

國立臺灣大學生農學院動物科學技術學系

碩士論文

Department of Animal Science and Technology

College of Bioresources and Agriculture

National Taiwan University

Master Thesis

利用分子標識分析臺灣山羊族群之

族群遺傳結構與生長性狀之相關性

Using the genetic markers to analyze

population genetic structure and

growth traits association in goat populations

in Taiwan

殷瓊瑛

Chiung-Ying Yin

指導教授：王佩華 博士

Advisors: Pei-Hwa Wang, Ph. D.

中華民國 104 年 7 月

July, 2015





目 錄

誌 謝.....	III
圖 次.....	IV
表 次.....	VI
附表次.....	VII
中文摘要.....	VIII
英文摘要.....	X
壹、文獻檢討.....	1
一、臺灣肉羊產業發展概況與產值.....	1
二、臺灣山羊育種與保種.....	3
三、臺灣現有山羊品種介紹.....	4
四、分子遺傳標識 (molecular genetic marker)	19
五、分子標識之多態性在族群的研究.....	24
六、分子標識在臺灣山羊之應用.....	31
貳、材料與方法.....	41
試驗一：應用微衛星標識進行臺灣山羊族群遺傳結構分析.....	41
(一)、試驗動物.....	41
(二)、血液採集及基因組 DNA (genomic DNA, gDNA) 萃取.....	41
(三)、微衛星標識引子設計.....	41
(四)、多引子聚合酶鏈鎖反應 (multiplex-PCR).....	42
(五)、電泳樣品製備.....	42
(六)、PCR 產物基因型判別	47
(七)、微衛星標識基因型頻率統計.....	47
試驗二：利用候選基因法進行臺灣努比亞生長性狀及體型測量值相關性分析..	48
(一)、試驗動物及生長性狀資料收集.....	48
(二)、血液採集及基因組 DNA (genomic DNA, gDNA) 萃取.....	48
(三)、及時聚合酶鏈鎖反應 (real-time PCR) 及候選基因多態性分析.....	48
(四)、統計分析.....	54
參、結果.....	55
試驗一：應用微衛星標識進行臺灣山羊族群遺傳結構分析.....	55
(一)、微衛星標識基因座與遺傳變異.....	55
(二)、遺傳介值評估臺灣黑山羊族群遺傳變異與近親程度.....	55
(三)、族群間基因流動 (gene flow) 與遺傳分化程度 (genetic differentiation, F_{ST}) 分析.....	59
(四)、遺傳距離與分群分析.....	59
(五)、個體鑑別率之估算.....	69

試驗二：利用候選基因法進行臺灣努比亞生長性狀及體型測量值相關性分析..	72
(一)、候選基因多態性之分析.....	72
(二)、 <i>MSTN</i> 基因 5 端 UTR 區域基因多態性分析	72
(三)、 <i>IGF-1</i> 基因第四內顯子基因多態性分析.....	78
(四)、 <i>POUIF1</i> 基因第六外顯子區域基因多態性分析.....	84
肆、討論.....	90
試驗一：應用微衛星標識進行臺灣山羊族群遺傳結構分析.....	90
(一)、微衛星基因座與遺傳變異.....	90
(二)、族群遺傳結構與近親程度結果.....	91
(三)、遺傳距離與分群.....	91
(四)、臺灣山羊個體鑑別率.....	92
(五)、應用衛星標識於臺灣黑山羊族群保育之探討.....	93
試驗二：利用候選基因法進行臺灣努比亞生長性狀及體型測量值相關性分析..	94
(一)、 <i>MSTN</i> 基因 5 端 UTR 區域基因多態性分析	94
(二)、 <i>IGF-1</i> 基因第四內顯子區域基因多態性分析.....	95
(三)、 <i>POUIF1</i> 第六外顯子區域基因多態性分析.....	97
伍、結論.....	99
參考文獻.....	100
附錄.....	108

誌 謝



能完成這篇論文，我要特別感謝我的指導教授 王佩華老師，老師不厭其煩地指導、不時的討論並指點迷津，讓學生獲益匪淺，老師對學問的嚴謹與認真更是學生的典範。

也要感謝試驗期間，有幸合作的農委會畜產試驗所恆春分所、花蓮種畜繁殖場及各民間養羊場，提供試驗羊隻、採樣及人力上的協助。動物育種與資源應用實驗室的每一位成員，包括怡蓁學姐與芳裕學長親自指導實驗技巧；岳錚學長、柏安學長與瑞軒學長給予資料統計分析的思考方向；蕙婷學姊、雨蓁學姊與徐博提供實驗室內所有的技術支援及諮詢協助；亦感謝林彤、宇軒與晉廷在實驗上的同甘共苦，大家對我的支持與鼓勵，點滴在心頭，僅此表達最誠摯的謝意。

除了實驗室以外，特別感謝系辦公室的奕雯學姊及位育學長，不時提醒與諄諄告誡學生們的修課和畢業等相關事宜；以及系上的每一位老師，在課堂上的不吝指導；最後感謝 R02 的同學們生活及課業上的相互作伴與勉勵，也感謝系上學弟妹們熱情參與實習課，教學相長，豐富彼此的求學生涯，添加許多美好的回憶。

最後，感謝我的家人，你們無私地提供我在求學階段所需的一切，我是最幸運的孩子，讓我有足夠的勇氣去面對一切的困難，其他所有愛我及支持我的朋友，感謝你們陪我度過許多艱難的時刻，願每一個人平安喜樂，生活順遂。

圖次

圖 1 臺灣現有主要的山羊品種。a: 臺灣黑山羊；b: 努比亞；c: 波爾；d: 撒能；e: 阿爾拜因；f: 吐根堡。.....	9
圖 2 波爾山羊品種之不同品系。a: 標準毛色品系；b: 純黑品系；c: 純紅品系。.....	10
圖 3 墾丁山羊選育流程圖。.....	13
圖 4 墾丁山羊外貌特徵。a: 墾丁山羊之公羊；b: 墾丁山羊之母羊；c: 墾丁山羊之女羊；d: 墾丁山羊之仔羊。.....	14
圖 5 吉安山羊選育流程圖。.....	17
圖 6 吉安山羊外貌特徵。a: 種公羊；b: 種母羊；c: V 型外張角；d: 耳大向外擴張；e: 長鬚；f: 瞳孔為圓型。.....	18
圖 7 微衛星標識：(a) 重複之純粹程度；(b) 重複單位之總長。.....	21
圖 8 微衛星主要之形成機制為 DNA 複製時發生了模板股的滑動。.....	21
圖 9 形成微衛星標識之重複片段增減的兩個主要機制：a: 重組；b: 滑動。..	22
圖 10 單核苷酸多態性與單型之關係圖。.....	22
圖 11 親緣關係樹：a. 未加權算術平均對群法(UPGMA)及 b. 鄰位連接法(NJ)的圖示。.....	30
圖 12 比利時藍牛(左)與皮埃蒙特牛(右)的雙肌表現型。.....	33
圖 13 缺乏 <i>MSTN</i> 基因小鼠 (a) 的肌肉量為野生型 (b) 的兩到三倍。前肢末梢切片之蘇木素-伊紅染色圖 (c) 缺乏 <i>MSTN</i> 基因小鼠 (d) 野生型小鼠。.....	33
圖 14 具有 <i>MSTN</i> 基因突變之特賽爾綿羊個體出現肌肉量增加之表現型 (increased muscle mass, IMM)。.....	34
圖 15 野生型六日齡與二月齡小鼠 (w and W) 與 <i>IGF-I</i> 基因突變個體 (i and I) 身形比較。.....	38
圖 16 自哺乳動物白血球抽取基因組 DNA 的流程。.....	44
圖 17 利用 15 組微衛星標識將不同山羊族群以鄰近相接法繪製類緣關係樹。.....	62
圖 18 各山羊族群利用族群遺傳距離所建構之主座標分析 (PCA)。各軸上數字表示各軸所區分出之變異占總變異量之百分比。KM: 金門山羊、TB-HC: 臺灣黑山羊恆春品系、TB-HU: 臺灣黑山羊花蓮品系、JA: 吉安山羊、NU-C: C 場努比亞、NU-HC: 恆春努比亞、NU-S: S 場努比亞、KG: 墾丁山羊、BO: 波爾、AL: 阿爾拜因。.....	65
圖 19 各山羊個體利用 15 組微衛星標識所繪製之 STRUCTURE 群集分析圖 (K = 4 至 7)。K 值為軟體預設之可能的群集數，以不同顏色表示之，縱軸為個體的基因來源於該群集之比例，且每一圖條表示一個個體。NU-C: C 場努比亞、NU-S: S 場努比亞、KG: 墾丁山羊、TB-HC: 臺灣黑山羊恆	

春品系、NU-HC：恆春努比亞、BO：波爾、AL：阿爾拜因、KM：金門山羊、JA：吉安山羊、TB-HU：臺灣黑山羊花蓮品系。.....	66
圖 20 (a) L(K) 與 (b) ΔK 之折線圖。兩種分析圖皆顯示建議 K 值為 4。.....	67
圖 21 全體山羊個體利用 15 組微衛星標識以鄰位連接法所得之親緣關係樹。.....	68
圖 22 全體山羊族群之個體鑑別率 ($P_{(ID)}$) 以及近親個體鑑別率 ($P_{(ID)sib}$) 對微衛星標識數目之折線圖。.....	71
圖 23 山羊肌肉抑制素基因 5 端 UTR 片段以 <i>DraI</i> 限制酶切割之基因型判定。; Lane 1 及 4: BB 基因型 (504 和 179 bp); Lane 2: AA 基因型 (696 bp); Lane 3: AB 基因型 (696、504 和 179 bp); M: 100 bp DNA ladder marker。.....	74
圖 24 <i>MSTN</i> 基因 5 端 UTR 區域 g.1256 TTTTA/- 位點以 TaqMan SNP Genotyping Assay 分析之基因型結果。未加 DNA 模板之對照組 (negative control) 以 (■) 表示。.....	75
圖 25 山羊類胰島素生長因子 I 基因第四內顯子區域片段以 <i>HaeIII</i> 限制酶切割之基因型判定。Lane 1: CC 基因型 (177 bp); Lane 2: CG 基因型 (177、117 和 60 bp); Lane 3: GG 基因型 (117 和 60 bp)。M: 100 bp DNA ladder marker 大小為 60 bp 的片段無法在 agarose gel 上顯示。.....	80
圖 26 <i>IGF-I</i> 基因第四內顯子區域 g.282G>C 位點以 TaqMan SNP Genotyping Assay 分析之基因型結果。未加 DNA 模板之對照組 (negative control) 以 (■) 表示。.....	81
圖 27 山羊 <i>POUIF1</i> 基因第六外顯子區域 g.102T>G 變異位點(黃色標示)。(a) GG 基因型; (b) TG 基因型; (c) TT 基因型。.....	86
圖 28 <i>POUIF1</i> 基因第六外顯子區域 g.102T>G 位點以 TaqMan SNP Genotyping Assay 分析之基因型結果。未加 DNA 模板之對照組 (negative control) 以 (■) 表示。.....	87

表 次



表 1 來自 4 個羊場共 10 個山羊族群之試驗動物樣本數.....	43
表 2 本試驗使用之 15 組微衛星標識之標定螢光引子資料一覽表.....	45
表 3 本試驗三組多引子 PCR 的反應條件.....	46
表 4 本試驗候選基因 <i>MSTN</i> 、 <i>POUIF1</i> 和 <i>IGF-1</i> 突變型態與突變位點.....	50
表 5 本試驗各候選基因 TaqMan SNP Genotyping Assay 之引子及螢光探針序列.....	51
表 6 以 PCR-RFLP 分析肌肉抑制素基因 (<i>MSTN</i>) 與類胰島素生長因子 I 基因 (<i>IGF-1</i>) 之引子序列、限制酶種類、PCR 產物大小與擴增位置, 以及以直接定序法分析垂腺特定轉錄因子 1 基因 (<i>POUIF1</i>) 之引子序列、PCR 產物大小與擴增位置.....	52
表 7 本試驗中分析肌肉抑制素基因 (<i>MSTN</i>)、類胰島素生長因子 I (<i>IGF-1</i>) 與垂腺特定轉錄因子 1 (<i>POUIF1</i>) 基因多態性之 PCR 反應條件.....	53
表 8 利用 15 個微衛星標識於整體山羊族群之交替基因範圍、觀測與期望交替基因數目、期望與觀測雜合度以及多態性訊息含量.....	57
表 9 利用 15 個微衛星標識檢測試驗之臺灣山羊族群間遺傳變異.....	58
表 10 10 個山羊族群間遺傳分化程度 (F_{ST}) 與基因流動 (N_m) 估計值.....	60
表 11 本試驗各山羊族群之間的遺傳距離估值.....	61
表 12 全體山羊族群於 15 組微衛星標識之個體鑑別率 ($P_{(ID)}$) 以及近親個體鑑別率 ($P_{(ID)sib}$).....	70
表 13 來自不同族群之努比亞山羊族群 <i>MSTN</i> 基因 5 端 UTR 區域 g.1256 TTTTA/- 變異位點之基因型及交替基因頻率.....	76
表 14 <i>MSTN</i> 基因 5 端 UTR 區域 g.1256TTTTA/- 之基因型與努比亞山羊生長性狀之相關性.....	77
表 15 來自不同族群之努比亞山羊族群 <i>IGF-1</i> 基因第四內顯子區域 g.282G>C 變異位點之基因型及交替基因頻率.....	82
表 16 <i>IGF-1</i> 基因第四內顯子區域 g.282C>G 之基因型與努比亞山羊生長性狀之相關性.....	83
表 17 來自不同族群之努比亞山羊族群 <i>POUIF1</i> 基因第六外顯子區域 g.102T>G 變異位點之基因型及交替基因頻率.....	88
表 18 <i>POUIF1</i> 基因第六外顯子區域 g.102T>G 基因型與努比亞山羊族群生長性狀之相關性.....	89

附表次




表 A. 1 ILSTS019 基因座於 10 個山羊族群之交替基因頻率	108
表 A. 2 INRA063 基因座於 10 個山羊族群之交替基因頻率	109
表 A. 3 SRCRSP08 基因座於 10 個山羊族群之交替基因頻率	110
表 A. 4 HSC 基因座於 10 個山羊族群之交替基因頻率	111
表 A. 5 SRCRSP023 基因座於 10 個山羊族群之交替基因頻率	112
表 A. 6 OarFCB20 基因座於 10 個山羊族群之交替基因頻率	113
表 A. 7 McM0527 基因座於 10 個山羊族群之交替基因頻率	114
表 A. 8 INRA023 基因座於 10 個山羊族群之交替基因頻率	115
表 A. 9 CSR0247 基因座於 10 個山羊族群之交替基因頻率	116
表 A. 10 BM1258 基因座於 10 個山羊族群之交替基因頻率	117
表 A. 11 SRCRSP001 基因座於 10 個山羊族群之交替基因頻率	118
表 A. 12 SPS113 基因座於 10 個山羊族群之交替基因頻率	119
表 A. 13 BOBT24A 基因座於 10 個山羊族群之交替基因頻率	120
表 A. 14 BM1329 基因座於 10 個山羊族群之交替基因頻率	121
表 A. 15 SPS115 基因座於 10 個山羊族群之交替基因頻率	122

中文摘要



山羊為臺灣酪農產業中僅次於乳牛的重要乳品與肉品來源，又山羊肉相較於其他肉品，避免了文化與宗教因素的限制，因而逐漸為消費者所接受，開啟了透過人擇來篩選具有較優良生長性能山羊個體之選拔工作。由於我國本土山羊臺灣黑山羊 (Taiwan black goat, TB) 生長緩慢且產肉率低，因此透過引入外國品種山羊進行育種改良，然而大量雜交試驗與缺乏配套之本地黑山羊保育工作，導致本地黑山羊數量大幅銳減與遺傳歧異度流失，有鑑於本地黑山羊為臺灣之特有種，必須將其種源 (germplasm) 加以保育。近年來，分子標識已廣為應用於評估物種間之遺傳變異與供分子育種之用途，本研究目的為利用分子標識，分析包含臺灣黑山羊之族群遺傳結構與生長性狀之相關性，以兼顧種源的保存以及培育優良種源之目標。

本研究蒐集來自 10 個山羊族群共 682 頭山羊之血樣，以 15 組微衛星標識進行遺傳變異分析，試驗結果顯示，在所檢測的山羊族群，平均交替基因數 (average number of alleles, N_a) 與有效交替基因數 (effective alleles, N_e) 分別為 11.87 ± 3.40 及 5.1 ± 1.80 ；平均期望異質度 (average expected heterozygosities, H_E) 與觀測期望異質度 (observed heterozygosities, H_O) 分別為 0.781 ± 0.081 與 0.602 ± 0.116 ；平均多態性訊息含量 (polymorphic information content, PIC) 為 0.747 ± 0.103 ； F_{IS} 的範圍從 -0.034 至 0.215 之間，平均值為 0.058，顯示所有的微衛星標識在所檢測的族群中皆具有多態性 (polymorphism)，且所有試驗族群已有近親之現象。進一步使用 Nei (1972) 法計算各族群間遺傳距離矩陣並以鄰近相接法 (neighbor-joining, NJ) 繪製親緣關係樹 (phylogenetic tree)，結果顯示可將臺灣黑山羊族群與其他山羊族群進行分群 (clustering)，且臺灣黑山羊種源於恆春分所保存完善。此外，本研究另選擇對生長具有影響之候選基因，進行基因型與諸在養山羊生長性狀之相關性分析，包含 *MSTN* g.1256TTTTA/-、*POU1F1* g.102T>G 與 *IGFI* g.282G>C 三組 SNP 標識，並蒐集 497 頭努比亞山羊於出

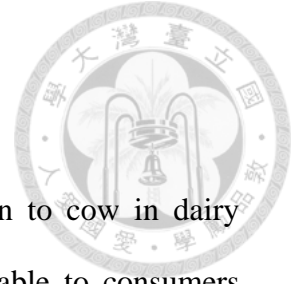


生、三月齡（離乳）、六月齡、九月齡及十二月齡之體重（body weight, BW）、體高（body height, BH）、體長（body length, BL）及胸圍（body chest girth, BCG）之測量值，並計算各生長階段之平均日增重（average daily gain, ADG），結果顯示，三組 SNP 標識皆對努比亞生長性狀具有顯著地相關性。帶有 *MSTN* 基因之 BB 基因型個體於 BCG0、ADG6、BW6 和 ADG9 顯著地高於其他基因型（ $P < 0.05$ ）；帶有 *POUIF1* 基因之 D1D1 基因型個體於 BH6、BL6、BCG6、BW9、BH9、BL9、BCG9、BL12 和 BCG12 顯著地高於其他基因型（ $P < 0.05$ ）；帶有 *IGFI* 基因之 CC 基因型個體則在 BW0、BL0、BCG0、BH6、BL、BCG6、BL9、BCG9、BH12 和 BL12 顯著地高於其他基因型（ $P < 0.05$ ）。

綜合所述，本試驗所使用之微衛星標識，可應用於臺灣黑山羊及其雜交族群之遺傳結構分析，可供未來種源與保育工作之參考依據。同時，本試驗提供對提升生長性狀具有顯著效應之三組 SNP 標識，可進一步應用於臺灣肉用山羊之育種用途。因此，透過分子標識輔助選拔（marker-assisted selection, MAS），可加速更有效率且精確之保種與育種標的。

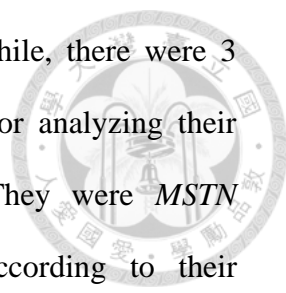
關鍵字：山羊、分子標識輔助選拔、微衛星標識

英文摘要



Goat was an important source of milk and meat in addition to cow in dairy farming in Taiwan. Goat meat has becoming much more acceptable to consumers without regards of cultural and religious barriers. Therefore, selection of goats to improve growth traits was brought into action. Due to the poor growth rate and meat yield of Taiwan black goat (TB) breed in Taiwan, many exotic breeds were brought into breeding scheme to improve their growth trait. However, excessively crossbreeding alien species with TB decreased its population and their genetic variation, so which was considered as an endemic species in Taiwan that needed to be preserved. In recent years, the genetic markers were studied and applied in domestic animals, aiming at evaluating and selecting across breeds. Hence the objective of this study is using genetic marker to analyze genetic structure and its growth performance in Taiwan, setting the purpose of genetic improvement as well as to sustain the germplasm preservation.

There were 15 sets of microsatellite markers used for analyzing 682 goats that sampled from 10 populations. The average number of alleles (N_a) and effective alleles (N_e) were 11.87 ± 3.4 and 5.1 ± 1.8 . The average expected heterozygosity (H_E) and observed heterozygosity (H_O) per locus were 0.781 ± 0.081 and 0.602 ± 0.116 . Average polymorphic information content (PIC) was 0.747 ± 0.103 . F_{IS} was 0.747. The results showed that 14 sets of microsatellite markers were highly polymorphic. The genetic distances between individuals were estimated using the method of Nei (1972) and followed by construction of phylogenetic tree using neighbor-joining (NJ) methods. The results indicated that these 15 sets of microsatellite markers were proved to successfully recognized different populations included. The germplasm of TB was



still well-preserved in Hengchun Branch, LRI, C. O. A. Meanwhile, there were 3 single nucleotide polymorphism (SNP) markers being selected for analyzing their association with growth traits of Nubian goats in Taiwan. They were *MSTN* g.1256TTTTA/-, *POUIF1* g.102T>G and *IGFI* g.282G>C according to their association with various productivity traits studied by several authors. In this trial, 497 Nubian goats were sampled. Growth traits data including body weight (BW), body length (BL), body height (BH), and body chest girth (BCG) at birth, weaning, 6-month-age, 9-month-age and yearling were collected. The average daily gain (ADG) at birth to weaning, weaning to 6-month-age, 6-month-age to 9-month-age and 9-month-age to yearling were also calculated, respectively. The association analysis revealed that 3 SNP markers had significantly effects. Individuals with BB genotype of *MSTN* gene showed better growth traits at BCG0, ADG6, BW6, and ADG9 among three genotypes ($P < 0.05$). Individuals with D1D1 genotype of *POUIf1* gene showed better growth traits at BH6, BL6, BCG6, BW9, BH9, BL9, BCG9, BL12 and BCG12 among three genotypes ($P < 0.05$). Individuals with CC genotype of *IGFI* gene showed better growth traits at BW0, BL0, BCG0, BH6, BL6, BCG6, BL9, BCG9, BH12 and BL12 among three genotypes ($P < 0.05$).

Overall, these 15 sets of microsatellite markers we used could apply for TB as well as hybrid goat population genetic structure for future conservation guidance, while growth traits association test also showed all three SNP markers have remarkable effects on it, provided practical application for meat goat breeding in Taiwan. As a result, marker-assisted selection (MAS) will promote rapid efficient breeding and selection of goat.

