (WM), Pekin duck introduced from the industrial farms (BPA and BPB). K: possible number of subpopulation; Q: proportional membership of ducks to genetic clusters. Colors correspond to different genetic clusters. Each vertical bar represents a single individual.

總結前述結果，本研究分析季新鴨之遺傳變異資訊，後續將以本研究結果作為遺傳變異基準，於此品系選育的同時，定期進行遺傳監測。而本研究另分析季新鴨遺傳結構與民間大型北京鴨及其他鴨種間的類緣關係，由於季新鴨目標作為土番鴨生產母禽（行政院農業委員會畜產試驗所，2021），除直接用於土番鴨生產，亦可與

種鴨業者自有種母鴨品系雜交，改進其受精持續性，或可協助業者針對自有品系進行遺傳分析，以供配種、選育參考。未來將透過上述兩方向促進季新鴨種原永續保存與增加應用。

結 論

季新鴨因長期選育，其整體遺傳變異略低於大多家鴨品系，但有效交替基因數仍與其他品系相當，加上不同微衛星標記間近交指數差異甚大，目前應尚無嚴重近親衰退之虞。而季新鴨跟兩民間北京鴨品系的遺傳分化程度應未達品種層級。後續將以本研究分析之遺傳變異結果作為基準，供季新鴨定期進行遺傳監測，另遺傳結構分析的結果亦可提供於此品系推廣至產業時配種、選育參考。

誌 謝

本研究承行政院農業委員會經費支持 (106 農科 -19.1.1- 畜 -L1)，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。試驗期間承蒙林秀齡、林美葉、柯惠君、張喬茵、陳淑惠、馮國銘及黃順和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。2015。「五結白鴨」品系登記審定書。
- 行政院農業委員會畜產試驗所。2021。「季新鴨」品系登記審定書。
- 李舜榮、胡怡浩、陳銘正。1993。優良白色土番鴨親代選育。畜產研究 26：121-129。
- 李舜榮、康清亮。1997。土番鴨白色羽毛出現率之改進。畜產研究 30：293-299。
- 胡怡浩、林淑蕙、陳得財。1999。優良白色土番鴨親代選育。畜產試驗所八十八年試驗報告。
- 胡怡浩、姜延年、陳銘正、潘金木。1991。北京鴨雜交品系與商業品系肉鴨生長及屠體性能之比較。畜產研究 24：141-148。
- 張怡穎、張惠斌、魏良原、陳怡蓁、丁詩同、王佩華、林恩仲、黃振芳、陳志峰、劉秀洲。2018。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。中畜會誌 47：221-238。
- 張怡穎、劉秀洲、陳怡蓁、丁詩同、王佩華、林恩仲、蕭孟矜、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。
- 張怡穎、魏良原、陳怡蓁、劉秀洲。2021。菜鴨微衛星標記應用於不同番鴨族群遺傳多態性之探討。畜產研究 54：126-139。
- 陳志毅、魏良原、張惠斌、張怡穎、劉秀洲。2019。經 11 代受精持續性選拔後之北京鴨受精蛋數遺傳表現探討。畜產研究 52：58-65。
- 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: 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: 867-870.
- Chapuis, M. P. and A. Estoup. 2007. Microsatellite null alleles and estimation of population differentiation. *Mol. Biol. Evol.* 24: 621-631.
- Cheng, Y. S., R. Rouvier, H. L. Liu, S. C. Huang, Y. C. Huang, C. W. Liao, J. J. Liu Tai, C. Tai, and J. P. Poivey. 2009. Eleven generations of selection for the duration of fertility in the intergeneric crossbreeding of ducks. *Genet. Sel. Evol.* 41: 32.
- 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. Vences, 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. 2001. FSTAT: a program to estimate and test gene diversities and fixation indices. Version 2.9.3. Available from: <https://www2.unil.ch/popgen/softwares/fstat.htm>.
- 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-Australas. 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.
- Kopelman, N. M., J. Mayzel, M. Jakobsson, N. A. Rosenberg, and I. Mayrose. 2015. Clumpak: a program for identifying clustering modes and packaging population structure inferences across K. *Mol. Ecol. Resour.* 15: 1179-1191.
- Lai, F. Y., Y. Y. Chang, Y. C. Chen, E. C. Lin, H. C. Liu, J. F. Huang, S. T. Ding, and P. H. Wang. 2020. Monitoring of genetically close Tsaiya duck populations using novel microsatellite markers with high polymorphism. *Asian-Australas. J. Anim. Sci.* 33: 888-901.
- Liu, Z. J. and J. F. Cordes. 2004. DNA marker technologies and their applications in aquaculture genetics. *Aquaculture* 238: 1-37.
- Magpantay, V. A., A. L. Lambio, R. P. Laude, C. E. Reano, and M. G. Q. Diaz. 2019. Genetic diversity of Philippine mallard Duck (*Anas platyrhynchos domesticus* L.) based on SSR markers. *Philipp. J. Sci.* 148: 725-733.
- Nei, M. 1972. Genetic distance between populations. *Amer. Nat.* 106: 283-292.
- Nei, M. 1978. Estimation of average heterozygosity and genetic distance from a small number of individuals. *Genetics* 89: 583-590.
- Palinkas-Bodzsar, N., N. Sztan, T. Molnar, and A. Hidas. 2020. Gene conservation of six Hungarian local chicken breeds maintained in small populations over time. *PLoS One* 15: e0238849.
- Pham, L. D., D. N. Do, L. Q. Nam, N. Van Ba, P. H. Ninh, D. P. Thuy, P. V. Son, and P. C. Thieu. 2021. Evaluation of genetic diversity and population structure in four indigenous duck breeds in Vietnam. *Anim. Biotechnol.* 15: 1-8.
- 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.
- Tamaki, K. 2007. Molecular forensics. In: *Minisatellite and Microsatellite DNA Typing Analysis*. pp. 71-86. John Wiley & Sons, Ltd. England.
- Tu, Y., J. Shu, G. Ji, M. Zhang, and J. Zou. 2018. Monitoring conservation effects on a Chinese indigenous chicken breed using major histocompatibility complex B-G gene and DNA Barcodes. *Asian-Australas. J. Anim. Sci.* 31: 1558-1564.
- Veeramani, P., R. Prabakaran, S. N. Sivaselvam, T. Sivakumar, S. T. Selvan, and S. M. K. Karthickeyan. 2021. Genetic Diversity of Six Duck Populations in India. *Indian J. Anim. Res.* B4379.
- 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.
- Wu, F., Y. Huang, Y. Ma, S. Hu, J. Hao, and N. Li. 2009. Evaluation of genetic diversity and relationships within and between two breeds of duck based on microsatellite markers. *Prog. Nat. Sci.* 19: 1581-1586.