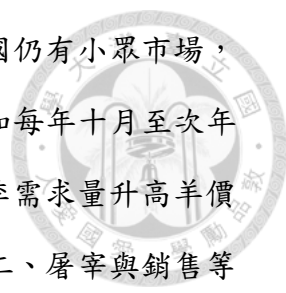
Key Words: Goat, Marker-assisted selection, Microsatellite marker

壹、文獻檢討



一、臺灣肉羊產業發展概況與產值

臺灣肉羊產業主要以肉用山羊為主，肉用綿羊只佔其中一小部分(蘇,2003)。早期臺灣肉羊產業受限於政策因素，民國 90 年以前之養羊政策，主要係輔導乳羊產業，並無肉羊之生產輔導，其主要的原因為防破壞水土保持。臺灣省政府於民國 57 年管制山羊放牧，澎湖縣亦於民國 65 年發布澎湖縣本島禁止養羊，直至民國 81 年肉羊的飼養模式改變成圈飼飼養後，臺灣的肉羊產業才開始蓬勃發展(高,2002)。而在肉羊運銷概況上，傳統上於秋冬季節，羊販至養羊戶處議價選購羊隻，由於資訊不明且規模不大，故養羊戶之議價能力不高，又有倒帳之風險，為保障農民權益，故前農林廳運銷科乃於民國 77 年 11 月輔導雲林縣肉品市場開辦羊隻拍賣業務(高,2002)。此外，種源方面，由行政院農業委員會及農林廳輔導恆春鎮農會主辦，並由臺灣省畜產試所恆春分所協辦，於民國 78 年起辦理種羊拍賣，以促進肉羊品種改良，加之有固定交易場所及定期交易，便利羊隻承銷與供應，因此當時臺灣肉羊身價也隨之水漲船高。民國 80 年肉羊拍賣價格也一度達到每公斤 218 元左右。由於當時羊價高漲，使得羊農飼養肉羊的頭數也顯著增加。民國 89 年及民國 90 年鳳山與彰化肉品市場亦相繼開辦羊之拍賣業務，期望透供公平、公開、公正的交易制度來維持羊隻價格，減少人為壟斷。農會系統亦辦理共同運銷供應並組產銷班及宣導教育等，至民國 90 年共計有 9 縣市 45 基層農會及 2 合作社辦理共同運銷業務，方便羊農銷售羊隻，市場交易量遂逐年成長(蘇,2003)。據農業統計資料顯示，民國 90 年臺灣地區養羊戶計有 4,691 戶，其中 648 戶為乳羊戶，餘均為肉羊戶，具畜牧場登記及飼養登記之養羊戶數僅次於豬、肉雞與蛋雞場數，肉羊產地主要分布於雲林、臺南、屏東、彰化、高雄、嘉義、臺東、臺中及苗栗等 9 縣，民國 86 至 90 年 5 年之平均投資報酬率，肉羊為僅次於乳羊者(高,2002)。



然國人對羊肉之偏好，並不似豬、雞肉普及，但羊產品在我國仍有小眾市場，惟國人對羊產品有補品之觀念，故常於秋冬季食用羊肉產品，如每年十月至次年三月半年之肉羊交易量占全年交易量之 70%，羊肉價格因冬季需求量升高羊價持續上揚，因此消費之淡、旺季甚為明顯，造成國內運銷、加工、屠宰與銷售等設施及人事等固定資源的投資無法平均有效應用之困擾（高，2002）。自民國 99 年 4 月養羊產業發生羊痘疫情，產業面臨嚴峻的考驗，經產、官、學界及養羊產業人員共同努力，於翌年 6 月底陸續全面施打羊痘疫苗後疫情已完全控制。因羊痘過後部分羊場未復養，又飼料價格逐年上漲，飼養頭數未見增加而需求量增加之情況下，導致民國 100 年起肉羊拍賣價格居高不下，即使在夏天淡季時羊價也可維持在 250 元/公斤以上，係我國最高價的食肉（孫，2012）。

綜合上述文獻顯示，羊隻拍賣市場的功能成效在於其交易公開、行情透明與貨款保障及市場服務之多樣化等，提供肉羊在直接在市場交易的參考價格，避免羊販剝削，並加速羊隻品質之提升並間接刺激羊肉料理店之發展與消費。

臺灣肉羊業者近幾年來在面臨羊隻供銷失衡情況下，均能快速改變生產策略。又因應臺灣於 2002 年加入世界貿易組織（World Trade Organization, WTO），在畜產品的國際化與自由化衝擊下，以減產及整合經營提升效率的方式，維持羊農獲利並且與其他國家進口羊肉相抗衡。在種源方面，國內肉羊業者應飼養體型大、增重快、耐粗放的肉羊為主，並配合農副產物飼料化，來降低生產之飼料成本（蘇，2003）。

依據 103 年農業統計年報資料顯示年底臺灣地區羊隻總飼養頭數約為 16 萬 850 頭，其中肉羊在養頭數約為 10 萬 3,079 頭，依數量分布前三名之縣市依序為臺南市（28,052 頭）、彰化縣（25,941 頭）以及高雄市（20,142 頭）。羊肉產量約為 1,888 公噸，乳用閩公羊及雜色閩公羊之羊價分別為 225.48 和 279.06（Unit：N.T./kg），年產值約為 11 億 4,316 萬元，占全國畜牧產業總值


的 0.76% (行政院農業委員會統計室, 2014), 故國產肉羊產業對消費行家與農家經濟之改善甚為重要。



二、臺灣山羊育種與保種

種羊產業是養羊產業的火車頭, 養羊先進國家無不重視種羊產業, 重視種羊產業才能使養羊產業永續經營, 我國自民國 78 年起行政院農業委員會及農林廳運銷科更輔導恆春鎮農會主辦, 並由臺灣省畜產試驗所恆春分所協辦種羊拍賣促進肉羊品種改良, 以及民國 84 年農林廳同意種豬基金會兼辦種羊登錄 (高, 2002), 目前種羊登錄工作, 由農委會指定, 中央畜產會辦理。臺灣的羊種早於 1923 年寺田 (1923) 在臺灣農事報發表臺灣山羊之調查報告 (戈與陳, 1952), 羊群以臺灣山羊最多, 其主要用途為祭神後肉用。1919 年日本人神谷清尤最早引入撒能山羊 (Saanen) 在臺灣臺北市飼養, 1931 年左右, 臺灣總督府再引進於恆春及嘉義兩個種畜場飼養, 光復後亦陸續進口種羊, 為當時臺灣主要乳用山羊之一 (吳等, 2005)。

早期農家羊群以臺灣黑山羊最多。一般民間以放牧方式飼養, 肥育後出售時多由羊販至農家選購, 形成先挑生長好、快、大者出售而無法留種之反向淘汰, 遂使臺灣黑山羊體型變小, 由於體型矮小, 肉寡毛短, 又未經有計畫性的改良, 最快要養到十八個月以上, 體重才有 20 至 25 公斤, 因此, 臺灣黑山羊並非優良的肉羊品種。為提高本地黑山羊生產性能, 日治時期曾用撒能種雜交改良, 惟因農民忌諱白色家畜祭祖敬神, 終使顯性白色優良品種式微。之後引進印度種 (Jamnapari) 及努比亞種 (Nubian) 等種公羊雜交繁殖, 期能增大體型、提高發育增重及屠宰率, 且能保存本地黑山羊的環境適應力及高繁殖效率, 惟育種改良工作未在有計畫的情況下進行, 因此改良效果不彰 (謝, 1998)。直至民國 70 年以後, 民間及臺灣省畜產試驗所恆春分所才自美國及澳洲陸續引進純




種努比亞與波爾公羊進行雜交改良，期望改善臺灣山羊體型矮小與生長速度緩慢等問題，以選育出增重快速之新品種羊隻，提供羊農另一種選擇(黃等,1993)。因此，近 30 年來，本地黑山羊大量與外國大型肉羊品種雜交，導致純種本地黑山羊頭數自民國 70 年以後即逐漸銳減，有鑑於此，畜產試驗所於民國 76 年，在國家級畜禽種源保存計畫下，開始蒐購臺灣本地黑山羊種源，於恆春分所、花蓮種畜繁殖場進行純種繁殖與種源保存，經多年選育，於民國 103 年通過農委會品種登記，正式命名為臺灣黑山羊恆春品系與臺灣黑山羊花蓮品系，分別於恆春分所與花蓮種畜繁殖場進行品系保存與復育，現今農民所飼養之山羊品種，多以外國品種及其雜交羊為主。

三、臺灣現有山羊品種介紹

臺灣現有山羊族群包含乳用及肉用山羊，然大部分皆為乳用品種。亦可分成臺灣本地黑山羊 (Taiwan Black goat) 及自國外引進的山羊品種，如撒能 (Saanen)、吐根堡 (Toggenburg)、阿爾拜 (Alpine)、努比亞 (Nubian) 及波爾 (Boer) …等品種。另為滿足國人偏好之全黑毛色，且體型中大的山羊品種，選育吉安山羊 (Ji-An goat) (行政院農業委員會畜產試驗所, 2014a) 及墾丁山羊 (Ken Ting goat) (行政院農業委員會畜產試驗所, 2014b) 之新品種，分別於行政院畜產試驗所花蓮種畜繁殖場 (Hualien Animal Propagation Station, Livestock Research Institute, C.O.A. 以下簡稱花蓮種畜繁殖場) 及行政院農業委員會畜產試驗所恆春分所 (Hengchun Branch, Livestock Research Institute, C.O.A. 以下簡稱恆春分所) 育成，並分別於民國 103 年及 104 年通過農委會品種登記。

(一) 臺灣黑山羊 (Taiwan Black goat)



早於中國元朝臺灣西岸沿海澎湖地區即有養羊的記載，目前臺灣本土山羊多為黑色山羊，於 17 世紀隨先民由廣東、福建大量引入，逐漸繁衍而成。與原分布臺灣中央山脈以東的褐雜色山羊或由菲律賓和印尼引入 (Gall, 1996) 者截然不同。臺灣黑山羊又稱為臺灣山羊、臺灣土山羊、臺灣本地黑山羊，毛色多為黑色或褐色，惟目前臺灣褐色山羊的數目極少或恐已滅絕，國人所稱的臺灣山羊、臺灣本地黑山羊、臺灣土山羊大多係指西部的黑色山羊，分布於中央山脈以西，因而稱作臺灣黑山羊，為今日臺灣特有之山羊品種 (圖 1a)。體型較外來品種小，顎下有長鬚，成熟時不論公、母均有鬚鬃及角。皮較厚，體質強健，對環境適應力極大，已完全適應臺灣濕熱的氣候環境，耐粗飼，抗熱性強而繁殖力亦佳，季節性發情不明顯，每年平均胎數多於一胎，每胎平均產仔數有 1.86 頭，懷孕日數平均 147 天，泌乳量低，平均一日僅 200 mL 左右。主要供做肉用及祭祀用。一歲齡體重約 20 至 25 公斤，體長約 50 至 55 公分，體高約 45 至 47 公分，胸圍約 58 至 62 公分 (賴等，2004)。臺灣黑山羊肉質具有特殊風味，且國人有偏好黑毛色禽畜肉的食補觀念，因此深受國內消費者的喜好。

(二) 努比亞 (Nubian)

本品種由英國培育，命名為盎格魯·努比亞 (Anglo-Nubian)，雜交選育中曾引入北非 (Zaraiibi) 及印度地區雜交公羊，故含有熱帶羊血統，能適應臺灣的溼熱氣候環境，最大特徵是羅馬鼻 (鷹鉤鼻)，及長而下垂的雙耳 (圖 1b)，耳長超過鼻尖 2.5 公分左右，體型中等以上。被毛顏色有黑色、棕色和褐色，以褐色最普遍，但頗多個體雜有白斑，毛短光滑，繁殖性能良好，多胞胎頻度高。因乳脂及乳固形物含量高，故有乳羊界中 Jersey 之稱，

其肉用性能比其他乳羊品種好，是屬於大型的乳肉兼用品種，亦為臺灣主要乳肉兼用山羊之一（白，2007）。畜產試驗所曾以努比亞進行本地土山羊級進改良試驗，目前努比亞山羊的級進改良品種為臺灣肉羊的主流品種。



（三） 波爾山羊（Boer goat）

Boer 原字意指『南非之荷裔族群』，波爾山羊（Boer Goat）是發源於非洲的本地山羊品種，或稍雜有歐洲、北非與印度山羊血統，由於早年在南非由南非荷裔人長期選育改良而得，此一山羊品種因而以此為名。波爾山羊體型碩大，毛色多變化，標準毛色的波爾常見在頭頸部有深棕色和淺棕色的色斑（圖 1c；圖 2a），亦有純黑（圖 2b）或純紅的品系選育（圖 2c）。該品種增重快速、繁殖效率高、早熟、母性良好、有極佳之耐粗能力及疾病抵抗力，被譽為目前世界上唯一經選育而得之理想肉羊品種。

恆春分所於民國 83 年自美國引進源自南非之標準色波爾山羊，復於民國 89 年自美國德州引進純黑之波爾山羊，以進行與純種及本地山羊之雜交試驗，期望透過雜交優勢來提升本地山羊肉用價值。民國 91 年 8 月 23 日，恆春分所向行政院農委會提出波爾山羊種源登記申請，於民國 91 年 10 月 15 日審定通過，因此波爾山羊即正式成為本省進口之山羊品種之一，並於民國 92 年 2 月 13 日首次標售 13 隻波爾山羊之種公羊，民間養羊業者亦自民國 92 年 8 月 18 日起陸續由國外進口波爾山羊（白，2007）。

（四） 撒能（Saanen）

撒能乳羊為瑞士品種之代表，源自瑞士貝倫縣撒能谷地而得名，一般認為撒能是乳羊中體型最大產乳量最多之品種。撒能山羊毛色多為白色或乳白色，

皮膚為粉紅或黃褐色，有些羊隻在乳房、眼、耳及鼻部附近皮膚有黑色斑點出現。兩耳直立略向前傾，鼻樑平直或略凹，有角或無角，頸部常有肉垂 (rattle)，性情溫和 (圖 1d)。公母羊均有鬍鬚，在溫帶地區的撒能山羊常見背部及大腿部有很長的毛髮，但引進到臺灣之後為適應亞熱帶氣候會有不同程度的換毛現象。成熟母羊體重約 65 公斤，骨架粗，活力佳。種公羊體高在 80 公分以上，體重則 100 公斤以上。撒能母羊泌乳期長達 8 至 9 個月，日產乳量約 3 至 6 公斤，且繁殖能力佳，有乳羊界中 Holstein 之稱，平均一胎產仔數 1.8 頭，繁殖性能佳，但耐熱性及耐粗飼性較差 (賴等，2004)。

(五) 阿爾拜因 (Alpine)

阿爾拜因的原產地為瑞士阿爾拜因山區，為瑞士品種之一，是以瑞士羊為基本種畜在法國山地所育成，目前臺灣主要的引種來源，包括自法國引進之冷凍精液與自美國及澳洲引進之活體山羊，最早與撒能品種同時於 1919 年由日本引進臺灣，光復後陸續進口種羊 (吳等，2005)。阿爾拜因體格強健，並能適應任何環境與氣候，尤以對熱季之適應良好。體型中至大型 (圖 1e)，成熟公羊可達 80 公斤以上，母羊可達 60 公斤或以上。平均每日產乳量 3 公斤以上，產乳量僅次於撒能品種，母羊的泌乳期長，體質強健，對不同氣候環境的適應性良好，且其黑毛色等特性使阿爾拜因的屠體價高於撒能，故逐漸取代撒能品種成為台灣主要乳用山羊之一。公羊有鬍鬚，頸部有多個肉髯。雙耳小而聳立，有的無角，有的有角，可區分為法國阿爾拜因 (French Alpine)、英國阿爾拜因 (British Alpine) 及瑞士阿爾拜因 (Oberhasli Alpine)，法國阿爾拜因毛色複雜，沒有固定的毛色，由黑、白、灰色及褐色等混雜而成。而英國阿爾拜因最大特徵為臉部有兩條條紋 (strip) (白，2007)。

(六) 吐根堡 (Toggenburg)

原產於瑞士的吐根堡山谷，根據瑞士育種家之說法，此品種為瑞士最古老且最純之品種，可能已被純種飼養達 300 年，由於吐根堡乳羊之遺傳基因已非常穩定，因此曾於英國與美國農部使用於本地山羊之級進育種(白，2007)。吐根堡毛色並非全身一致，大多以褐色為主，明顯品種斑紋為白色耳朵，而耳朵中央有暗色斑點，且由眼睛上方至口鼻部之二側臉頰有白色條紋，腿部膝關節以下至蹄的毛色亦為白色，前腿下方為暗色亦可被接受。在尾根兩側亦呈三角形的白色被毛，頸部有肉垂，母羊為中等長度被毛，公羊則被毛甚長，雙耳小，向前聳立(圖 1f)。成熟公羊可達 100 公斤以上，成熟母羊亦可達 55 公斤以上。吐根堡乳羊是乳羊中最小型之品種，具有典型的乳羊體型，寒冷地帶性能表現較佳，平均一日泌乳量 3 至 5 公斤，泌乳期可達九個月以上，乳脂率達 3.7%。因吐根堡羊體質強健，適應力強，容易飼養(賴等，2004)，民國 8 年日本人神谷清尤氏由日本與撒能羊同時引進臺灣，光復後亦曾陸續引種，但目前乳羊戶飼養的頭數極少(吳等，2005)。



圖 1 臺灣現有主要的山羊品種。a: 臺灣黑山羊；b: 努比亞；c: 波爾；d: 撒能；e: 阿爾拜因；f: 吐根堡。

Figure 1 Major goat breeds in Taiwan. a: Taiwan Black goat; b: Nubian; c: Boer; d: Saanen; e: Alpine; f: Toggenburg.

(照片來源：苗雨蒔，2011)

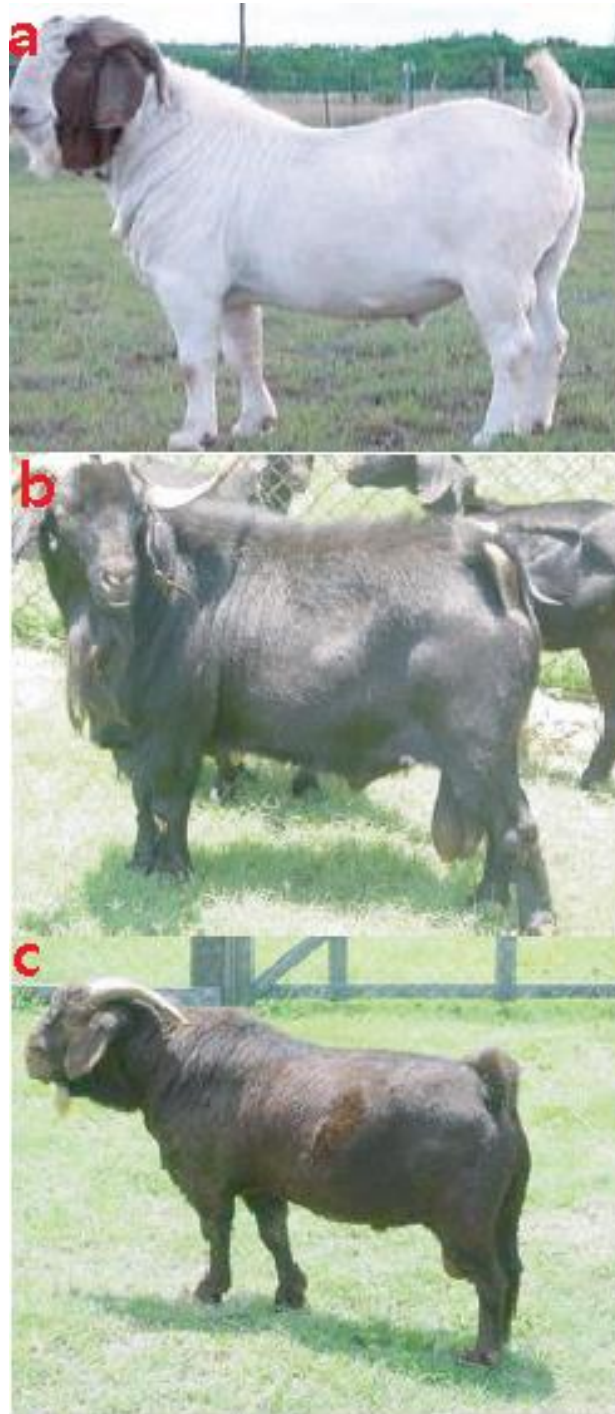


圖 2 波爾山羊品種之不同品系。a: 標準毛色品系；b: 純黑品系；c: 純紅品系。

Figure 2 Different strains of Boer goat breed. a: brown neck line; b: full black line; c: full red line.

(照片來源：苗雨蒔，2011)

(七) 新育成品種介紹-墾丁山羊 (Ken Ting goat)



1. 育種目標

臺灣黑山羊為臺灣重要的山羊種源，惟相對於國外山羊品種而言，體型較小精肉率較低。波爾山羊被公認為世界上生長速率最快、飼料換肉率最佳、環境適應性強而又耐粗飼的羊種，也是聯合國糧農組織 (FAO) 推薦開發中國家山羊雜交改良用的主要品種。加之國人深受「一黑、二黃、三花、四白」的食補觀念影響，市場拍賣中以黑色羊價格最高，因此育成黑毛色且體型較大之新品種羊隻，以滿足國內肉羊生產業者對大型羊種之需求有其必要性。

2. 種源來源

恆春分所於民國 70 年起陸續自國外引進努比亞山羊種公羊，當初主要與本地山羊母羊進行雜交改良，改良羊隻普受民間歡迎 (黃等, 1993)。而臺灣黑山羊種源早期亦由臺灣民間各地蒐購而來，兩個品種均於恆春分所自行繁殖超過 30 年以上。民國 89 年，恆春分所自美國德州引進 4 頭國際上稀有的黑色波爾種公羊，與恆春分所原有之努比亞山羊公羊 (NU) 及臺灣黑山羊恆春品系 (Hengchun Taiwan black goat, TB-HC) 母羊生產之雜交一代母羊，開始進行級進育種工作，利用三品種的雜交優勢性能育成具有黑色大型、生長快、飼料換肉率佳及抗病力強且耐粗飼的肉羊新品種，以育成地取命為墾丁山羊。

3. 選育流程

民國 89 年至民國 93 年間，採級進配種的方式，生產含不同波爾山羊血緣之級進 1 至 4 代等仔羊，並比較 145 頭各級進世代羊隻之經濟性狀

後，選定含 87.5 % 波爾山羊血緣之三品種波爾雜交山羊（NU 6.25 %，TB-HC 6.25 %）為育種族群。民國 93 年開始進行第二階段之自交配種，黑色公羊 5 頭、母羊 95 頭，擴大選育族群（蘇等，2010）。民國 95 年，開始第三階段以黑色公羊 5 頭、黑色母羊 35 頭進行封閉族群自交，同時進行生長性能之選育，選育出黑毛色且體型較大之墾丁山羊（圖 3；圖 4），並已於民國 104 年 6 月 5 日完成新品種登記。

4. 種源外貌特徵（圖 4）

- （1）體型大，呈楔型。
- （2）全身毛色全黑或黑色以外之毛色成羊不超過體表面積 2%（200 cm²）。
- （3）耳大下垂，鼻樑微拱，角向外後方擴展。
- （4）成年公羊或母羊顎下均無肉髯，只有公羊有鬍鬚。
- （5）舌頭無黑色斑點。
- （6）尾短、向上豎立。

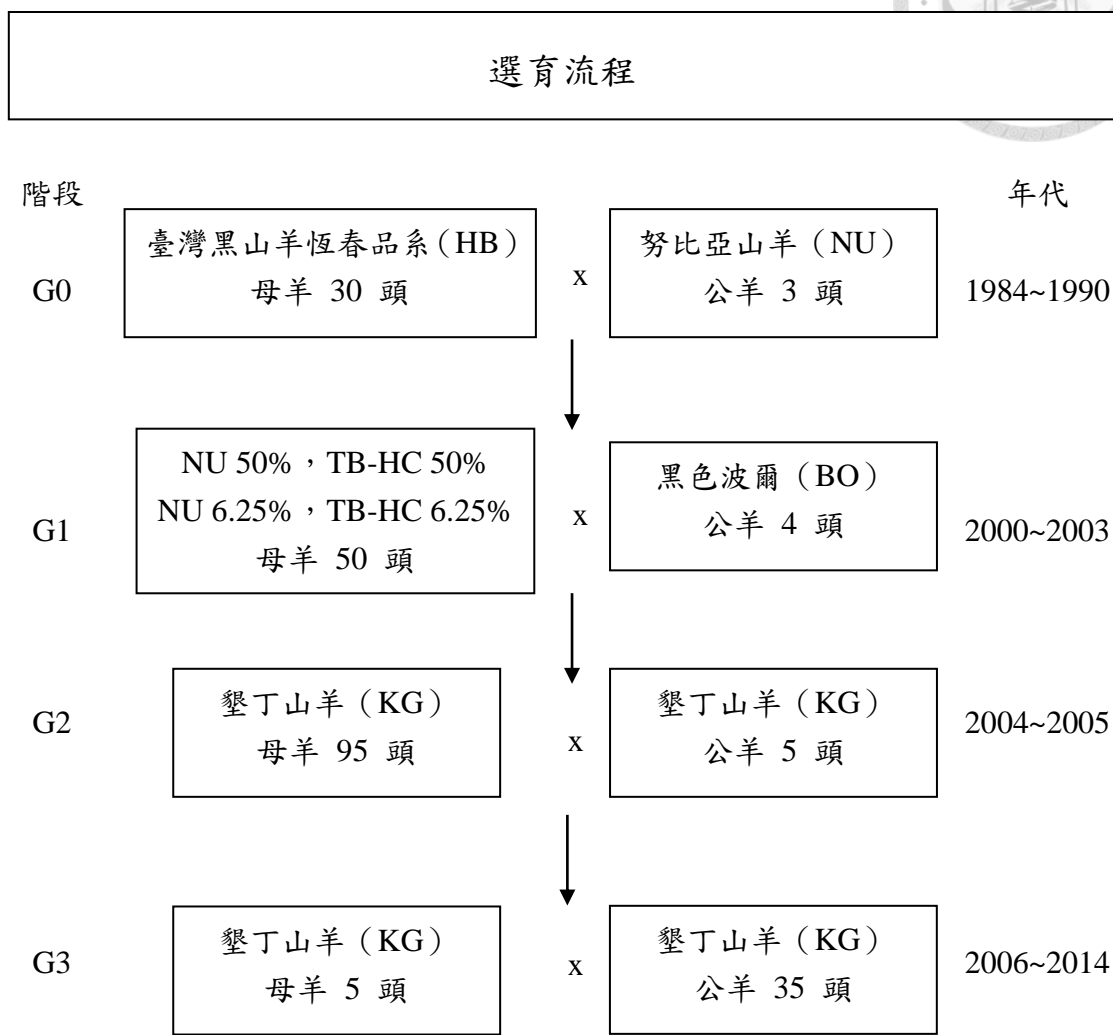


圖 3 墾丁山羊選育流程圖。

Figure 3 The breeding processes flowchart of Ken Ting goat.

(行政院農業委員會畜產試驗所，2014a)



圖 4 墾丁山羊外貌特徵。a：墾丁山羊之公羊；b：墾丁山羊之母羊；c：墾丁山羊之女羊；d：墾丁山羊之仔羊。

Figure 4 External characteristics of Ken Ting goat. a: buck; b: doe; c: doelings; d: kid.

(行政院農業委員會畜產試驗所，2014a)

(八) 新育成品種介紹-吉安山羊 (Ji-An goat)



1. 育種目標

本品種之選育為肉用山羊新品種之育成，其目標為選育出全黑毛色且體型中大的山羊品種，具臺灣黑山羊黑毛色、抗病、耐熱、耐粗及母性佳等遺傳特性，並兼具努比亞山羊體型大、生長快速及多產性等遺傳特性，適合以放牧或低成本方式飼養的地區性山羊品種，以區隔進口或國產羊肉產品市場。

2. 種源來源

吉安山羊原始母系為臺灣黑山羊(TB)，原始公系則為努比亞山羊(NU)。行政院農業委員會畜產試驗所花蓮種畜繁殖場自民國 76 年起開始進行吉安山羊繁殖選育計畫，利用自美國進口之 5 頭努比亞公羊與 50 頭臺灣黑山羊母羊進行雜交選育。民國 76 至 83 年間，以級進配種方式進行品種改良，結果顯示雜交一代山羊比其親代或其他級進代數高之子代更具顯著的雜交優勢(溫等，1997)。84 年開始調查雜交一代仔羊自交毛色分布之先期試驗，民國 85 年在「肉羊品種改良及人工繁殖技術」育種研究計畫中，開始以同世代間羊隻自交配種的方式進行全黑毛色且中大體型新品種山羊之選育。

3. 選育流程

選育流程係以臺灣黑山羊與努比亞山羊之雜交一代全黑毛色 J1 仔羊(50% TB, 50% NU 血統)進行同世代間自交選育，再由 J1 仔羊之子代選拔出全黑毛色的 J2 種羊，並逐步繁殖至 J6 世代(50% TB, 50% NU 血統)(圖 5)。為逐代提高羊隻被毛為全黑毛色之顯現率，本選育計畫非常重視各世代仔羊全黑毛色之選拔，此外選育過程更加入體重、體型及外觀評比等因子，選留出優秀的吉安山羊族群，並已於民國 103 年完成新品種登記。

4. 種源外貌特徵

羊隻全身被毛為黑色短毛，公、母羊均有角，1 歲齡角長約 12 公分，3 歲齡以上角長約 16 至 21 公分，最長可至 37 公分，角呈外 V 型者最常見，耳大向外擴張。公、母羊常有鬚，長度約 6 至 7 公分，最長可達 18 公分。眼睛有睫毛，鞏膜呈白色，虹膜為棕黃色，可控瞳孔大小，弱光時，瞳孔為圓型，遇強光時，瞳孔呈一字型。額頭略突，鼻線平直，與母系黑山羊較相似，無似努比亞山羊鷹勾鼻之突起。舌上有灰色大小不一斑點或全灰，少數呈全肉色（圖 6）。

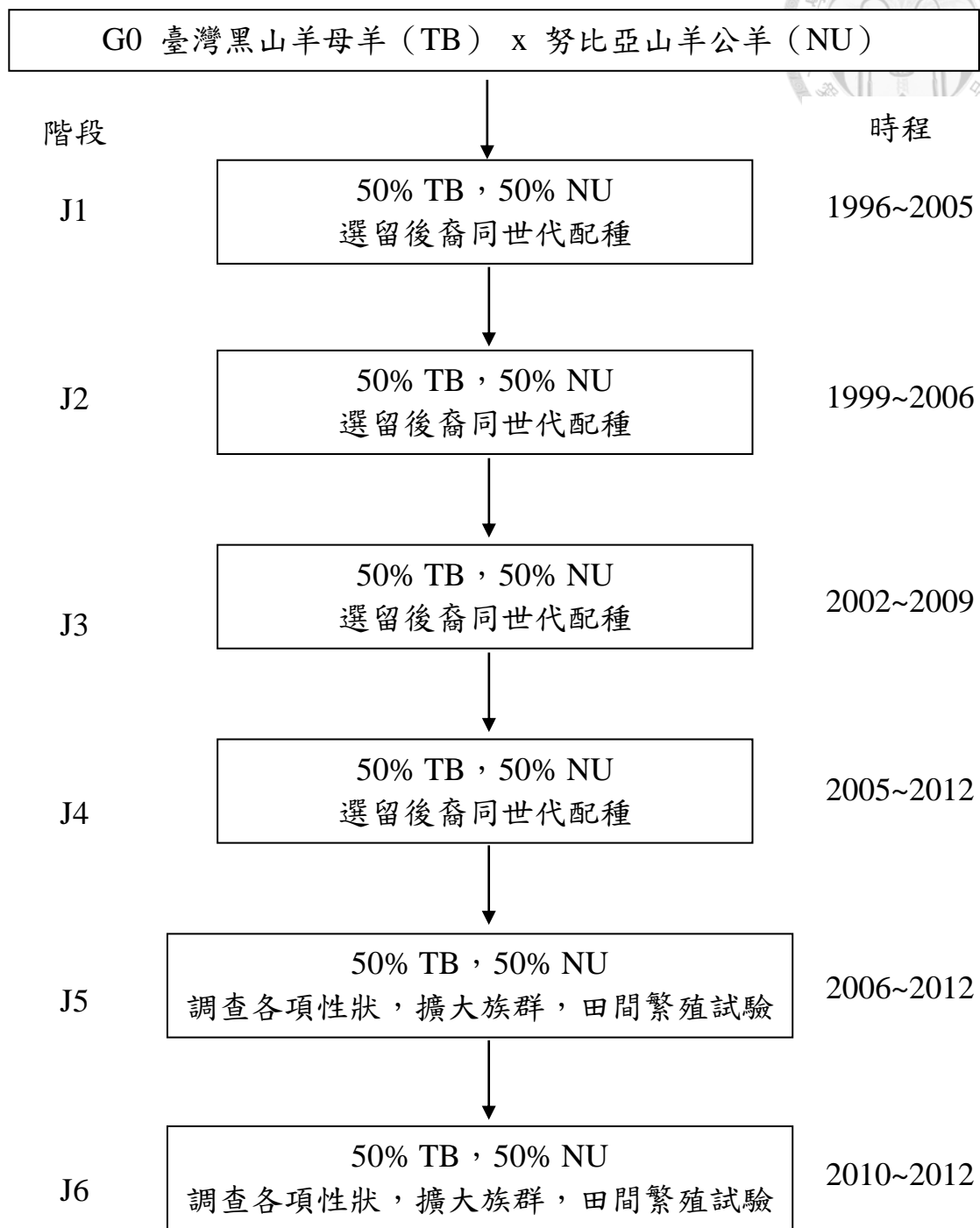


圖 5 吉安山羊選育流程圖。

Figure 5 The breeding processes flowchart of Ji-An goat.

(行政院農業委員會畜產試驗所，2014b)



圖 6 吉安山羊外貌特徵。a：種公羊；b：種母羊；c：V型外張角；d：耳大向外擴張；e：長鬚；f：瞳孔為圓型。

Figure 6 External characteristics of Ji-An goat. a: ram; b: ewe; c: V-shaped horn; d: big and wide-opened ears; e: mustache; f: rounded pupil.

(行政院農業委員會畜產試驗所，2014b)

四、分子遺傳標識 (molecular genetic marker)

在遺傳學上，分子標識是與基因組中特定位置相關聯的 DNA 片段，可用來辨別物種與個體 DNA 序列上的差異，稱為具有多態性之標識 (polymorphic markers)，因此成為分析基因變異的有力工具。分子標識可以是一個短片段的 DNA 序列，例如限制片段長度多態性 (restriction fragment length polymorphism, RFLP)、微衛星標識 (microsatellite marker)，或是單一個核苷酸的變異例如單核苷酸多態性 (single nucleotide polymorphism, SNP) 等。近幾年來，利用分子標識來分析家畜動物 DNA 序列所顯露出的高度多態性，顯示其在動物遺傳研究上扮演重要之角色 (Vignal *et al.*, 2002)。以下就本論文所提到之常用分子標識來進行介紹。

1. 限制片段長度多態性

限制片段長度多態性為最早應用核苷酸序列雜合反應 (hybridization) 的分子標識，最早於 1975 年首度使用於腺病毒血清型之 DNA 多態性分析，爾後被運用於建構人類遺傳圖譜上 (Semagn *et al.*, 2006)，並由 Jeffreys *et al.* (1985) 首次利用限制片段長度多態性來分析人類遺傳圖譜。其原理為使用限制酶 (restriction enzyme) 辨識特定 DNA 序列並截切的特性，一旦所辨識之 DNA 序列發生插入缺失 (insertion/deletion)、鹼基替換 (base substitution) 等點突變 (point mutation) 或重組 (rearrangement) 等變異，而產生限制酶之酶切位點增加、減少、搬移等酶切後產物的數目和大小不同之現象，經由膠體電泳分離出不同大小片段之酶切產物，藉此分析比較不同個體、族群甚至是物種間 DNA 差異，即 DNA 多態性 (DNA polymorphism)。傳統上利用南方墨點法 (southern blot) 分析判讀酶切結果，自 1985 年 Mullis 發明聚合酶鏈鎖反應 (polymerase chain reaction, PCR) 後，兩者結合稱為 PCR-RFLP，此技術快速簡便，且結果判定也較為容易 (Semagn *et al.*, 2006)。

2. 微衛星標識

原核及真核生物基因組中存在三種重複性 DNA 序列 (tandem repeats, TRs)，依重複單位之總長 (unit length) 可區分成衛星 (satellite) DNA、重複單位位於十至六十個核苷酸之迷你衛星 (minisatellites) 以及單位小於十個核苷酸之微衛星 (microsatellites)，重複片段的純粹程度 (purity) 與重複數皆影響微衛星標識之多態性 (圖 7)。微衛星又稱為短串聯重複序列 (short tandem repeats, STRs) 或簡單序列長度多態性 (simple sequence length polymorphisms, SSLPs)，是以 1 至 6 個鹼基為單位不斷重複所構成之序列 (Chambers and MacAvoy, 2000)，廣泛地分布在基因組中。Levinson and Gutman. (1987) 首先提出微衛星主要之形成機制為 DNA 複製時發生模板股的滑動導致配對錯誤 (slipped-strand mispairing, SSM)，造成新合成股的重複片段增減的情況 (圖 8) (Zhou *et al.*, 2014)，Gemayel *et al.* (2010) 認為 DNA 重組 (recombination) 也是影響微衛星成因之一，可能發生在染色體自身的互換，或染色體之間的非對等互換 (圖 9)。

3. 單核苷酸多態性

單核苷酸多態性是指 DNA 序列上發生的單個核苷酸鹼基的變異，包括基因組 DNA 核苷酸序列中的一個核苷酸被另一個核苷酸取代 (substitution) 或是一個或幾個核苷酸的插入或缺失 (indel) 所導致，是人類基因組 DNA 序列中最常見的變異形式，且在整個族群出現的機率大於 1%。然而在實際應用時，突變頻率小於 1% 也可被視為單核苷酸多態性 (Brookes, 1999)。單核苷酸多態性是一種在祖先時期產生之單點核苷酸突變，而帶有新突變核苷酸之個體與攜帶舊有核苷酸之個體，共同保存在後代族群之中，造成不同個體基因體同一位置，會有多種核苷酸存在之現象 (葉與黃，2009)。在同一條同源染色體上之單核苷酸多態性，統稱為單型 (haplotype)。圖 10 所示為三個核苷酸多態性，與其所對應單型之關係圖。

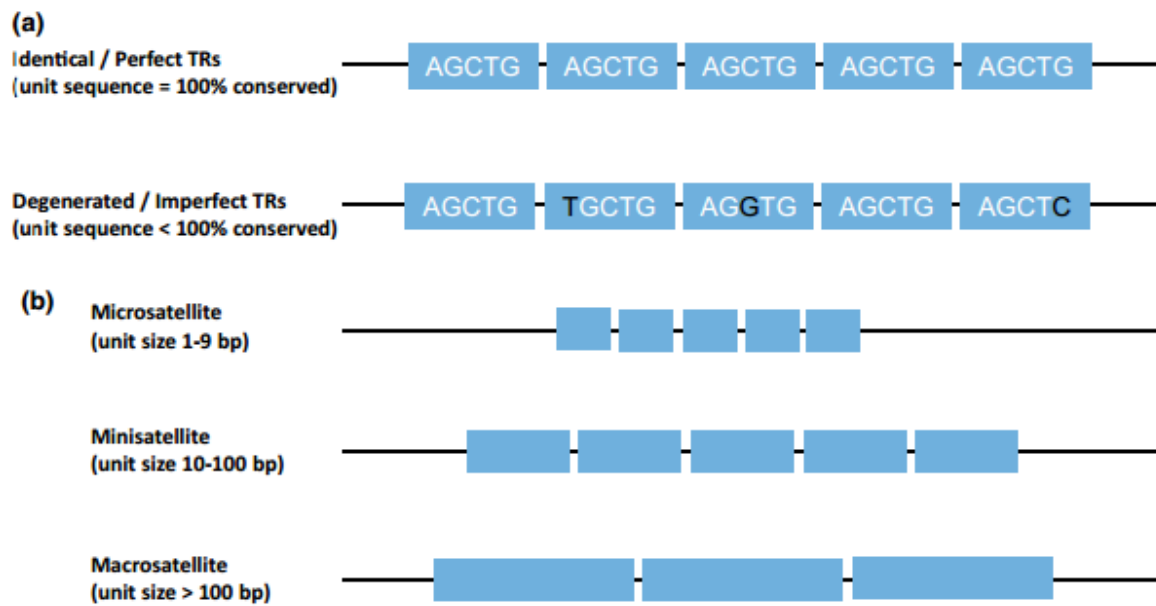


圖 7 微衛星標識：(a) 重複之純粹程度；(b) 重複單位之總長。

Figure 7 Schematic representation of different types of TRs. (a) Different conservation of repeat unit sequence. (b) Different sizes of repeat unit.

(Zhou *et al.*, 2014)

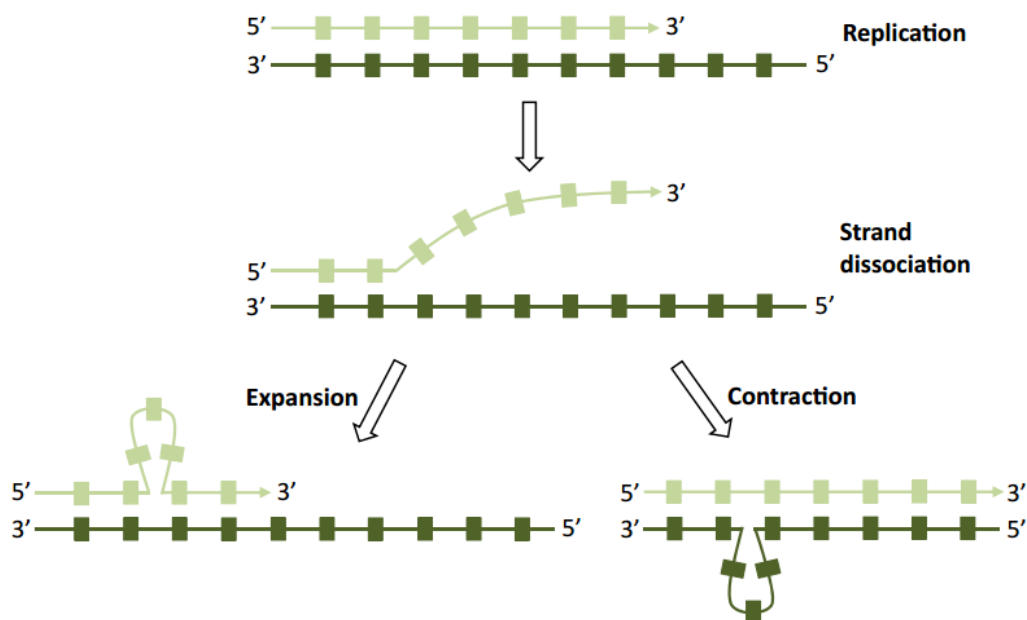


圖 8 微衛星主要之形成機制為 DNA 複製時發生了模板股的滑動。

Figure 8 Diagram illustrating the replication slippage mechanism.

(Zhou *et al.*, 2014)

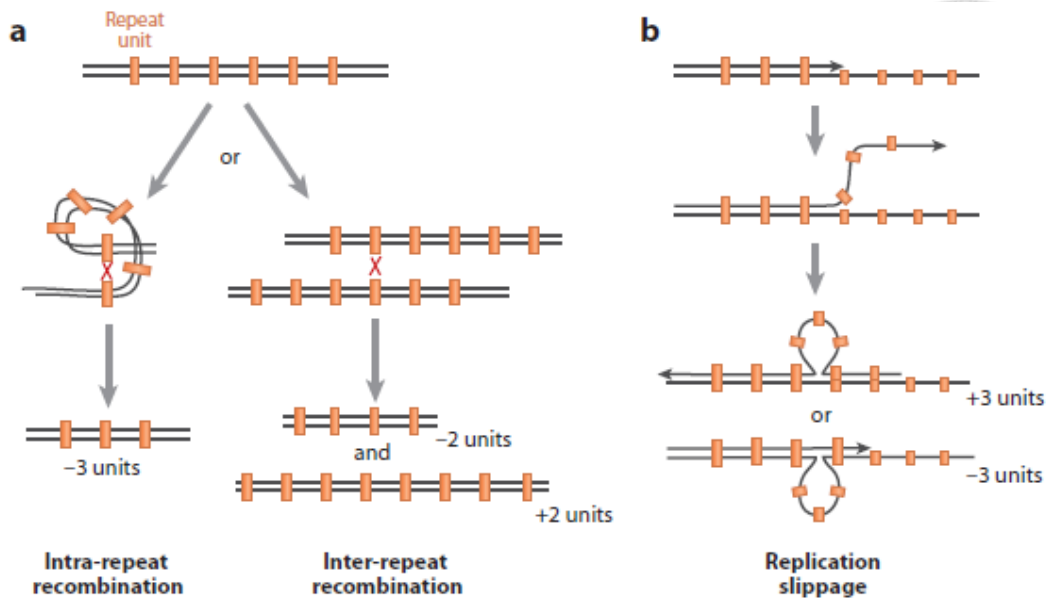


圖 9 形成微衛星標識之重複片段增減的兩個主要機制：a: 重組；b: 滑動。

Figure 9 Two major mechanisms for microsatellite: a: recombination; b: slippage.

(Gemayel *et al.*, 2010)

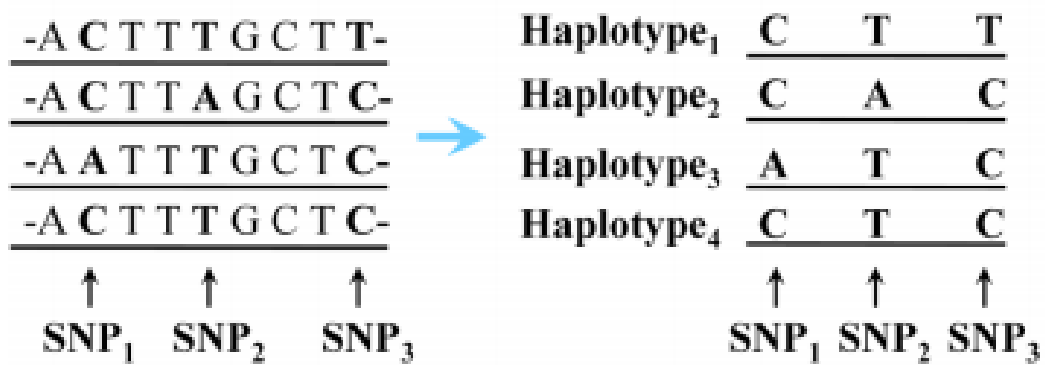


圖 10 單核苷酸多態性與單型之關係圖。

Figure 10 Relationship between SNP and haplotype.