- 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.
- Zhang, X., Y. He, W. Zhang, Y. Wang, X. Liu, A. Cui, Y. Gong, J. Lu, X. Liu, X. Huo, J. Lv, M. Guo, X. Du, L. Han, H. Chen, J. Chen, C. Li, and Z. Chen. 2021. Development of microsatellite marker system to determine the genetic diversity of experimental chicken, duck, goose, and pigeon populations. *Biomed. Res. Int.* 2021: 8851888.
- Zhang, Y., L. Wang, Y. Bian, Z. Wang, Q. Xu, G. Chang, and G. Chen. 2019. Marginal diversity analysis of conservation of Chinese domestic duck breeds. *Sci. Rep.* 9: 13141.

Study on genetic structure and phylogeny in Chihsin duck using microsatellite markers ⁽¹⁾

Yi-Ying Chang ^{(2) (4)} Liang-Yuan Wei ⁽²⁾ Jih-Yi Chen ⁽³⁾ and Hsiu-Chou Liu ⁽²⁾

Received: Aug. 9, 2022; Accepted: Dec. 29, 2022

Abstract

Pekin duck was first introduced into the Livestock Research Institute in Taiwan in the 1950s and 1960s and continuously selected for feather color, weight, and duration of fertility. The novel line was named Chihsin Duck (CH) in 2021. However, because CH are a closed population with a small population size, their allele frequencies and genetic diversity were easily affected by selection and breeding strategies, and should be monitored regularly. Therefore, the purposes of this study were to establish the genetic variation information of CH and to investigate the phylogeny with other duck species. In this study, a total of 11 microsatellite markers selected from the brown Tsaiya duck were used for analysis. The results showed the genetic variations in CH were slightly lower than that of the industrial Pekin duck lines (BPs). The average number of alleles in CH was slightly lower than that of germplasm-persevered Tsaiya ducks and the synthetic line between Pekin duck and brown Tsaiya duck, but higher than the selected white Tsaiya duck. The number of effective alleles was roughly in the same level as that of the aforementioned lines. It may be due to the small population of CH and the long-term selection, resulting in the aforementioned results. However, the values of within-population inbreeding coefficient in different markers were very different, so there should be no serious inbreeding depression in CH at present. The results of the phylogenetic tree showed that CH had the shortest genetic distance with BPs, but it did not form any robust branch between CH with any other breeds (lines), including the BPs. In this study, the pairwise F_{ST} of CH and BPs were 0.1582 and 0.1873, respectively, which were close to the pairwise F_{ST} at the lowest breed level. However, the genetic differentiation relationship between CH and BPs should still be close to the line level based on the results of the phylogenetic tree and STRUCTURE. In the future, the genetic variation results analyzed in this study would be used as a reference to regular genetic monitoring. In addition, the results of genetic structure analysis could also be applied to mating and breeding programs when this line was promoted to industry.

Key words: Genetic polymorphism, Genetic structure, Microsatellite markers, Pekin duck.

(1) Contribution No. 2728 from Livestock Research Institute, Council of Agriculture, Executive Yuan.

(2) Ilan Branch, COA-LRI, Ilan 26846, Taiwan, R. O. C.

(3) Hsinchu Branch, COA-LRI, Miaoli 36841, Taiwan, R. O. C.

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