(葉與黃，2009)。

根據單核苷酸多態性在基因體的位置與對蛋白質的影響程度，可進一步區分成兩種類型，分別為非編碼單核苷酸多態性（non-coding SNP）與編碼單核苷酸多態性（coding SNP），前者意指在非基因編碼區域例如啟動子（promoter）以及非轉譯區域（untranslated region; UTR）等單核苷酸多態性，後者則位於基因編碼區域，但此區域內之突變，並不一定會影響胺基酸型態，故根據胺基酸合成的影響程度，可再進一步區分成同義單核苷酸多態性（synonymous SNP）與非同義單核苷酸多態性（nonsynonymous SNP），前者並不會改變胺基酸型態，例如 CUU 和 CUC，在第三個位置雖有單核苷酸多態性，但其合成出之胺基酸依然是亮胺酸（leucine）；後者胺基酸型態之改變，進而可能造成蛋白質結構或功能之表現，例如 CUU 和 UUU，將導致胺基酸型態由亮胺酸改變為苯丙胺酸（phenylalanine）（葉與黃，2009）。除了造成胺基酸改變與否，單核苷酸多態性也被發現會造成基因選擇性剪接（alternative splicing）之差異，選擇性剪接是 pre-mRNA 修飾機制中，一個常見的修飾機制，基因藉由選擇性剪接可以產生出多種剪接異構體，並轉譯出各種不同功能的蛋白質異構體。Yuan *et al.* (2006) 發現在基因編碼區內的單核苷酸多態性，會造成個體於該基因剪接出不同的外顯子（exon）組合，或造成某些外顯子選擇不同之剪接點（splicing site），因此，這些選擇性剪接之差異，就會間接導致該基因產物之差異。

近年來，非基因編碼區域的基因體區段，被發現常會生成一些特殊的核醣核酸，這些特殊的核醣核酸，並不會轉譯成蛋白質，但是可以調控部分基因之表現。例如，微型核醣核酸（microRNA; miRNA）就是一種小片段的核醣核酸，長度約 20 至 23 個核酸，會與一些基因的訊息核醣核酸（messenger RNA; mRNA）結合，阻止該基因進一步轉譯成蛋白質，具有調控蛋白質表現量之功能（Yu *et al.*, 2007），意即不同的核苷酸會造成不同的基因調控結果，例如抑制或啟動基因表現，因此，不僅位於基因編碼區域之單核苷酸多態性會造成功能性差異，非編碼區域之單核苷酸多態性，也會調控基因表現。

利用 SNPs 做為遺傳標記運用於基因分析已漸受科學家的重視，主要有四個原因：(1) SNPs 普遍存在特殊性狀基因位置附近，它可提供更多可

能性的遺傳標識，例如在人類基因組 DNA 中大約每 1,000 個鹼基有一個 SNP；(2) 某些 SNPs 座落在密碼傳譯區域，可直接影響蛋白質功能，這些 SNPs 可能對個體之間重要性狀產生變異；(3) SNPs 比微衛星更為穩定，因此 SNPs 可作為長期的遺傳標記；(4) 利用 DNA 微序列 (microarray) 技術，SNPs 比微衛星更適用於大量的基因分析 (蘇，2007)。

五、分子標識之多態性在族群的研究

(一) 遺傳歧異度

在使用各種分子遺傳標記進行研究時，往往會利用試驗所得的結果進一步計算族群遺傳統計值，這些數值通常代表了不同的意義，以下將對這些統計值進行介紹。

1. 哈溫平衡 (Hardy-Weinberg equilibrium, HWE)

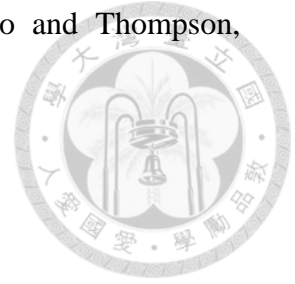
在一個理想的逢機交配 (random mating) 且無限大族群中 (完全隔離、沒有基因突變、所有的個體生殖能力均相同)，交替基因頻率 (allele frequency) 是固定不變的，基因型頻率 (genotypic frequency) 也維持一定，經過多個世代，仍可保持基因頻率與基因型頻率處於穩定的平衡狀態，此定律為哈溫定律，當 p 為 A 之基因頻率， q 為 a 之基因頻率，則表示三種基因型 (genotype) AA 、 Aa 與 aa 之頻率比為 p^2 、 $2pq$ 與 q^2 ，以簡單之數學公式表示：

$$[p(A) + q(a)]^2 = p^2(AA) + 2pq(Aa) + q^2(aa) = 1$$

此種基因型平衡分布之情形即稱為哈溫平衡，其交替基因頻率與基因型頻率，保持不變且代代相傳。

一般簡單檢測哈溫平衡的方式是 χ^2 (chi-squared) test，由於微衛星基因座上的交替基因數目較多，使某些交替基因頻率較低，故不適合作 χ^2 檢定，較適合運用 Markov Chain Monte Carlo 方法進行 Fisher's 精確檢定

(Fisher's exact test)，檢測族群是否符合哈溫平衡 (Guo and Thompson, 1992)。



2. 有效交替基因數 (number of effective alleles, N_e)

每個基因座上交替基因分布平均程度，意指在所有交替基因之頻率相同的情況下，能夠提供相同異質度的交替基因數目。此統計值為 Kimura and Crow (1964) 提出，用來評估基因座上交替基因分布平均與否，一般來說，若 N_e 愈高，通常基因座的多態性也愈高 (Nei, 1987)。其計算公式為：

$$N_e = \left(\sum_{i=1}^n p_i^2 \right)^{-1}$$

其中 p_i ：基因座上交替基因 A_i 之頻率。

n ：基因座上所有交替基因的個數。

3. 期望異質度 (expected heterozygosity, H_E)

計算每個族群每個基因座的理論雜合度。由哈溫 (Hardy-Weinberg) 定律衍伸出，計算族群中異質度的期望值 (Nei, 1987)。

$$H_E = 1 - \sum_{i=1}^n p_i^2$$

其中 p_i ：基因座上交替基因 A_i 之頻率

n ：基因座上所有交替基因的個數。

4. 觀測異質度 (observed heterozygosity, H_0)

計算每個族群每個基因座的觀測雜合度。代表雜合子個體在族群中的實際比例 (Nei, 1987)。

$$H_0 = \sum_{i=1}^n \sum_{j=1}^{n-1} p_{ij}$$

其中 p_{ij} : 基因座上基因型 A_iA_j 之頻率。

n : 基因座上所有交替基因的個數。

5. 多態性訊息含量 (polymorphism Information Content, PIC)

PIC 是用來估計基因座的多態性, PIC 值越高表示基因座的多態性也較高 (Bostein *et al.*, 1980), 其計算公式為:

$$PIC = 1 - \sum_i^n p_i^2 - \sum_{i=1}^{n-1} \sum_{j=i+1}^n 2p_i^2 p_j^2$$

其中 p_i 、 p_j : 基因座上交替基因 A_i 、 A_j 之頻率。

n : 基因座上所有交替基因的個數。

(二) 族群結構

族群遺傳的研究中, 以 Wright's F-statistics 指數為評估族群遺傳分化 (genetic differentiation) 與基因漂流 (genetic drift) 的方法, 可解釋族群內的異質度減少的程度 (Wright, 1965)。一般探討族群結構包含兩個層面: 一個為個體 (individual, I) 至次族群 (subpopulation, S), 另則為次族群至整個族群 (total, T)。因此, 整個族群結構為 F_{IT} , 可區分為 F_{IS} 與 F_{ST} , 此三者的關係如下

$$(1-F_{IS}) \times (1-F_{ST}) = (1-F_{IT})$$



其中 F_{IT} 代表整個族群內分化的程度， F_{IT} 愈高表示族群內遺傳分化程度愈高； F_{ST} 代表族群內各次族群間的分化程度， F_{ST} 值 < 0.05 表示該族群幾乎無分化， F_{ST} 值介於 0.05 至 0.15 表示族群呈現中度分化， F_{ST} 值介於 0.15 至 0.25 表示該族群呈高度分化之情況 (Wright, 1978)； F_{IS} 的意義為族群偏離 HWE 與否，當 $F_{IS} > 0$ 時，表示族群可能有近親配種的情況，反之 $F_{IS} < 0$ 時，則表示可能有遠親配種的情況產生。

(三) 遺傳距離 (genetic distance) 計算與親緣關係樹 (phylogenetic tree)

1. 遺傳距離計算

早期族群間的遺傳距離 (genetic distance) 計算，多依據 Nei (1972) 之方法，利用先求得各品種或族群的距離矩陣 (distance matrix)，再進一步得知親緣或類緣關係。族群 X、Y 之間的遺傳距離 D 估式如下：

$$D_N = -\log I$$

其中 $I = J_{XY} / \sqrt{J_X J_Y}$

$$J_{XY} = \sum_i \sum_j \frac{X_{ij} Y_{ij}}{r}$$

$$J_X = \sum_i \sum_j \frac{X_{ij}^2}{r}$$

$$J_Y = \sum_i \sum_j \frac{Y_{ij}^2}{r}$$

X_{ij} , Y_{ij} : 為第 X 族群和第 Y 個族群在第 j 個基因座第 i 個交替基因之頻率。

J_X : 代表第 X 族群在基因座上之平均交替基因頻率。

J_Y : 代表第 Y 族群在基因座上之平均交替基因頻率。

J_{XY} : 代表第 X 族群及第 Y 族群在基因座上之平均交替基因頻率。

r: 檢測基因座的數目。

I: 遺傳一致值。



2. 親緣關係樹

親緣關係樹又稱演化樹 (evolutionary tree)，為具有共同祖先的各物種間演化關係的樹狀圖，在圖中，每個節點代表其各分支的最近共同祖先，而節點間的線段長度對應演化距離 (如估計的演化時間)。一般使用距離法 (distance-based approach) 來計算遺傳距離資料，常用方法有兩種：一種為未加權算術平均對群 (unweighted pair group method with arithmetic mean, UPGMA) 法，另則為鄰近相接 (neighbor-joining, NJ) 法 (Barry, 2007)。

UPGMA 法為最簡單的運算法，先用最短遺傳距離找出分類對群 (pair of taxa) 與各分支 (branch) 的距離，和各分支節點 (node) 的距離。再將兩個分類群變成一個群集 (cluster)，且計算各群集之間的距離，最後繪製成演化樹 (圖 11a)。UPGMA 建構演化樹為累加性的，且為等距分化 (ultrametric)，也就是從根 (root) 分出相同距離的分類群，然並非所有分類群的演化距離均相等，因此估計方法可能為不正確 (Barry, 2007)，故現今 UPGMA 法較少用於建構演化樹。

NJ 法是大大優於 UPGMA 法之演算方式，因 UPGMA 法並沒有建構群集，而 NJ 法是直接計算每一個內節點 (internal node) 的距離。首先計算每一個分類群的歧異度，即每一個分類個體距離的總和，接著計算距離矩陣。NJ 法先找出最低相關距離的分類群，和計算每一個分類群到節點的距離 (Barry, 2007)。因此，各物種初始為單一群，重複尋找最近的距離的群，與重新計算群與群之間的距離，直到所有群皆分群 (圖 11b)。NJ 法除了兩群之間的距離外，還可以與其他群的距離作比較，故 NJ 法為目前利用遺傳距離繪製親緣關係樹的常用方法 (Saitou and Nei, 1987)。

再取樣值 (bootstrap value) 為親緣關係樹中分支節點的可信度，其百分比越大代表這一支節點越可靠。再取樣分析 (bootstrap analysis) 為一種統計方法，計算的原理為將分析的資料中逢機重新取樣，替代原有的資料且建立與原資料相同的取樣資料，一般重複次數為 1,000 次 (Efron, 1979)。

(四) 個體鑑別率 (probability of identify, $P_{(ID)}$)

個體鑑別率又稱為符合率 (match probability, MP), $P_{(ID)}$ 的定義為「族群內兩個不同個體進行特定數目基因座基因分型時, 具有同樣的基因型資料的機率」。 $P_{(ID)}$ 值越小時, 進行個體鑑別時出錯的機率越低。在共顯性遺傳的分子標記上, 單一基因座之 $P_{(ID)}$ 計算方式如下:

$$P_{(ID)} = \sum_{i=1}^n p_i^4 + 4 \sum_{i=1}^n \sum_{j=1}^{n-1} p_i^2 p_j^2$$

其中 p_i, p_j : 分別為基因座上第 i, j 個交替基因頻率

(Waits *et al.*, 2001)

當所要鑑別之個體彼此間具有密切親屬關係時, 則需採用近親個體鑑別率 (probability of identify in sibs, $P_{(ID)sibs}$), 其計算公式為:

$$P_{(ID)sibs} = 0.25 + 0.5 \sum_{i=1}^n p_i^2 + 0.5 \left(\sum_{i=1}^n p_i^2 \right)^2 - 0.25 \sum_{i=1}^n p_i^4$$

其中 p_i : 為基因座上各交替基因之頻率

(Waits *et al.*, 2001)

由於分子標識偏離 HWE 可能影響個體鑑別之準確性, Waits *et al.* (2001) 提出: 當族群偏離 HWE 時, 其真實之 $P_{(ID)}$ 至多不會超過 $P_{(ID)sibs}$, 也就是說真實之個體鑑別率將介於 $P_{(ID)}$ 及 $P_{(ID)sibs}$ 之間, 故可以利用 $P_{(ID)sibs}$ 取代偏離 HWE 之標識進行修正。

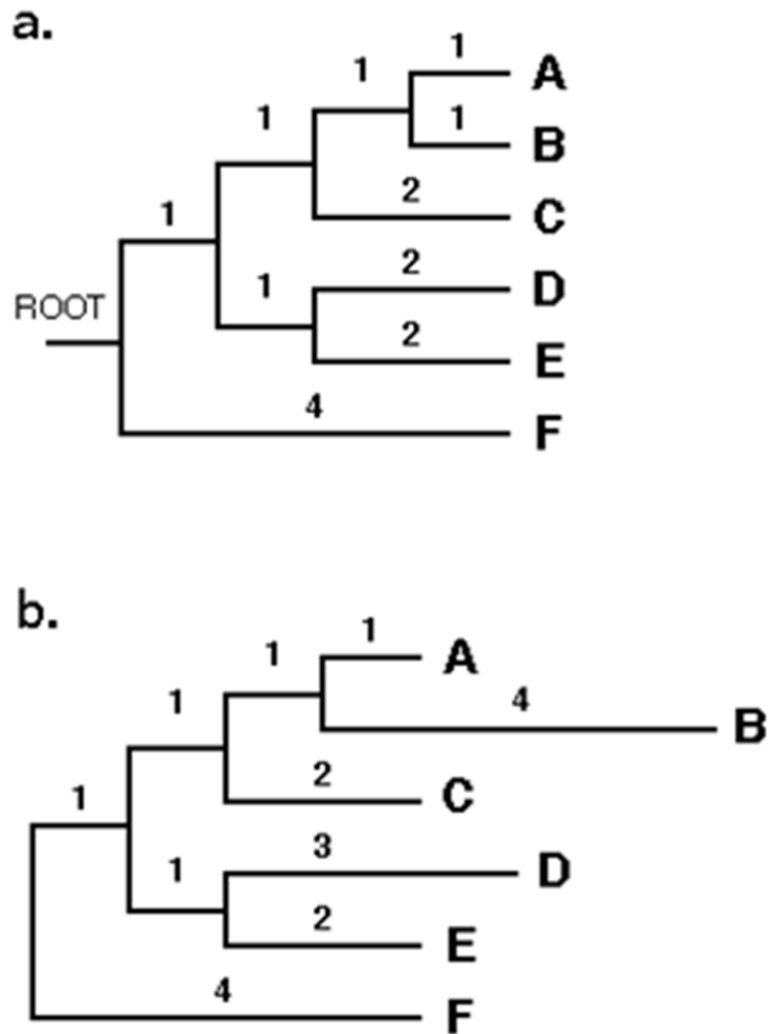


圖 11 親緣關係樹:a. 未加權算術平均對群法(UPGMA)及 b. 鄰位連接法(NJ)的圖示。

Figure 11 Scheme showing two types of phylogenetic tree: a. UPGMA and b. NJ.

六、分子標識在臺灣山羊之應用

(一) 影響動物生長性狀及體型測量值表現之候選基因

提升家畜動物之生產性能如生長、屠體、肥育及繁殖等表現一向為畜牧生產業者之目標，惟許多低遺傳率之生長性狀並不易由傳統育種法達到，因此，利用候選基因法來尋找可能之性狀以及性狀與候選基因之間可能之關係 (Ibeagha-Awemu *et al.*, 2008)。然候選基因之種類繁多，以下就本論文所進行評估之候選基因進行介紹。

1. 肌肉抑制素基因 (*myostatin gene, MSTN gene*)

肌肉抑制素英文名 MSTN，又稱為生長分化因子 GDF8，隸屬於 TGF- β superfamily 的一員，TGF- β superfamily 的成員其功能多與細胞生長、分化以及細胞凋亡有關，而肌肉抑制素在哺乳動物中為骨骼肌發育之負調控因子，藉由抑制肌纖維母細胞的增生及分化來維持骨骼肌的平衡狀態，確保肌肉細胞不會過度增生而導致肥大。因此，當 *MSTN gene* 發生自然突變使蛋白質失去功能或蛋白質功能不完整時，骨骼肌中的肌肉細胞便開始肥大並不斷增生，使得該生物的肌肉量異於未突變的個體。這種因 *MSTN gene* 突變導致肌肉大量增生的現象最早是在比利時藍牛和皮埃蒙特牛所發現 (圖 12)，稱之為雙肌表現型 (double muscle phenotype) (McPherron and Lee, 1997)，並進一步於小鼠 *MSTN gene* knockout 試驗中證實，缺乏 *MSTN gene* 之小鼠，其肌肉量為野生型的兩至三倍 (圖 13) (McPherron *et al.*, 1997)。又許多文獻指出，某些綿羊品種的肌肉抑制素基因也有突變點的存在，例如特賽爾綿羊 (Texel sheep) (圖 14) 以及挪威白羊 (Norwegian white sheep)，導致突變個體出現肌肉量增加之表現型 (increased muscle mass, IMM) (Clop *et al.*, 2006; Boman *et al.*, 2009)。

因此，肌肉抑制素基因被認為是影響哺乳動物生長與發育重要的候選基因之一，並且可運用在家畜動物育種上。Miranda *et al.* (2002) 研究發現牛隻肌肉抑制素基因上 9 個鹼基對的變異造成了非同義突變是導致牛隻雙肌現象的主因；Tay *et al.* (2004) 利用牛隻肌肉抑制素基因設計出三對引子，分別增幅出波爾山羊肌肉抑制素基因上 exon 1、2 以及 3 的基因片段，PCR

產物大小分別為 572、555 以及 589 bp，並進行直接定序，結果顯示，造成牛隻雙肌的肌肉抑制素基因多態性位點並沒有在波爾山羊序列中出現，但仍於兩者間發現 38 個核苷酸差異，其中，有 25 個發生了核苷酸的置換 (substitution)，並導致胺基酸的非同義突變 (nonsynonymous mutation)；此外，Li *et al.* (2006) 利用來自中國當地山羊品種與外國山羊品種共 35 頭，以 PCR 增幅肌肉抑制素基因上包含了部分 intron 2 之 exon 3 之 PCR 產物來偵測 SNP，經由定序後發現了 8 個 SNPs 與 2 種 haplotypes (1980A>G、1981G>C、1982A>G、1984G>T、2121A>G、2124T>C、2174G>A、2246A>G 和 AGAGATGA、GCGTGTAA)，然作者並未進一步探討此 8 個 SNPs 及 2 種 haplotypes 與山羊生長性狀的相關性。

An *et al.* (2011) 利用 PCR-SSCP 與直接定序法探討山羊肌肉抑制素基因多態性以及多態性與山羊生長性狀之相關性分析，結果顯示，波爾及其後代肌肉抑制素基因第一及第三外顯子區域發現兩個 SNPs 位點，分別為 g.368A>C 與 g.4911C>T，與山羊生長性狀的相關性分析之結果顯示，波爾及其後代於 g.368A>C 位點帶有 AA 基因型的個體，具有顯著較高之三月齡體重、體高、體長及胸圍 ($P < 0.05$)；而 g.4911C>T 位點處在體型測量值表現則沒有顯著差異 ($P > 0.05$)。



圖 12 比利時藍牛(左)與皮埃蒙特牛(右)的雙肌表現型。

Figure 12 Belgian Blue (*left*) and Piedmontese (*right*) showing the double muscling phenotype.

(McPherron and Lee, 1997)

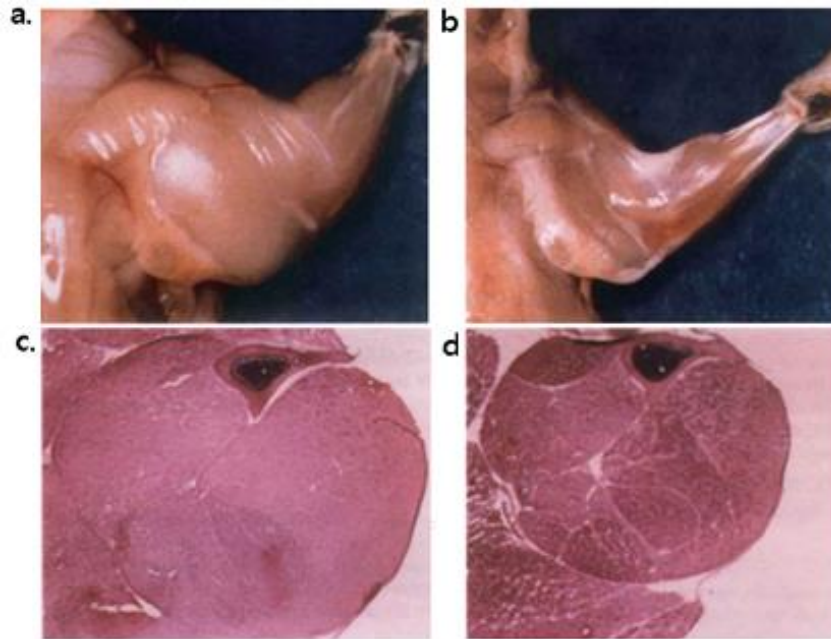


圖 13 缺乏 *MSTN* 基因小鼠 (a) 的肌肉量為野生型 (b) 的兩到三倍。前肢末梢切片之蘇木素-伊紅染色圖 (c) 缺乏 *MSTN* 基因小鼠 (d) 野生型小鼠。

Figure 13 Individual muscle of *MSTN* gene knockout mice (a) weigh 2-3 times more than wild-type mice (b). Sections of distal hindlimbs stained with haematoxylin and eosin of *MSTN* gene knockout mice (c) and wild-type mice (d).

(McPherron *et al.*, 1997)

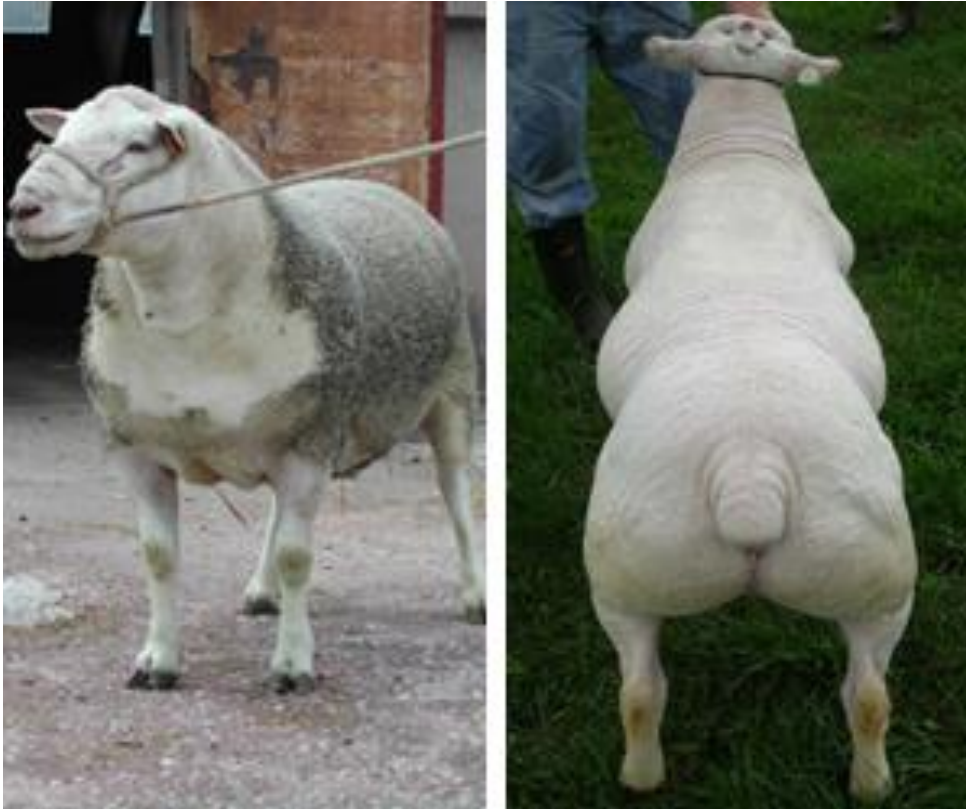


圖 14 具有 *MSTN* 基因突變之特賽爾綿羊個體出現肌肉量增加之表現型 (increased muscle mass, IMM)。

Figure 14 Mutant of *MSTN* gene in Texel sheep exhibits increased muscle mass (IMM) phenotype.

(Clöp *et al.*, 2006)

2. 垂腺特定轉錄因子 1 基因 (*pituitary-specific transcription factor 1 gene, POU1F1 gene*)

垂腺特定轉錄因子 1(POU1F1)是 POU domain 中同源異型蛋白之一，是被鑑定的第一個垂腺轉錄因子，也是 POU-domain 家族的一員，為腦垂腺前葉所分泌。POU 的字意是來自於三個轉錄因子 *pituitary transcription factor 1 (PIT1)*、*organic cation transporter 1 (OCT1)* 以及 *uncoordinated-96 (UNC96)* 的縮寫，其與泌乳素基因 (*prolactin gene, PRL gene*)、生長激素基因 (*growth hormone gene, GH gene*)、促甲狀腺激素基因 (*thyroid stimulating hormone gene, TSH gene*) 以及 *POU1F1* 基因自身的啟動子結合，調控這些基因的轉錄，藉由調節這些基因的表現量而影響哺乳動物的生長發育、新陳代謝等方面有著重要的作用，研究指出，*POU1f1* 基因的突變可能會導致泌乳素、生長激素與促甲狀腺激素的缺乏 (Li *et al.*, 1990)。由於 *POU1f1* 基因在生長發育中的重要作用及對 *PRL*、*GH*、*TSH* 基因的正向調控功能，*POU1f1* 基因之多態性為育種家們感興趣之候選基因之一。陸續有研究指出，豬隻 *POU1f1* 基因之多態性與出生體重、離乳體重以及背脂厚度具有顯著性相關 ($P < 0.05$) (Yu *et al.*, 1995); 牛隻 *POU1f1* 基因突變也影響了體重、乳蛋白量以及脂肪產量 ($P < 0.05$) (Renaville *et al.*, 1997)。

近年來，有學者利用單鏈構型多態性 (single strand conformation polymorphism, SSCP) 與 DNA 直接定序法，陸續於不同山羊品種 *POU1F1* 基因序列第六外顯子上發現 T→G (Lan *et al.*, 2007b) 與 T→C 變異 (Lan *et al.*, 2007d); 3 端 UTR 之 T→C 與 G→A 變異 (Lan *et al.*, 2009b); 及 10G→T、113G→T、114G→T、8C→T、41T→G、41_42insT、175T→A、53delA、710T→A、14G→A、34G→A 與 59G→A 等變異 (Lan *et al.*, 2009a)，並發現這些 SNPs 在山羊間具有豐富的多態性。進一步分析此些 SNPs 與山羊羊毛性狀之相關性，結果顯示，*POU1F1* 基因 3 端 UTR 為 TT 基因型的個體具有顯著較高之羊毛產量 ($P < 0.05$) (Lan *et al.*, 2009b)。

Lan *et al.* (2007a, d) 首先利用 SSCP 探討來自中國不同地區山羊 *POU1F1* 基因多態性與生長性狀之相關性，結果僅在山羊 *POU1F1* 基因第六外顯子區域發現多態性，進一步將包含了第六外顯子區域之 PCR 產物進

行定序後，於該片段第 60 以及第 174 個核苷酸位點處分別發現 T→C 與 T→G 之兩個變異點，此變異導致限制酶 *AluI* 與 *DdeI* 之切位被破壞 (AGCT 與 CTNAG)，因而於 PCR-RFLP 之電泳之膠體圖產生多態性，進一步就該位點分別對山羊生產性狀進行顯著性分析，結果顯示，於山羊 *POUIF1* 基因第六外顯子區域 g.60T>C 帶有 T/T 基因型之個體具有較高之平均出生重 ($P < 0.05$)；於山羊 *POUIF1* 基因第六外顯子區域 g.174T>G 帶有 T/T 基因型之個體，於十二月齡之平均體重顯著高於 T/G 基因型之個體 ($P < 0.05$)，顯示山羊 *POUIF1* 基因多態性亦為值得探討之候選基因之一。

3. 類胰島素生長因子 I 基因 (*insulin-like growth factor I gene, IGF-I gene*)

山羊類胰島素生長因子 I 基因為單一基因所編碼，定位在 5 號染色體上 (Schibler *et al.*, 1998)，由六個外顯子 (1w、1、2、3、4、6) 所組成 (Mikawa *et al.*, 1995)。類胰島素生長因子 I 之訊號傳遞系統是由 IGF-I、IGF-II、IGF-I receptor、IGF-II receptor 以及六個結合蛋白 (IGFBP-1-IGFBP-6) 所組成 (Lan *et al.*, 2007c)，在生長、發育、繁殖以及老化過程中扮演重要的腳色。其中，IGF-I 更為生長素軸 (somatotrophic axis, or GH/IGF-I axis) 重要之組成，偕同生長激素促進哺乳動物的生長並調控新陳代謝 (Yakar *et al.*, 2000)，故 *IGF-I gene* 被認為具有促進細胞增生與骨骼生長之功能。文獻指出，類胰島素生長因子 I 基因 knockout 之小鼠 (*IGF-I* knockout mice)，其身形較野生型更小 (圖 15) 且骨骼生長速度較緩慢 (Baker *et al.*, 1993)。

此外，陸續有許多研究顯示，類胰島素生長因子 I 基因多態性與動物生長性狀具有相關性，Casas-Carrillo *et al.* (1997) 利用微衛星標誌進行區間定位，分析由約克夏、藍瑞斯、漢布夏以及雜交品系豬種所建立之半同胞族群，並採集生長與屠體性狀，透過顯著性分析，將可能影響平均日增重之可能的 QTL 定位在 *IGF-I* 基因與微衛星標誌 Sw1071 區間內 ($P < 0.05$)。同樣使用微衛星標誌進行區間定位的技術，Collins *et al.* (1993) 將影響成鼠體重之 QTL 定位在與小鼠 *IGF-I* 基因連鎖之基因座上 ($P < 0.05$)。Zhou *et al.* (2005) 於白肉雞祖父世代與兩子代 (白肉雞 x 來亨雞以及白肉雞 x

Fayoumi) *IGF-I* 基因啟動子區域第 570 鹼基對上發現單核苷酸多態性，序列上第 750 位點處發生 A→C 變異，並進一步探討該基因多態性與實驗族群之體重、日增重、代謝速率，骨骼發育以及體組成等多種性狀之相關性，實驗結果顯示，帶有 AA 基因型的個體，無論是在生長、發育、代謝或體組成之觀測值上，皆顯著高於 AB 以及 BB 基因型之個體 ($P < 0.05$)。

Zhang *et al.* (2008) 定序南江黃山羊類胰島素生長因子 I 基因外顯子序列，僅第四外顯子區域具有多態性，於序列上第 589 位點發生 G→C 點突變，且帶有 CC 基因型的個體，於體重及體高、體長、胸圍等體型測量值上，顯著地較 CG 基因型的個體高 ($P < 0.05$)。雖然類胰島素生長因子 I 基因之多態性在山羊的研究不多，然縱觀其在許多家畜動物對生長表現之影響，仍有相當之潛力成為影響山羊生長性狀之候選基因。



圖 15 野生型六日齡與二月齡小鼠 (w and W) 與 *IGF-I* 基因突變個體 (i and I) 身形比較。

Figure 15 A pair of 6-day-old and a pair of 2-month-old littermates, wild-type (w and W) and *IGF-I* gene (-/-) mutants (i and I).

(Baker *et al.*, 1993)

(二) 分子標識在羊隻族群遺傳上之研究

利用 PCR 反應增幅特定短串聯重複序列，依據片段的大小計算族群各微衛星基因座的交替基因頻率和族群間的遺傳距離，最後繪製親緣關係樹可了解不同族群間的遺傳結構與彼此演化關係。

Saitbekova *et al.* (1999) 利用 20 組牛隻微衛星標識，分析來自 11 種瑞士地區山羊族群遺傳關係，其中有 17 組牛隻微衛星標識能成功增幅出所有山羊族群之 DNA 產物，並具有高交替基因平均有效數目及歧異度，阿爾卑斯 (Ibex) 及伯恩 (Bezoar) 品種的族群內平均雜合度 (average heterozygosities) (0.17 及 0.19) 低於其他 9 種瑞士地區山羊族群 (0.51-0.58)，利用 NJ 法分析群組 (cluster)，結果顯示，此演化樹之再取樣值偏低 (20 至 41%)，運用主成分分析 (principal component analysis)，克雷奧 (Creole)、阿爾卑斯及伯恩品種山羊遺傳距離明顯地較其他品種遠。Kim *et al.* (2002) 利用 5 組牛隻、2 組綿羊以及 2 組山羊微衛星標識，探討來自韓國、中國本土山羊族群與撒能族群之遺傳歧異度，並計算交替基因多樣性、異質度、多態性訊息含量、懷特氏固定指數、基因漂流 (N_m) (Slatkin, 1985) 及遺傳距離等遺傳估值。試驗結果顯示，9 組微衛星標識在所有基因座上皆具有多態性，而韓國本土山羊的族群內平均雜合度 (0.356) 低於中國本土山羊族群與撒能品種山羊兩族群 (0.589 至 0.671)，以中國本土山羊族群具有最高之平均雜合度 (0.671)，由懷特氏固定指數與基因漂流之統計值，中國本土山羊與撒能族群具有較高之基因交流 ($N_m = 0.318$) 與較低之族群分化程度 ($F_{ST} = 0.073$)，進一步以 UPGMA 法繪製韓國、中國本土山羊族群與撒能族群間之親緣關係樹，結果顯示約可分為兩大群集，即韓國本土山羊一群及中國本土山羊與撒能一群。又 Bruno-de-Sousa *et al.* (2011) 利用 25 組山羊微衛星標識，預測葡萄牙 6 個不同地理位置之山羊族群遺傳演化之地緣關係。結果顯示，在所分析之 193 頭山羊中可觀察到共 240 對交替基因，各基因座之平均交替基因數為 6.95 ± 2.75 ，平均期望異質度為 0.702 ± 0.176 ，多態性訊息含量平均值為 0.665 ± 0.182 ，其中以中南部族群遺傳分化程度最低 ($F_{ST} = 0.088$)，南部最高 ($F_{ST} = 0.136$)，顯示葡萄牙該地區內之山羊族群幾無分化的現象 ($F_{ST} < 0.5$)，且不同地區之山羊族群可能有近親情況 ($F_{IS} = 0.071$)，進一步根據貝式群組分析 (Bayesian-based clustering analysis) 與 STRUCRURE v.2.1

軟體 (Pritchard *et al.*, 2000), 可將葡萄牙 6 個山羊族群, 分成四個主要地理群組: 即中北部、中西部、中東部以及中南部, 其中, 以北部(Bravia)與南部(Algarvia)地區山羊族群之遺傳距離最遠, 其族群可能來自兩個獨立之祖先族群, 其餘四個地區之山羊族群, 則可能在後世代演化中參雜了彼此之祖先族群而有了共同祖先, 且地理位置愈靠近中部之山羊族群參雜之祖先來源愈複雜。

綜合上述文獻, 利用微衛星標識可以了解品種間與品種內的歧異度, 包括交替基因頻率、期望異質度、遺傳分化、估計遺傳距離和親緣關係樹等, 提供重要的遺傳組成資訊及探討其歷史與地緣關係。

貳、材料與方法



試驗一：應用微衛星標識進行臺灣山羊族群遺傳結構分析

(一)、試驗動物

本試驗之臺灣黑山羊，共計 130 頭，係來自恆春分所及花蓮種畜繁殖場各 96 與 34 頭；以及來自恆春分所之金門山羊 19 頭；其他外國品種羊隻，包括努比亞 269 頭來自民間 C 及 S 兩羊場各 101 及 107 以及恆春分所 28 頭、阿爾拜因與波爾各 82 與 99 頭；另加兩個新品種山羊，包括墾丁山羊 (Ken Ting goat, KG) 與吉安山羊 (Ji-An goat, JA) 各 108 及 16 頭，分別採自恆春分所及花蓮種畜繁殖場，共計 682 頭 (表 1)，採樣期間自 2013 年 1 月至 2015 年 6 月。

(二)、血液採集及基因組 DNA (genomic DNA, gDNA) 萃取

以 10 mL 無菌之塑膠針筒，自羊隻頸靜脈 (jugular vein) 抽取 8-10 mL 血液，裝於含 EDTA K3 抗凝劑的採血管中。並使用離心機 (KUBOTA, model: 8420) 於 13,000 xg 離心 15 分鐘後，吸取中間白血球層分裝於 Eppendorf 小試管中，自白血球萃取基因組 DNA，待 gDNA 回溶，利用 Nano-200 nucleic acid analyzer v2.0 (MEDCLUB SCIENTIFIC CO., LTD.) 檢測其 260/280 比值及濃度後，保存於 -20 °C 冰箱備用，所有步驟依照套組 (GenePure Tech. Co., LTD., Taiwan) 修飾進行如圖 16。

(三)、微衛星標識引子設計

本試驗共使用 15 組微衛星標識，利用標記不同螢光之微衛星標識引子，分別進行三組多引子聚合酶鏈鎖反應 (multiplex-PCR) (表 2)。三組多引子系統內

使用之引子分別為：第一組共 4 對引子，包含 HSC、ILSTS019、INRA063 及 SRCRSP08；第二組共 5 對引子，包含 CSRD0247、INRA023、McM0527、OarFCB20 及 SRCRSP023；第三組共 6 對引子，包含 BM1258、BM1329、BOBT24A、SPS113、SPS115 及 SRCRSP001。其中第一組及第二組的微衛星標識係由國際動物遺傳學會（International Society for Animal Genetics, ISAG）所推薦（ISAG conference, 2006），而第三組的微衛星標識則引用自 Glowatzki-Mullis et al. (2007)。

(四)、多引子聚合酶鏈鎖反應 (multiplex-PCR)

利用三組微衛星標識進行 multiplex-PCR，每個反應的總體積為 15 μ L，其中包含 50 ng 模板 DNA、正反向引子對(表 2)、 $1 \times$ PCR buffer、2.0 mM $MgCl_2$ 、0.2 mM dNTP、滅菌去離子水及 0.025 U *Taq* DNA polymerase (TAKARA Co., Japan)，各組微衛星標識檢測之 PCR 反應條件如表 3 所示。待樣本進行 PCR 反應結束後，取 3 μ L PCR 產物進行 1% 瓊脂糖凝膠 (agarose gel) 電泳，確認產物大小正確後，將成功增幅的 PCR 產物以滅菌去離子水稀釋 20 至 80 倍，隨後進行樣品盤的製備。

(五)、電泳樣品製備

取高密度甲胺 (Hi-Di formamide) 及標準品 (GeneScanSize Standard; Applied Biosystems, Foster City, CA, USA)，以 120:1 之比例混合後，取 10 μ L 混和液加入 96 孔樣品盤，再加入稀釋之 PCR 產物 (1 μ L)，並以鋁箔膠帶緊密封樣品盤表面。

表 1 來自 4 個羊場共 10 個山羊族群之試驗動物樣本數

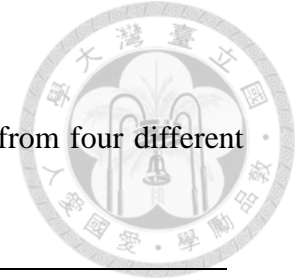


Table 1 Number of experimental animals of ten goat populations from four different farms

Breed	Sample size	Farm ¹
Nubian (NU)	101	Tainan
	107	Tainan
	28	Hengchun
Alpine (AL)	82	Hengchun
Boer (BO)	99	Hengchun
Ken Ting goat (KG)	108	Hengchun
Hengchun Taiwan black goat (TB-HC)	96	Hengchun
Kinmen goat (KM)	19	Hengchun
Ji-An goat (JA)	16	Hualien
Hualien Taiwan black goat (TB-HU)	34	Hualien
Total	682	

¹ Tainan: private farm in Tainan; Hengchun: Hengchun Branch, Livestock Research Institute, C.O.A.; Hualien: Hualien Animal Propagation Station, Livestock Research Institute.

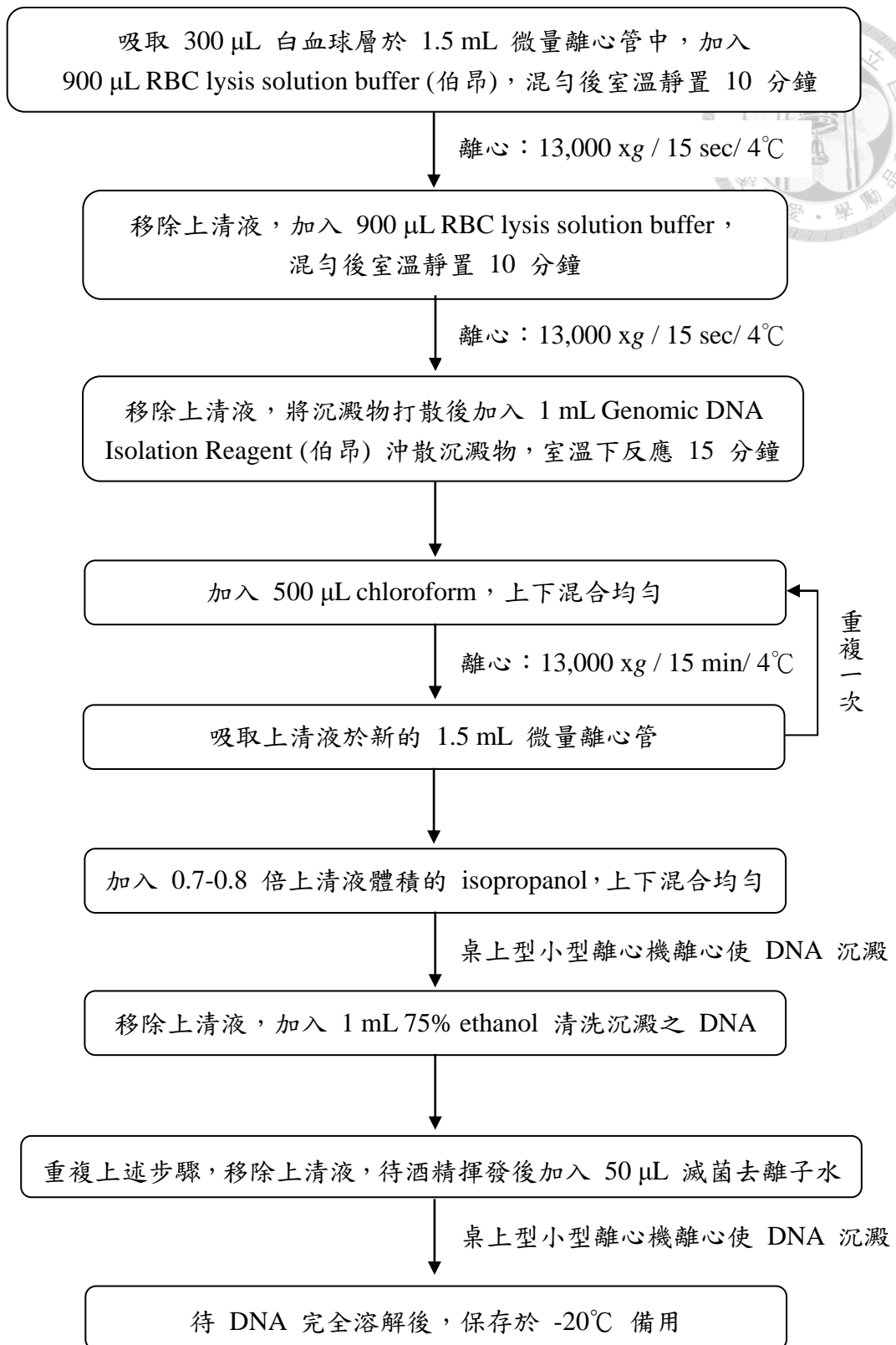


圖 16 自哺乳動物白血球抽取基因組 DNA 的流程。

Figure 16 The flowchart of genomic DNA extraction from mammal leucocyte.

(modified from GenePure Tech. Co., LTD., Taiwan)

表 2 本試驗使用之 15 組微衛星標識之標定螢光引子資料一覽表

Table 2 List of the 15 microsatellites using fluorescent-labeled primers included in this study

Multiplex	Locus	Origin	Chr*	Primer sequences (5'→3')		Label**
				Forward (F)	Reverse (R)	
1 ^a	ILSTS019	Ovine	21	F: AGGGACCTCATGTAGAAGC	R: ACTTTTGGACCCTGTAGTGC	VIC
	INRA063	Caprine	18	F: GACCACAAAGGGATTTGCACAAGC	R: AAACCACAGAAATGCTTGGAAG	FAM
	SRCRSP08	Caprine	-	F: TGCGGTCTGGTTCTGATTTAC	R: GTTCTTCCTGCATGAGAAAGTCG ATGCTTAG	VIC
	HSC	Ovine	20	F: CTGCCAATGCAGAGACACAAGA	R: GTCTGTCTCCTGTCTTGTCATC	FAM
2 ^a	SRCRSP023	Caprine	-	F: GAGTAGAGCTACAAGATAAACTTC	R: TAACTACAGGGTGTAGATGAACT	VIC
	OarFCB20	Ovine	2	F: GGAAAACCCCATATATACCTATAC	R: AAATGTGTTTAAGATTCATACAT GTG	FAM
	McM0527	Ovine	5	F: GTCCATTGCCTCAAATCAATTC	R: AAACCACTTGACTACTCCCAA	VIC
	INRA023	Bovine	3	F: GAGTAGAGCTACAAGATAAACTTC	R: TAACTACAGGGTGTAGATGAACT	FAM
	CSR0247	Ovine	14	F: GGAAGTGGCAGAACTCTGCAAT	R: CACTGTGGTTTGTATTAGTCAGG	VIC
3 ^b	BM1258	Bovine	23	F: GTATGTATTTTCCCACCCTGC	R: GAGTCAGACATGACTGAGCCTG	HEX
	SRCRSP001	Caprine	-	F: TGCAAGAAGTTTTTCCAGAGC	R: ACCCTGGTTTCACAAAAGG	FAM
	SPS113	Ovine	15	F: AAAGTGACACAACAGCTTCTCCAG	R: AACGCGTGTCTAGTTTGGCTGTG	NED
	BOBT24A	Bovine	7	F: GAGCAAGGGAATTCAGTGGAGC	R: TGTATTTTACATTCAGGTCTGTGAT CC	VIC
	BM1329	Bovine	6	F: TTGTTTAGGCAAGTCCAAAGTC	R: AACACCGCAGCTTCATCC	HEX
	SPS115	Ovine	15	F: AAAGTGACACAACAGCTTCTCCAG	R: AACGCGTGTCTAGTTTGGCTGTG	VIC

* Chr: chromosome; -: unknown.

** VIC: green color fluorescent; FAM: blue color fluorescent; NED: yellow color fluorescent; HEX: red color fluorescent.

^a ISAG conference, 2006. ^b Glowatzki-Mullis *et al.* (2007).



表 3 本試驗三組多引子 PCR 的反應條件

Table 3 PCR conditions for three multiplex-PCRs in this study

Multiplex	Primer	PCR condition
1 ^a	ILSTS019	$95^{\circ}\text{C}/10\text{ min} \rightarrow 95^{\circ}\text{C}/30\text{ sec} \rightarrow 55^{\circ}\text{C}/30\text{ sec} \rightarrow 72^{\circ}\text{C}/1\text{ min} \rightarrow 72^{\circ}\text{C}/10\text{ min}$ 31 cycles
	INRA063	
	SRCRSP08	
	HSC	
2 ^a	SRCRSP023	$95^{\circ}\text{C}/10\text{ min} \rightarrow 95^{\circ}\text{C}/30\text{ sec} \rightarrow 55^{\circ}\text{C}/30\text{ sec} \rightarrow 72^{\circ}\text{C}/1\text{ min} \rightarrow 72^{\circ}\text{C}/10\text{ min}$ 31 cycles
	OarFCB20	
	McM0527	
	INRA023	
3 ^b	BM1258	$95^{\circ}\text{C}/15\text{ min} \rightarrow 94^{\circ}\text{C}/30\text{ sec} \rightarrow 58^{\circ}\text{C}/30\text{ sec} \rightarrow 72^{\circ}\text{C}/1\text{ min} \rightarrow 60^{\circ}\text{C}/30\text{ min}$ 30 cycles
	SRCRSP001	
	SPS113	
	BOBT24A	
	BM1329	
	SPS115	

^a ISAG conference, 2006

^b Glowatzki-Mullis *et al.* (2007).

(六)、PCR 產物基因型判別

各樣品經 PCR 所得之增幅產物所製成之樣品盤，以 ABI 3730 DNA Analyzer (ABI PRISM, USA) 進行毛細管電泳分析，以測定其增殖產物之片段大小，所得之資料以 Peak Scanner 1.0 (ABI PRISM, USA) 進行分析，進一步判讀產物大小。

(七)、微衛星標識基因型頻率統計

1. 微衛星標識評估

將試驗所得之微衛星標識基因型頻率以 Microsatellite toolkit (Park, 2001) 製表整理並進行觀測交替基因數 (Number of alleles, N_a)、有效交替基因數 (Number of effective alleles, N_e)、理論異質度 (Expected heterozygosity, H_E)、觀測異質度 (Observed heterozygosity, H_O) 及其標準機差 (Standard error, SE) 之統計分析。並利用 Cervus v3.0.7 (Marshall *et al.*, 1998) 計算多態性訊息含量 (Polymorphism information content, PIC)、個體鑑別率 (Probability of identify, $P_{(ID)}$) 及近親個體鑑別率 (Probability of identify in sibs, $P_{(ID)sibs}$)。

2. 族群遺傳結構與分群

族群結構之 Wright's F-statistics 評估介質 F_{IT} 、 F_{IS} 與 F_{ST} 則利用 Microsatellite Analyzer 軟體分析 (Wright, 1965)。再運用 PHYLIP (Felsenstein, 2002) 套裝軟體，根據遺傳距離 (Saitou and Nei, 1987) 以鄰近相接 (Neighbor-Joining, NJ) 法，建構親緣關係樹，再重複抽樣 1000 次計算求得每個分支節點的再取樣值。以 STRUCTURE 2.3.1 (Pritchard *et al.*, 2000) 進行模擬，利用 Markov chain Monte carlo (Guo and Thompson, 1992) 分析分群數機率，依計算 1,000 次後的 10,000 次模擬可能分群 ($K=2$ 至 10)，每個 K 值重複 15 次再繪製群集分析圖；並計算 ΔK 值 (Evanno *et al.*, 2005) 與 $L(K)$ 值 (Rosenberg *et al.*, 2001)。另以 GENALEX v.6.5 所繪製的主座標分析 (Principal component analysis, PCA) 3D 圖確認試驗所檢測山羊族群之分群情形與族群親緣關係 (Peakall and Smouse, 2012)。



試驗二：利用候選基因法進行臺灣努比亞生長性狀及體型測量值相關性分析

(一)、試驗動物及生長性狀資料收集

本試驗為探討山羊候選基因型與生長性狀之相關性。試驗採集來自臺南市佳里區之 A、B 兩民間養羊場各 195 及 302 頭之純種努比亞山羊樣本，共計 497 個樣本，進行基因型檢測。所檢測之生長性狀，包括山羊體重 (body weight, BW)、體高 (body height, BH)、體長 (body length, BL) 及胸圍 (body chest girth, BCG) 之測量值，並收集自出生、三月齡 (離乳)、六月齡、九月齡及十二月齡五個階段。另計算出生至三月齡間、三月齡至六月齡間、六月齡至九月齡間以及九月齡至十二月齡間平均日增重 (average daily gain, ADG) 生長性狀。

(二)、血液採集及基因組 DNA (genomic DNA, gDNA) 萃取

血液樣本採集及基因組 DNA 萃取方法同上試驗一。

(三)、及時聚合酶鏈鎖反應 (real-time PCR) 及候選基因多態性分析

本試驗中，利用 StepOne Plus thermal cycler (Applied Biosystems, Foster City, CA) 進行 real-time PCR，對候選基因 *MSTN*、*POUIF1* 和 *IGF-1* 進行基因型分析，分析位點包含 *MSTN* 基因 5 端 UTR (Untranslated region) g.1256TTTTA/-、*POUIF1* 基因第六外顯子區域 g.102T>G 及 *IGF-1* 基因第四內顯子區域 g.282G>C 共三個變異點 (表 4)，其引子及探針序列詳如表 5。

Real-time PCR 所使用之螢光系統為 TaqMan SNP Genotyping Assay，配合之試劑由 ABI (Applied Biosystems, Foster City, CA, USA) 所設計，試劑包含 40 倍之引子 (primer) 以及 TaqMan[®] MGB probe (標記螢光 VIC/FAM)。PCR 反應總體積為 15 μ L，含有 0.375 μ L 之 40 倍試劑、7.5 μ L 之 2 倍 TaqMan SNP Genotyping Master Mix (Applied Biosystems, Foster City, CA) 和 0.5 μ L (20 ng/ μ L) 之模板 DNA，其條件為 60°C 30 秒、95°C 10 分鐘、40 個循環的 95°C 15 秒

及 60°C 1 分鐘，最後為 60°C 30 秒。PCR 過程中螢光表現量由機器偵測並於反應結束後以 StepOne Software v2.1 (Applied Biosystems, Foster City, CA) 軟體判讀樣本之基因型。

為確認基因型之結果，利用 TaqMan SNP Genotyping Assay 進行基因型分析前，先以 PCR-RFLP (polymerase chain reaction-restriction fragment length polymorphism)，進行突變位點之確認，根據參考文獻所提供之引子序列(表 6) 進行 PCR，再以限制酶進行酶切反應，藉由觀察電泳條帶之分布情形來分析多態性。PCR 反應中，依序加入 50 ng 模板 DNA、0.15 mL 正反向引子對、1 × PCR buffer、2.0 mM MgCl₂、0.2 mM dNTP、滅菌去離子水及 0.25 U Taq DNA polymerase(TAKARA Co., Japan)於 0.2 mL PCR 反應試管，總反應體積為 25 μL，其反應條件如表 7。

將擴增之產物片段，分別以限制酶 *DraI* 與 *HaeIII* (BioLab, New England) 進行反應，於 37°C 水浴槽反應 1 個小時，再以 2% 瓊脂糖凝膠進行電泳，以含 Ethidium bromide (EtBr) 染液染色 10 分鐘，退染 10 分鐘後，再以影像處理系統拍照存檔，進行多態性分析，最後再將產物送 DNA 定序 (sequencing) 分析基因型。

對於缺乏限制酶辨識位點之 SNP 標識，則以直接定序法來確認突變位點，並進一步利用 ABI 3730 定序儀 (Applied Biosystems, Foster City, CA) 進行定序分析，使用之引子相同於 PCR 中的正向引子(表 6)。最後使用軟體 ClustalW2 (Larkin et al., 2007) 將所得結果與 GenBank 資料庫序列進行序列排序分析，並結合使用軟體 SeqScanner (ABI Prism, USA) 分析圖檔以檢測單核苷酸多態性。



表 4 本試驗候選基因 *MSTN*、*POUIF1* 和 *IGF-1* 突變型態與突變位點

Table 4 Mutation sites and mutation types of candidate gene *MSTN*, *POUIF1* and *IGF-1* in this study.

Gene	Mutation	Mutation site	Reference
<i>MSTN</i>	TTTTA deletion	5' UTR	Zhang <i>et al.</i> (2012)
<i>POUIF1</i>	T to G substitution	exon 6	Lan <i>et al.</i> (2007a)
<i>IGF-1</i>	G to C substitution	intron 4	Zhang <i>et al.</i> (2008)

表 5 本試驗各候選基因 TaqMan SNP Genotyping Assay 之引子及螢光探針序列

Table 5 Sequences of primers and fluorescent probes of candidate genes for TaqMan
SNP Genotyping Assay in this study



SNP	Sequence (5'→3')
<i>MSTN</i> g.1256TTTTA/-	
Forward primer	AGAAAAGTAAAAGGAAGAAGTAAGAACAAGGAA
Reverse primer	CAGCAACAAGCAGCATAAATAGGTAAA
VIC-labeled TTTTA allele reporter	TGCATGGTTTTAAAATCAATA
FAM-labeled none allele reporter	TTTTTGCATGGTTTTCAATA
<i>POUIF1</i> g.102T>G	
Forward primer	GGAGAGACACTTTGGAGAACAGAAT
Reverse primer	CAGGTTTAGTTCTTCAGCCATCCT
VIC-labeled T allele reporter	ATCTCCTGAGAGGAAG
FAM-labeled G allele reporter	TCTCCTGCGAGGAAG
<i>IGF-1</i> g.282G>C	
Forward primer	CCCAAGGCTCAGAAGGTAAGC
Reverse primer	TTCAGCCGCATAACTCAGATCTC
VIC-labeled G allele reporter	AGGGTCGGCCATCTT
FAM-labeled C allele reporter	AGGGTCGCCATCTT

表 6 以 PCR-RFLP 分析肌肉抑制素基因 (*MSTN*) 與類胰島素生長因子 I 基因 (*IGF-1*) 之引子序列、限制酶種類、PCR 產物大小與擴增位置，以及以直接定序法分析垂腺特定轉錄因子 1 基因 (*POU1F1*) 之引子序列、PCR 產物大小與擴增位置



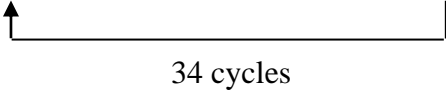
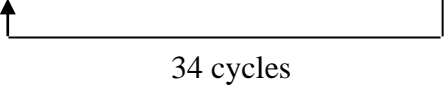
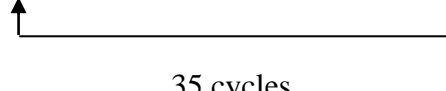
Table 6 The primer sequences, restriction enzymes, PCR product sizes and amplication positions of *MSTN* and *IGF-1* gene analyzed by PCR-RFLP; The primer sequences, PCR product sizes and amplication positions of *POU1F1* gene using direct sequencing

Loci	Primer sequences (5'→3')	Restriction enzymes	Product size (bp)	Product position	References
<i>MSTN</i>	F: TCACAGATCCCGACGACACT R: CTCTTTGCCCTCCTCCTTAC	<i>DraI</i>	701	5' UTR	Zhang <i>et al.</i> (2012)
<i>IGF-1</i>	F: GATGTACTGTGCGCCTCTCA R: ATTCGGATGCTGCTGCTACT	<i>HaeIII</i>	177	intron 4	Zhang <i>et al.</i> (2008)
<i>POU1F1</i>	F: CCATCATCTCCCTTCTT R: AATGTACAATGTGCCTTCTGAG	-	450	exon 6	Lan <i>et al.</i> (2007a)



表 7 本試驗中分析肌肉抑制素基因 (*MSTN*)、類胰島素生長因子 I (*IGF-1*) 與垂腺特定轉錄因子 1 (*POUIF1*) 基因多態性之 PCR 反應條件

Table 7 PCR conditions for analyzing the polymorphisms of *MSTN*, *IGFI*, and *POUIF1* gene in this study

Loci	PCR conditions	References
<i>MSTN</i>	94°C/5 min → 95°C/30 sec → 53°C/30 sec → 72°C/45 sec → 72°C/7 min  34 cycles	Zhang <i>et al.</i> (2012)
<i>IGF-1</i>	94°C/5 min → 94°C/30 sec → 60°C/30 sec → 72°C/30 sec → 72°C/10 min  34 cycles	Lan <i>et al.</i> (2007a)
<i>POUIF1</i>	95°C/4 min → 94°C/45 sec → 54.5°C/45 sec → 72°C/60 sec → 72°C/10 min  35 cycles	Zhang <i>et al.</i> (2008)

(四)、統計分析

試驗所得資料利用 SAS v9.4 (2013) 統計套裝軟體進行分析，由於資料為重複數不等之非均衡資料，因此使用一般線性模式 (general linear model procedure, GLM) 進行變方分析，並以最小平方均值 (least squares mean) 以及特奇公正顯著差異法 (Tukey's honest significant difference) 進行顯著性分析，比較羊隻生長資料與候選基因型之相關性。統計之數學模式如下所示。

$$Y_{ijk} = \mu + \tau_i + \alpha_j + \varepsilon_{ijk}$$

- Y_{ijk} : 各性狀觀測值
 μ : 族群平均值
 τ_i : 基因型固定效應 ($i = 1, 2, 3$)
 α_j : 性別固定效應 ($j = 1, 2$)
 ε_{ijk} : 試驗誤差

在特奇公正顯著差異法分析結果，若試驗顯示 $P < 0.01$ 之統計結果，表示固定之效應對其性狀具有極顯著之差異；若 $P < 0.05$ 表示固定之效應對其性狀具有顯著之差異；當 $0.05 < P < 0.10$ 則顯示此固定效應對性狀有趨勢上的影響。

參、結果



試驗一：應用微衛星標識進行臺灣山羊族群遺傳結構分析

(一)、微衛星標識基因座與遺傳變異

本試驗利用 15 組微衛星標識針對臺灣 10 個山羊族群之分析結果，顯示所有微衛星標識皆可在 3 組多引子 PCR 系統中增幅，利用基因型資料進行全體山羊族群之遺傳檢測結果列於表 8，且所有微衛星基因座在檢測的族群中皆具多態性，並觀察到共 178 個交替基因。觀察之每個基因座的交替基因數 (N_a) 範圍介在 3 至 19 之間，平均每個基因座為 11.87 個交替基因；有效交替基因數 (N_e) 範圍介在 2.2 至 7.9 之間，平均值為 3.6；所有族群每個基因座的期望雜合度 (H_e) 與觀測雜合度 (H_o) 之平均及標準偏差分別為 0.655 ± 0.026 與 0.602 ± 0.034 ，範圍各為 0.456 至 0.763 與 0.377 至 0.751 之間；多態性訊息含量 (PIC) 範圍在 0.460 至 0.860 之間，其平均值為 0.747，即除了 SPS115 以外，15 組微衛星標識中，共有 14 組微衛星標識的 PIC 落於高多態性訊息含量的範圍 ($PIC > 0.5$)。

(二)、遺傳介值評估臺灣黑山羊族群遺傳變異與近親程度

不同山羊族群的遺傳變異評估中，各項遺傳變異性之平均值皆以阿爾拜因數值最高，金門山羊之數值最低，各族群的 N_a 平均值為 5.85 ± 1.42 個，範圍介在 3.60 至 7.93 之間，各族群的 N_e 平均值為 3.05 個，範圍介在 2.20 至 3.52 之間 (表 9)。

H_E 與 H_O 之最高平均值皆出現在阿爾拜因，分別為 0.687 與 0.655，顯示具有較高遺傳變異性。 H_E 與 H_O 之最低平均值則是在金門山羊，分別為 0.525 與 0.463，因此遺傳變異性程度較低。又不同山羊族群的 F_{IS} 值範圍在 -0.011 (S 場努比亞) 至 0.165 (臺灣黑山羊恆春品系)，其中臺灣黑山羊恆春品系之 F_{IS} 值最高為 0.165，顯示山羊族群內可能有雜合子缺乏 (deficit of heterozygote) 的情況，不同族群每個基因座的平均 F_{IS} 值為 0.053，當 F_{IS} 值為正值時，顯示其雜合子個體在族群之比例仍是少於哈溫平衡所預期，或表示所檢測的山羊族群可能有近親的現象，因此顯著地偏離哈溫平衡 ($P < 0.01$)。此外，臺灣黑山羊

花蓮品系之 F_{IS} 值為 -0.062，利用 Fisher's 精確檢定 (Fisher's exact test) 檢測哈溫平衡結果發現仍顯著地偏離哈溫平衡 ($P < 0.01$)，表示該族群之近親程度較低，然其雜合子比例仍少於哈溫平衡所預期。



表 8 利用 15 個微衛星標識於整體山羊族群之交替基因範圍、觀測與期望交替基因數目、期望與觀測雜合度以及多態性訊息含量

Table 8 Range of allele sizes, observed and expected number of alleles, expected and observed heterozygosities and polymorphic information content for 15 microsatellite markers in total goat populations

Locus	Allele size (bp)	N_a	N_e	H_E	H_O	PIC
ILSTS019	141~179	12	3.611	0.724	0.605	0.676
INRA063	171~279	9	4.003	0.751	0.629	0.705
SRCRSP08	219~289	13	5.066	0.803	0.648	0.775
HSC	179~303	19	7.869	0.874	0.744	0.860
SRCRSP023	83~111	16	5.277	0.811	0.512	0.788
OarFCB20	93~125	9	3.420	0.708	0.531	0.669
McM0527	153~173	10	3.680	0.729	0.459	0.684
INRA023	193~215	13	5.785	0.829	0.476	0.805
CSRD0247	219~243	10	5.064	0.803	0.753	0.779
BM1258	101~135	11	6.014	0.834	0.688	0.814
SRCRSP001	123~159	18	8.847	0.888	0.752	0.877
SPS113	129~155	12	4.796	0.792	0.673	0.765
BOBT24A	135~171	13	6.767	0.853	0.644	0.836
BM1329	167~183	10	3.980	0.749	0.543	0.711
SPS115	243~247	3	2.217	0.549	0.376	0.460
Mean		11.87	5.093	0.780	0.602	0.747
SD		3.93	1.768	0.084	0.116	0.103

N_a : number of alleles; N_e : effective number of alleles; H_E : expected heterozygosity; H_O : observed heterozygosity; PIC: polymorphic information content.

表 9 利用 15 個微衛星標識檢測試驗之臺灣山羊族群間遺傳變異

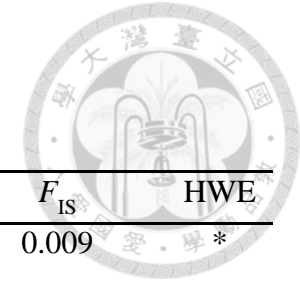


Table 9 Genetic variability among goat populations in Taiwan genotyped with 15 microsatellite markers

Population	Sample size	N_a	N_e	H_E	H_O	PIC	F_{IS}	HWE
NU-C	101	5.73	3.043 ± 1.020	0.636 ± 0.035	0.633 ± 0.012	0.586 ± 0.143	0.009	*
NU-S	107	6.87	3.662 ± 1.690	0.659 ± 0.046	0.669 ± 0.011	0.618 ± 0.185	-0.011	*
KG	108	7.53	3.349 ± 1.133	0.658 ± 0.041	0.572 ± 0.012	0.612 ± 0.161	0.139	*
TB-HC	95	5.53	2.723 ± 0.964	0.590 ± 0.038	0.492 ± 0.013	0.530 ± 0.148	0.165	*
NU-HC	28	5.27	3.313 ± 1.343	0.655 ± 0.042	0.593 ± 0.024	0.598 ± 0.165	0.095	*
BO	98	6.80	3.166 ± 1.536	0.617 ± 0.047	0.596 ± 0.013	0.567 ± 0.184	0.028	*
AL	80	7.93	3.532 ± 1.355	0.687 ± 0.028	0.655 ± 0.014	0.640 ± 0.122	0.054	*
KM	19	3.60	2.204 ± 0.564	0.525 ± 0.040	0.463 ± 0.030	0.449 ± 0.134	0.129	*
JA	14	4.13	2.815 ± 0.967	0.612 ± 0.047	0.616 ± 0.034	0.540 ± 0.177	-0.013	*
TB-HU	32	5.07	3.054 ± 0.951	0.653 ± 0.028	0.691 ± 0.021	0.588 ± 0.126	-0.062	*
Mean		5.85	3.086	0.629	0.598	0.573	0.053	*
SD		1.42	0.427	0.046	0.073	0.055	-	

N_a : number of alleles; N_e : effective number of alleles; H_E : expected heterozygosity; H_O : observed heterozygosity; PIC: polymorphic information content; F_{IS} : Wright's F-statistics, within subpopulation inbreeding estimate. HWE: Hardy-Weinberg equilibrium test, *: significant ($P < 0.05$). NU-C: NU from C farm; NU-S: NU from S farm; KG: Ken Ting goat; TB-HC: TB from Hengchun; NU-HC: NU from Hengchun; BO: Boer; AL: Alpine; KM: Kinmen goats; JA: Ji-An goat; TB-HU: TB from Hualien.

(三)、族群間基因流動(gene flow)與遺傳分化程度(genetic differentiation, F_{ST})分析

每個世代遷徙之數量 (number of migrants per generation, N_m) 為基因流動之間接測量值，意指同一物種的不同族群，因遷移或交配造成的遺傳物質交換，基因流動會傾向減低各族群間的差異性。基因流動與遺傳分化程度常使用於評估族群歧異度。檢測各族群配對之 N_m 與 F_{ST} 統計值結果如表 10 所示。最大與最小之 F_{ST} 統計值出現在 C 場努比亞與 S 場努比亞 (0.026) 以及阿爾拜因與金門山羊(0.187)之間；最大與最小之 N_m 統計值出現於阿爾拜因與金門山羊(1.088)以及 C 場努比亞與 S 場努比亞 (9.470) 之間。顯示 C 場與 S 場努比亞間遺傳距離十分接近，應與此兩場間頻繁之種羊交易所導致；此外，最大與最小之 F_{ST} 統計值則出現在阿爾拜因與金門山羊之間。

評估臺灣黑山羊族群之結構，發現臺灣黑山羊恆春品系與花蓮品系分別與金門山羊與吉安山羊具有最高之 N_m 與最低之 F_{ST} 統計值，分別為 4.560 與 3.910 以及 0.060 與 0.052，表示在受檢測之所有山羊族群中，臺灣黑山羊恆春品系與花蓮品系分別與金門山羊與吉安山羊具有最接近之遺傳距離。

(四)、遺傳距離與分群分析

利用 Nei (1972) 之估算式計算出族群之間的遺傳距離 (表 11)，與 F_{ST} 值結果相似 (表 10)。進一步利用鄰近相接法繪製族群親緣關係樹 (圖 17)，結果顯示，可分為 4 個主要的群集：阿爾拜因自成一獨立分支、波爾與墾丁山羊形成一群集、來自 3 個不同來源之努比亞群集以及包含臺灣黑山羊恆春品系、花蓮品系、金門山羊與吉安山羊族群群集，臺灣黑山羊恆春品系與金門山羊以及臺灣黑山羊花蓮品系與吉安山羊又各自形成兩個亞群集，此一結果亦符合表 F_{ST} 值結果；又墾丁山羊含有 87.5% 波爾血統，遺傳距離最為接近，故兩族群遺傳距離最為接近而形成一群集。



表 10 10 個山羊族群間遺傳分化程度 (F_{ST}) 與基因流動 (N_m) 估計值

Table 10 Pairwise estimates of breed differentiation (F_{ST}) (below the diagonal) and gene flow (N_m) (above the diagonal) between each pair of 10 populations

Population	NU-C	NU-S	KG	TB-HC	NU-HC	BO	AL	KM	JA	TB-HU
NU-C	-	9.470	1.959	1.462	6.445	1.699	2.177	1.242	2.096	2.806
NU-S	0.026	-	1.753	1.426	8.206	1.687	2.123	1.213	1.919	2.770
KG	0.113	0.125	-	1.821	1.623	3.571	1.866	1.230	1.843	1.895
TB-HC	0.146	0.149	0.121	-	1.501	1.275	1.337	3.910	2.827	2.880
NU-HC	0.037	0.030	0.133	0.143	-	1.460	1.875	1.145	1.671	2.315
BO	0.128	0.129	0.065	0.164	0.146	-	1.724	0.933	1.297	1.619
AL	0.103	0.105	0.118	0.158	0.118	0.127	-	1.088	1.865	2.131
KM	0.168	0.171	0.169	0.060	0.179	0.211	0.187	-	2.524	2.845
JA	0.107	0.115	0.119	0.081	0.130	0.162	0.118	0.090	-	4.560
TB-HU	0.082	0.083	0.117	0.080	0.097	0.134	0.105	0.081	0.052	-

NU-C: NU from C farm; NU-S: NU from S farm; KG: Ken Ting goat; TB-HC: TB from Hengchun; NU-HC: NU from Hengchun; BO: Boer; AL: Alpine; KM: Kinmen goats; JA: Ji-An goat; TB-HU: TB from Hualien.



表 11 本試驗各山羊族群之間的遺傳距離估值

Table 11 Genetic distance among these goat populations examined in this study

Population	NU-C	NU-S	KG	TB-HC	NU-HC	BO	AL	KM	JA	TB-HU
NU-C	-	0.070	0.335	0.352	0.101	0.338	0.290	0.407	0.288	0.229
NU-S		-	0.318	0.333	0.101	0.330	0.285	0.391	0.281	0.221
KG			-	0.325	0.362	0.156	0.356	0.448	0.367	0.333
TB-HC				-	0.303	0.387	0.446	0.159	0.275	0.220
NU-HC					-	0.386	0.333	0.398	0.349	0.272
BO						-	0.384	0.539	0.401	0.344
AL							-	0.512	0.372	0.320
KM								-	0.291	0.230
JA									-	0.121
TB-HU										-

NU-C: NU from C farm; NU-S: NU from S farm; KG: Ken Ting goat; TB-HC: TB from Hengchun; NU-HC: NU from Hengchun; BO: Boer; AL: Alpine; KM: Kinmen goats; JA: Ji-An goat; TB-HU: TB from Hualien.

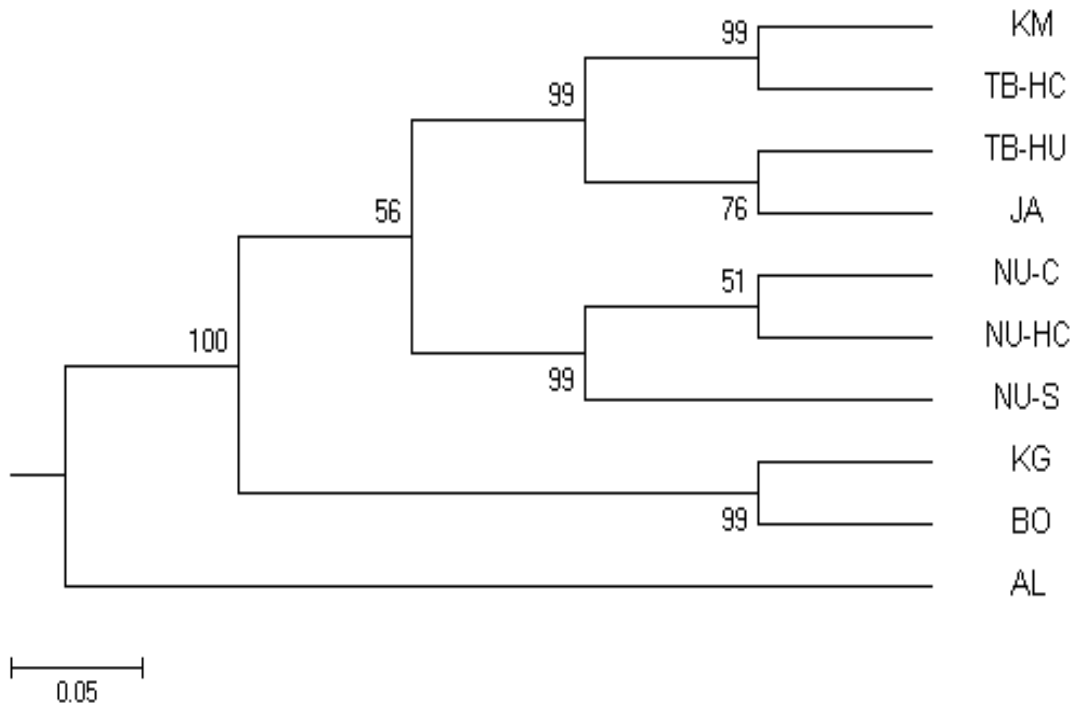
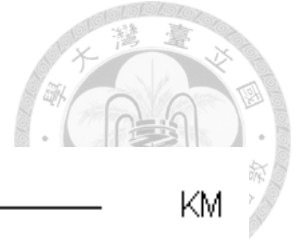


圖 17 利用 15 組微衛星標識將不同山羊族群以鄰近相接法繪製類緣關係樹。

KM：金門山羊、TB-HC 臺灣黑山羊恆春品系、TB-HU：臺灣黑山羊花蓮品系、JA：吉安山羊、NU-C：C 場努比亞、NU-HC：恆春努比亞、NU-S：S 場努比亞、KG：墾丁山羊、BO：波爾、AL：阿爾拜因（結點上值為 1,000 次重複取樣之 bootstrap 百分比）。

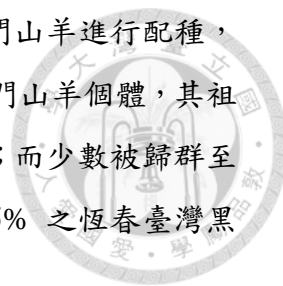
Figure 17 The neighbor-joining (NJ) tree among 10 goat populations based on the 15 sets of microsatellite markers. KM: Kinmen goats, TB-HC: TB from Hengchun, TB-HU: TB from Hualien, JA: Ji-An goat, NU-C: NU from C farm, NU-HC: NU from Hengchun, NU-S: NU from S farm, KG: Ken Ting goat, BO: Boer, AL: Alpine (The numbers on the nodes indicate the percentage bootstrap values generated from 1,000 resampling).

利用主座標分析 (PCA) 根據族群間遺傳距離建立之空間立體圖 (圖 18)，其結果顯示第一座標軸 (axis 1)、第二座標軸 (axis 2) 及第三座標軸 (axis 3) 三者可分別解釋 35.48、25.59 及 13.68% 的遺傳變異。藉由此三個主座標軸之變異量區分族群之間的遺傳距離，可發現阿爾拜因族群與其他山羊族群距離最遠，三個努比亞族群之間遺傳距離最接近。另發現，臺灣黑山羊恆春品系、花蓮品系、金門山羊與吉安山羊族群彼此之間遺傳距離接近，其中，臺灣黑山羊恆春品系與花蓮品系又分別和金門山羊與吉安山羊族群遺傳距離最為接近；而墾丁山羊與波爾山羊族群之間遺傳距離最近，與其他山羊族群距離較遠。

另使用 STRUCTURE 軟體進一步模擬族群分群之結果，在各個假設可能分群的 K 值 (K=4 至 7) 中，當 K=4 時，主要分成努比亞族群、波爾族群、墾丁山羊族群以及包含臺灣黑山羊恆春品系、花蓮品系、金門山羊與吉安山羊族群之群集 (圖 19)，此一分群結果與族群親緣關係樹 (圖 17) 相似；當 K=5 時，臺灣黑山羊恆春品系與金門山羊被分離；當 K=6 時，波爾與墾丁山羊各自形成一群集；直至 K=7 時，來自三個不同來源之努比亞族群逐漸可被區分出來。經由計算 ΔK 與 $L(K)$ 之結果顯示，K=4 為建議之分群數目 (圖 20)，其分群結果最相似於族群親緣關係樹，即努比亞族群、波爾族群、墾丁山羊族群以及包含臺灣黑山羊恆春品系、花蓮品系、金門山羊與吉安山羊族群之群集。

由 15 組微衛星標識基因座所檢測各試驗個體於基因座之交替基因頻率結果，亦使用鄰近相接法繪製出之個體親緣關係樹如圖 21 所示，本試驗所檢測之 682 頭山羊樣本，大致可分成 8 個群集，依逆時針之順位依序為努比亞、阿爾拜因、墾丁山羊、波爾、臺灣黑山羊恆春品系、金門山羊、吉安山羊以及臺灣黑山羊花蓮品系。依此個體親緣關係樹枝觀察可發現，純品種之山羊族群可明確形成單一群集 (努比亞、阿爾拜因、波爾、臺灣黑山羊與金門山羊)，然雜交品種雖亦可形成獨立之群集，仍有部分個體出現無法正確歸群之現象，例如：墾丁山羊含有 87.5% 之波爾血統，導致部分個體被錯誤分群；吉安山羊含有 50% 花蓮品系之臺灣黑山羊，且錯誤分群之現象更為嚴重。臺灣黑山羊恆春品系亦可再細分出兩個亞群集，經核對系譜資料後可發現，其差異性可能來自於使用兩個不同公羊系統所致。此外，發現有零散之金門山羊與墾丁山羊被歸類至臺灣黑山羊恆春品系之某一亞群集，由於金門山羊之外表型態與臺灣黑山羊相近，推測恆春

分所在進行臺灣黑山羊復育工作時，該亞群集可能曾經誤用金門山羊進行配種，使該亞群集後代與金門山羊出現混淆之現象，亦可能有少數金門山羊個體，其祖先曾誤與臺灣黑山羊進行配種，因而被歸群至臺灣黑山羊群集；而少數被歸群至臺灣黑山羊群集之墾丁山羊，其原因可能係墾丁山羊含有 6.25% 之恆春臺灣黑山羊血統，故有被錯誤歸群的可能性。



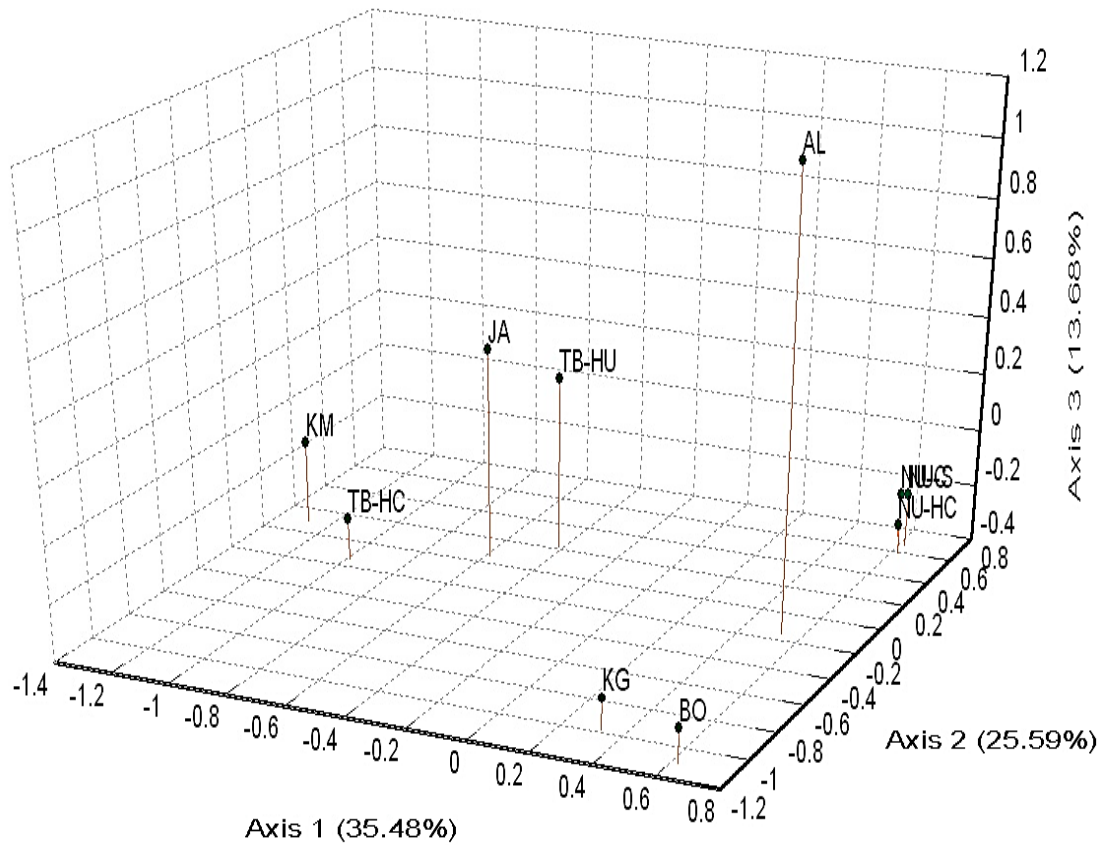


圖 18 各山羊族群利用族群遺傳距離所建構之主座標分析 (PCA)。各軸上數字表示各軸所區分出之變異占總變異量之百分比。KM: 金門山羊、TB-HC: 臺灣黑山羊恆春品系、TB-HU: 臺灣黑山羊花蓮品系、JA: 吉安山羊、NU-C: C 場努比亞、NU-HC: 恆春努比亞、NU-S: S 場努比亞、KG: 墾丁山羊、BO: 波爾、AL: 阿爾拜因。

Figure 18 The principle component analysis (PCA) among these goat populations relative positions by population genetic distances. Numbers in parentheses represent the percentage of total inertia accounted for by each axis. KM: Kinmen goats, TB-HC: TB from Hengchun, TB-HU: TB from Hualien, JA: Ji-An goat, NU-C: NU from C farm, NU-S: NU from S farm, NU-HC: NU from Hengchun, KG: Ken Ting goat, BO: Boer, AL: Alpine.

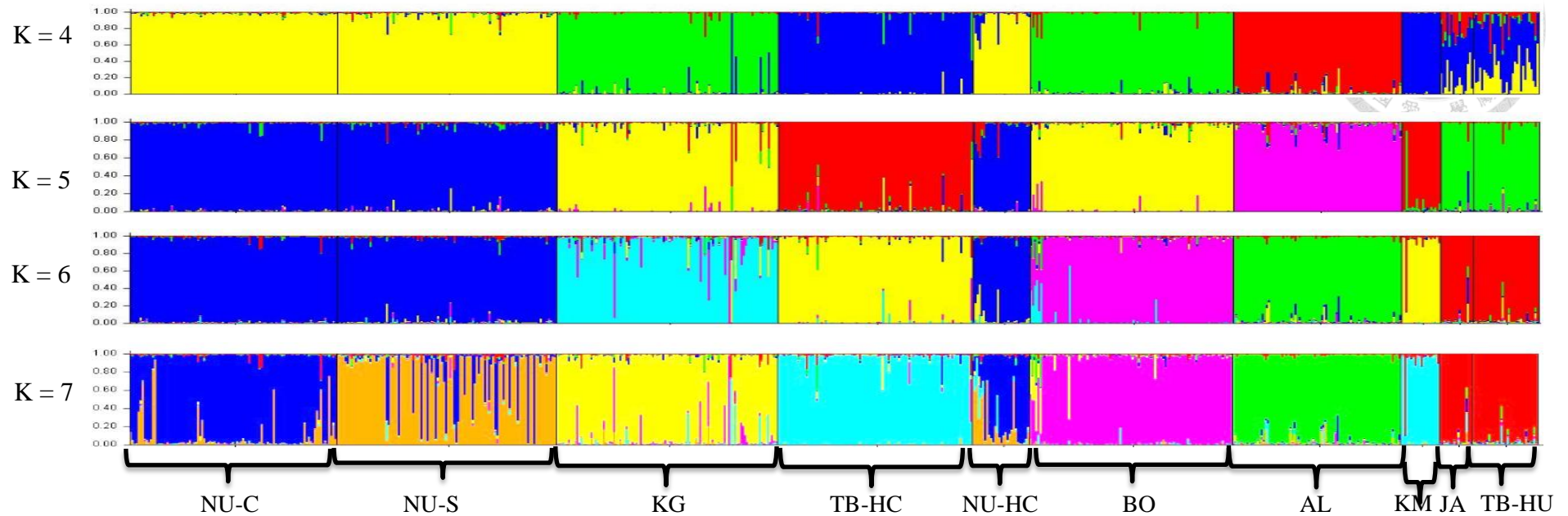
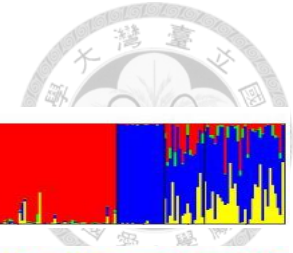


圖 19 各山羊個體利用 15 組微衛星標識所繪製之 STRUCTURE 群集分析圖 (K=4 至 7)。K 值為軟體預設之可能的群集數，以不同顏色表示之，縱軸為個體的基因來源於該群集之比例，且每一圖條表示一個個體。NU-C：C 場努比亞、NU-S：S 場努比亞、KG：墾丁山羊、TB-HC：臺灣黑山羊恆春品系、NU-HC：恆春努比亞、BO：波爾、AL：阿爾拜因、KM：金門山羊、JA：吉安山羊、TB-HU：臺灣黑山羊花蓮品系。

Figure 19 The STRUCTURE cluster analysis plot (K=4~7) among 687 goat individuals based on the 15 sets of microsatellite markers. K is the number of clusters assumed in STRUCTURE analysis, and colors corresponded to clusters. The vertical axis is the proportion of gene resource in individuals from clusters, and each individual is represented by a single bar. NU-C: NU from C farm, NU-S: NU from S farm, KG: Ken Ting goat, TB-HC: TB from Hengchun, NU-HC: NU from Hengchun, BO: Boer, AL: Alpine, KM: Kinmen goats, JA: Ji-An goat, TB-HU: TB from Hualien.

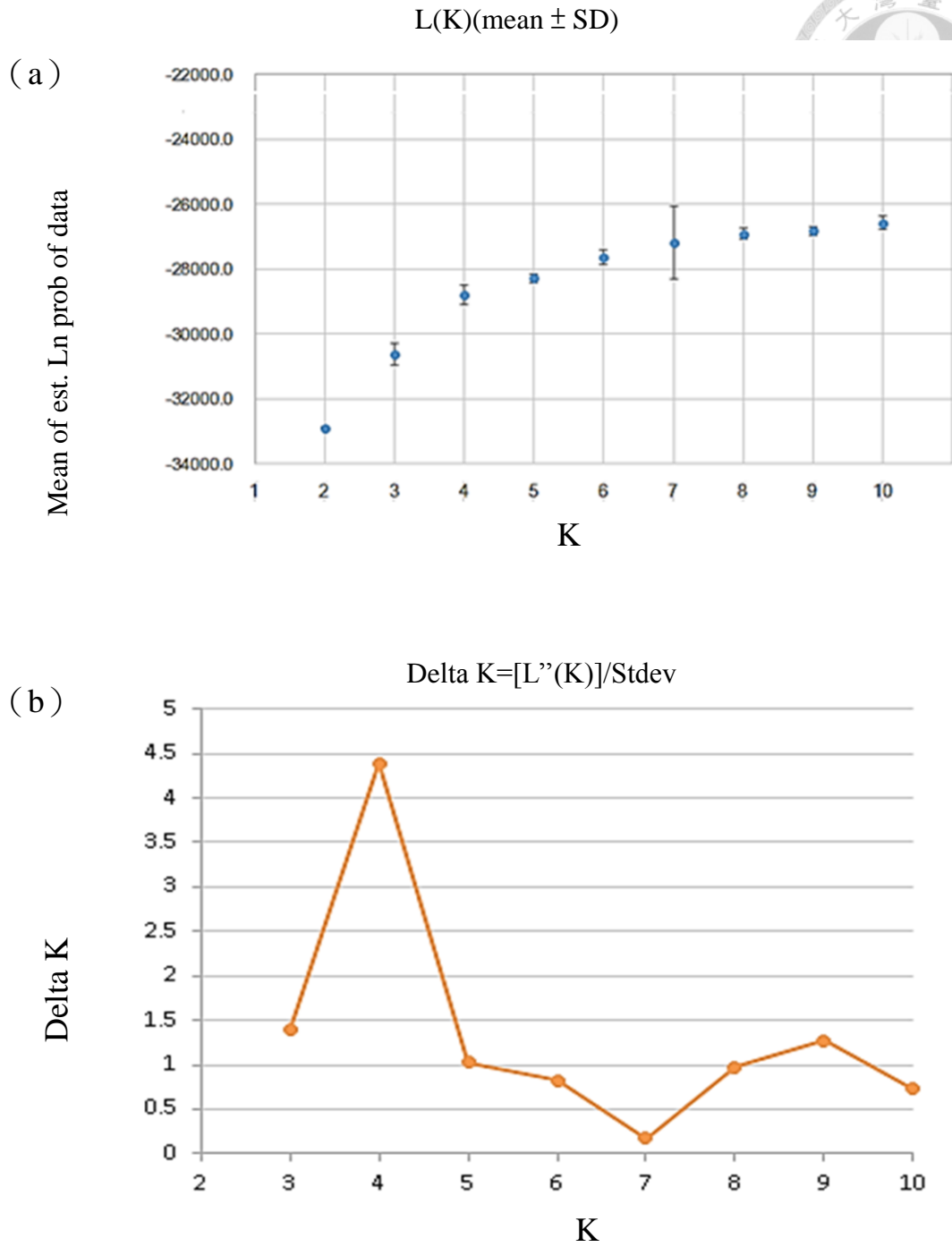
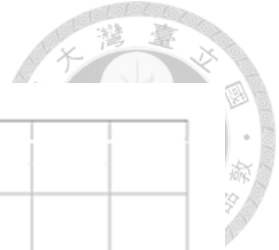


圖 20 (a) $L(K)$ 與 (b) ΔK 之折線圖。兩種分析圖皆顯示建議 K 值為 4。

Figure 20 The line graphs of (a) $L(K)$ and (b) ΔK . The best K value in both graphs is the same, $K=4$.

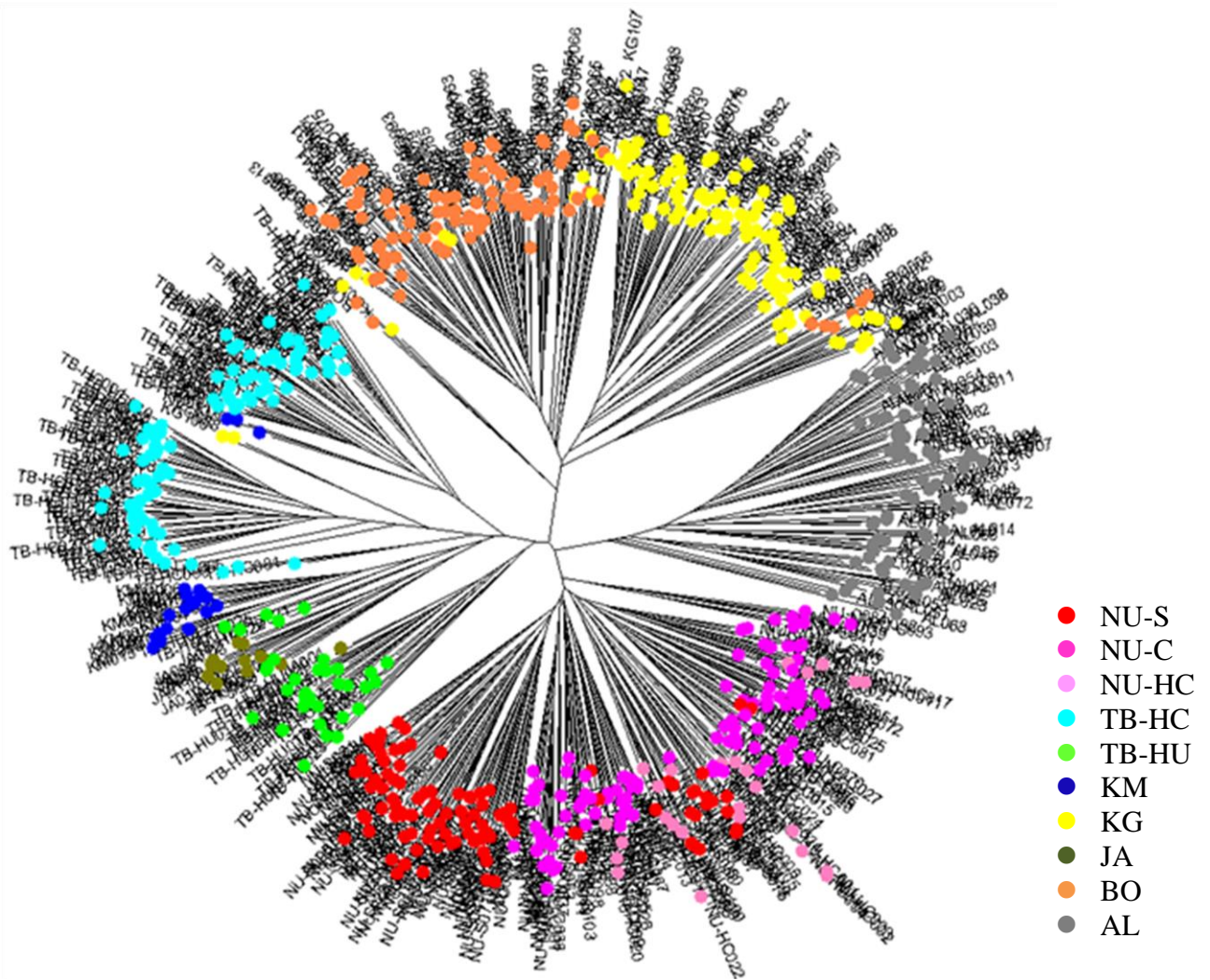


圖 21 全體山羊個體利用 15 組微衛星標識以鄰位連接法所得之親緣關係樹。

NU-S：S 場努比亞、NU-C：C 場努比亞、NU-HC：恆春努比亞、TB-HC：臺灣黑山羊恆春品、TB-HU：臺灣黑山羊花蓮品系、KM：金門山羊、KG：墾丁山羊、JA：吉安山羊、BO：波爾、AL：阿爾拜因。

Figure 21 The neighbor-joining (NJ) tree among these goat individuals based on the 15 sets of microsatellite markers. NU-S: NU from S farm; NU-C: NU from C farm; NU-HC: NU from Hengchun; TB-HC: TB from Hengchun; TB-HU: TB from Hualien; KM: Kinmen goats; KG: Ken Ting goat; JA: Ji-An goat; BO: Boer; AL: Alpine.

(五)、個體鑑別率之估算

本研究使用之 15 組微衛星標識分析個體鑑別之結果如表 12 所示，若進一步，可再分為無相關個體之 $P_{(ID)}$ 以及具有親屬關係之 $P_{(ID)sibs}$ 。無相關的山羊個體於各微衛星標識之 $P_{(ID)}$ 範圍，從 0.023 (ILSTS019) 至 0.292 (SPS115)，總合為 6.2×10^{-18} ，此結果顯示山羊頭數需大於 10^{18} 頭，才有可能出現兩山羊個體於此 15 組微衛星標識皆為相同基因型之可能。而具有親屬關係（同胞或半同胞）之全部山羊個體，於各微衛星標識之 $P_{(ID)sibs}$ 從 0.312 (ILSTS019) 至 0.549 (SPS115)，總合值為 4×10^{-7} ，意指有血緣關係之同胞或半同胞山羊頭數須達到百萬頭以上，隨機採樣之兩山羊個體，才有可能在此 15 組微衛星標識出現相同基因型之情況。圖 22 為將 $P_{(ID)}$ 與 $P_{(ID)sibs}$ 取對數(以 10 為底)並乘以 -1 後對標識數所做之折線圖，由此圖中，可了解隨著使用之標識數提升，其個體鑑別能力亦隨之提升，因此，可推估在確知山羊族群在養頭數的情況下，涵蓋所有族群個體數時，其所需之微衛星標識之最低數量。根據微衛星標識之結果，發現本試驗動物可能存在近親之關係，因此實際之個體鑑別率，將介於 $P_{(ID)}$ 與 $P_{(ID)sibs}$ 之間。



表 12 全體山羊族群於 15 組微衛星標識之個體鑑別率 ($P_{(ID)}$) 以及近親個體鑑別率 ($P_{(ID)sib}$)

Table 12 The probability of identity ($P_{(ID)}$) and the probability of identity among sibs ($P_{(ID)sib}$) of 15 microsatellite markers in total goat populations

Locus	$P_{(ID)}$	$P_{(ID)sib}$
ILSTS019	0.023	0.312
INRA063	0.029	0.321
SRCRSP08	0.038	0.333
HSC	0.047	0.345
SRCRSP023	0.052	0.350
OarFCB20	0.059	0.360
McM0527	0.063	0.364
INRA023	0.067	0.365
CSR0247	0.070	0.372
BM1258	0.101	0.401
SRCRSP001	0.108	0.402
SPS113	0.118	0.415
BOBT24A	0.124	0.419
BM1329	0.124	0.427
SPS115	0.292	0.549
Combined	6.2×10^{-18}	$4. \times 10^{-7}$

$P_{(ID)}$: probability of identity; $P_{(ID)sib}$: probability of identity among sibs.

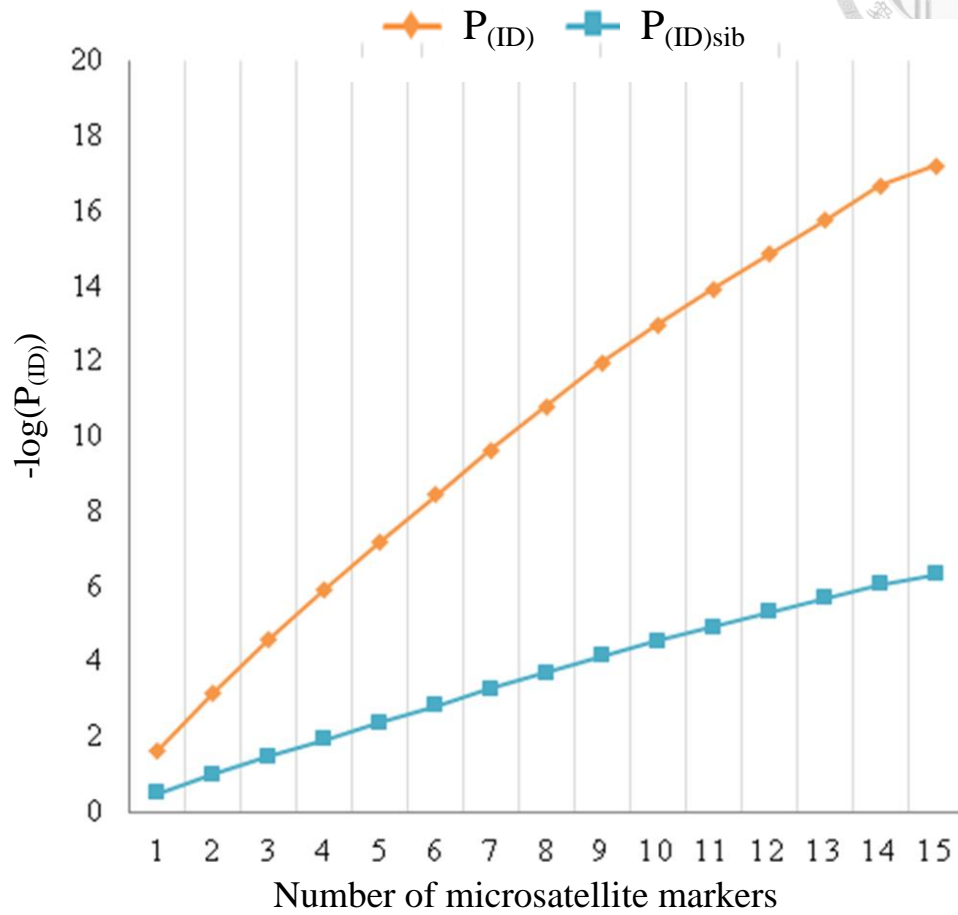


圖 22 全體山羊族群之個體鑑別率 ($P_{(ID)}$) 以及近親個體鑑別率 ($P_{(ID)sib}$) 對微衛星標識數目之折線圖。

Figure 22 The probability of identity ($P_{(ID)}$) and the probability of identity among sibs ($P_{(ID)sib}$) of goat on the number of microsatellite markers of the line graph.

試驗二：利用候選基因法進行臺灣努比亞生長性狀及體型測量值相關性分析



(一)、候選基因多態性之分析

根據之前研究結果顯示及其於動物生理所具有之功能，本試驗所評估之候選基因為肌肉生長抑制素基因 (*MSTN*)、垂腺特定轉錄因子 1 基因 (*POU1F1*) 及類胰島素生長因子 I 基因 (*IGF-I*)，其單核苷酸突變之變異點如表 4 所示，初步檢測 497 頭努比亞山羊，在此四個候選基因之單核苷酸多態性。結果顯示，所有山羊個體於此四組單核苷酸多態性標識皆具有多態性，本試驗利用 TaqMan SNP Genotyping Assay 進行試驗山羊族群樣本之基因型分析。

(二)、*MSTN* 基因 5 端 UTR 區域基因多態性分析

1. *MSTN* 基因 5 端 UTR 基因型分析

先利用限制片段長度多態性分析努比亞山羊 *MSTN* 基因 5 端 UTR 區域基因型之多態性，並分析其基因型分布與頻率。該區域可被限制酶辨識並進行限制酵素酶切反應，使用之限制酶酵素種類、引子序列以及反應條件如表 6 及表 7 所示，PCR 產物大小為 701 bp，經由酶切後以 2% 之 agarose gel 進行電泳，從電泳圖可以發現，利用 *DraI* 進行限制酵素酶切後之 PCR 產物可產生三種條帶 (圖 23)，其大小為 696、504、以及 197 bp，基因型 AA、AB 以及 BB 基因型所對應之條帶型態如圖 23 所示，顯示 *MSTN* 基因 5 端 UTR 區域具有三種基因型。各基因型之核苷酸型態為：AA 基因型於 g. DNA 1256 位點發生五個核苷酸 (TTTTA) 之缺失 (-/-)，不能為酵素所辨識，在電泳圖上產生大小為 696 bp 的條帶；BB 基因型則是帶有 TTTTA 之同型結合子 (+/+)，可為限制酶所辨識，在電泳圖上產生大小為 197 bp 的條帶；AB 基因型則為具有 TTTTA 以及缺乏 TTTTA 之異型結合子 (+/-)，在電泳圖上產生大小為 696、504、以及 197 bp 的條帶。

確認變異位點後，再使用 TaqMan SNP Genotyping Assay 進行大量樣本之基因型分析 (圖 24)，螢光引子序列及反應條件如表 5 所示，基因型與交替基因

頻率結果如表 13 及表 14 所示，其分布情形於兩個不同來源之山羊族群與全體山羊族群內相似，皆以異型結合子之 AB 基因型數量最多，於全體山羊族群內為 258 頭，頻率為 58%，且以 AA 基因型的數量最少，於全體山羊族群內為 95 頭，頻率為 20%。交替基因 A 與 B 之頻率，在 S 場與 C 場內分別為 0.50 與 0.50 以及 0.45 與 0.55，在全體山羊族群內為 0.47 與 0.53，顯示此兩交替基因出現於臺灣努比亞山羊族群之比例相近，且此一分布所有族群皆符合哈溫平衡 ($P > 0.05$)。

2. *MSTN* 基因型多態性與努比亞生長性狀相關性分析

為探討 *MSTN* 基因 5 端 UTR 區域 g.1256TTTTA/- 之基因多態性與努比亞山羊生長性狀之相關性，本試驗中，將 *MSTN* 基因 5 端 UTR 區域 g.1256TTTTA/TTTTA 的個體定義為 BB 基因型，*MSTN* 基因 5 端 UTR 區為 g.1256-/- 的個體定義為 AA 基因型，*MSTN* 基因 5 端 UTR 區為 g.1256TTTTA/- 的個體則定義為 AB 基因型，將此三種基因型對蒐集之生長性狀資料進行相關性分析。分析結果顯示 (表 15)，*MSTN* 基因 5 端 UTR 區域 g.1256TTTTA/- 基因型為 BB 的個體，較基因型為 AB 及 AA 的個體，具有顯著較高之出生胸圍 (41.11 ± 1.01) 以及六至九月齡之平均日增重 (0.16 ± 0.01) ($P < 0.05$)；且較基因型為 AA 的個體，具有顯著較高之六月齡體重 (28.05 ± 0.57 vs. 27.10 ± 0.63) 及三至六月齡之平均日增重 (0.13 ± 0.01 vs. 0.12 ± 0.01) ($P < 0.05$)；而 *MSTN* 基因 5 端 UTR 區域 g.1256TTTTA/- 基因型為 AB 的個體，亦於六月齡體重 (29.322 ± 0.371 vs. 27.105 ± 0.638) 與三至六月齡之平均日增重 (0.136 ± 0.003 vs. 0.119 ± 0.005) ($P < 0.01$)，顯著高於基因型為 AA 的個體 ($P < 0.05$)，然而在其他所檢測之生長性狀並無顯著影響 ($P > 0.05$)。

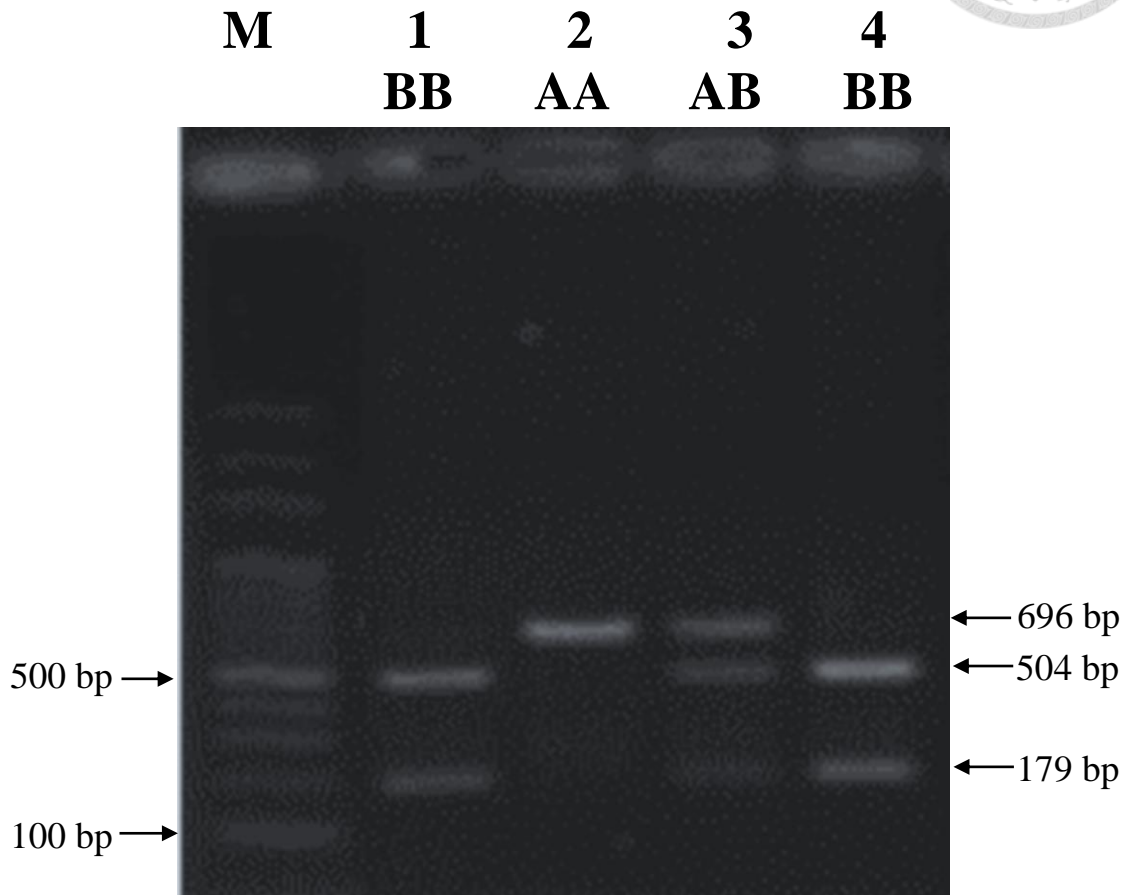
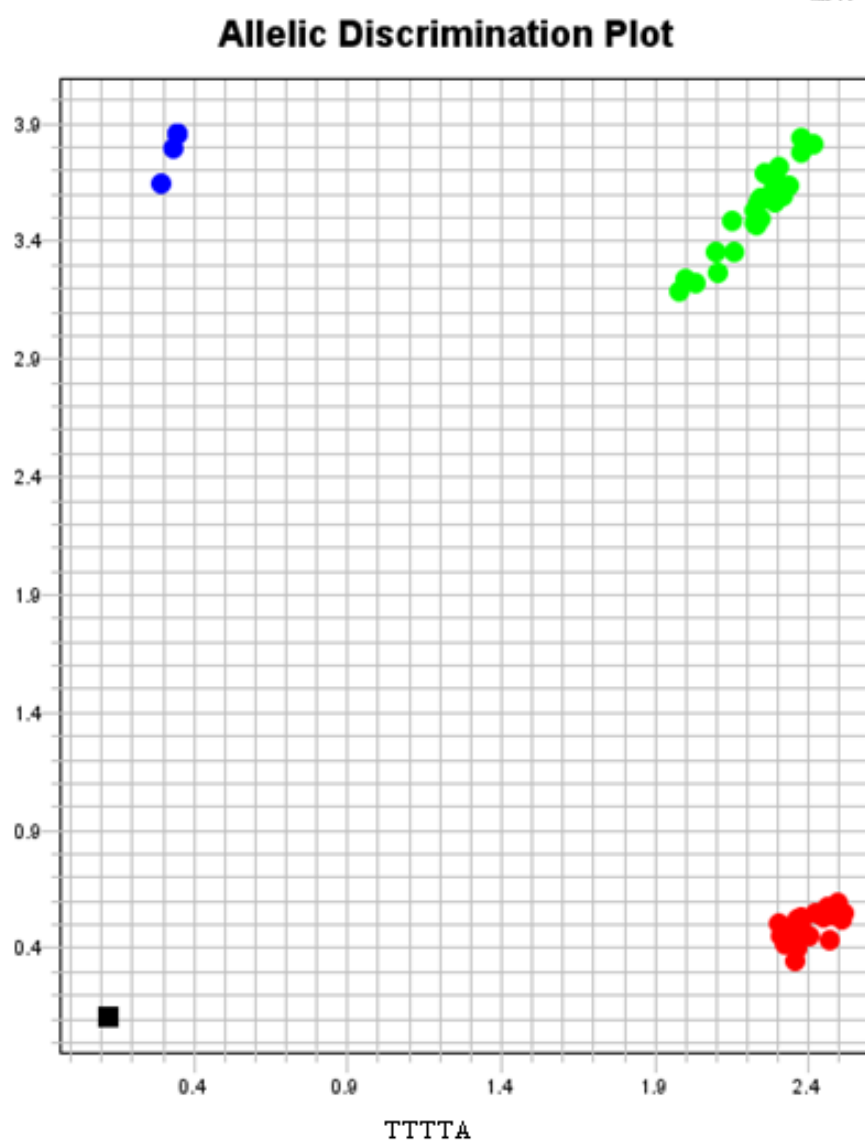
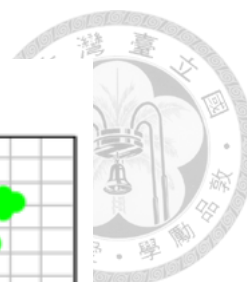


圖 23 山羊肌肉抑制素基因 5 端 UTR 片段以 *DraI* 限制酶切割之基因型判定。； Lane 1 及 4：BB 基因型（504 和 179 bp）； Lane 2：AA 基因型（696 bp）； Lane 3：AB 基因型（696、504 和 179 bp）； M：100 bp DNA ladder marker。

Figure 23 The genotyping of 5' UTR fragment of the goat *MSTN* gene by *DraI* restriction enzyme digestion. Lane 1 and 4: BB genotype (504 and 179 bp); Lane 2: AA genotype (696 bp); Lane 3: AB genotype (696, 504 and 179 bp); M: 100 bp DNA ladder marker.



● Homozygous ttta/ttta ● Homozygous none/none ● Heterozygous ttta/none

圖 24 *MSTN* 基因 5' UTR 區域 g.1256 TTTTA/- 位點以 TaqMan SNP Genotyping Assay 分析之基因型結果。未加 DNA 模板之對照組 (negative control) 以 (■) 表示。

Figure 24 *MSTN* gene 5' UTR region g.1256 TTTTA/- locus cluster plot between TaqMan SNP Genotyping Assay. One no template control (■) was included as negative control in the study.



表 13 來自不同族群之努比亞山羊族群 *MSTN* 基因 5' 端 UTR 區域 g.1256
TTTTA/- 變異位點之基因型及交替基因頻率

Table 13 Allelic and genotypic frequencies of *MSTN* gene 5' UTR region g.1256
TTTTA/- from different Nubian populations

Pop ¹	Sample Size	Genotypic frequency			Allelic frequency		HWE ²
		AA	AB	BB	A	B	
C	188	0.23 (44)	0.54 (100)	0.23 (44)	0.50	0.50	NS
S	289	0.18 (51)	0.54 (158)	0.28 (80)	0.45	0.55	NS
Total	477	0.20 (95)	0.54 (258)	0.26 (124)	0.47	0.53	NS

Pop¹: populations.

HWE²: Hardy-Weinberg equilibrium test, NS: not significant ($P > 0.05$).

Number within parenthesis is the sample size.

表 14 *MSTN* 基因 5' 端 UTR 區域 g.1256TTTTA/- 之基因型與努比亞山羊生長性狀之相關性

Table 14 Associations of genotypes of *MSTN* gene 5' UTR region g.1256 TTTTA/- with growth traits in Nubian goats

Traits ¹	Genotypes of <i>MSTN</i> gene			<i>P</i> value
	AA (96) [*]	AB (259)	BB (125)	
BW0 (kg)	4.40 ± 0.34 (18)	4.19 ± 0.25 (34)	4.29 ± 0.30 (23)	0.882
BH0 (cm)	39.01 ± 0.88 (7)	39.14 ± 0.62 (16)	40.39 ± 1.02 (5)	0.546
BL0 (cm)	37.14 ± 1.45 (7)	34.05 ± 1.03 (16)	37.46 ± 1.67 (5)	0.110
BCG0 (cm)	39.03 ± 0.87 ^{ab} (7)	37.96 ± 0.62 ^b (16)	41.11 ± 1.01 ^a (5)	0.048
ADG3 (kg/day)	1.19 ± 0.01 (91)	0.19 ± 0.00 (254)	0.19 ± 0.01 (122)	0.483
BW3 (kg)	17.32 ± 0.35 (91)	17.83 ± 0.21 (254)	17.76 ± 0.31 (122)	0.476
BH3 (cm)	54.55 ± 0.61 (91)	54.58 ± 0.36 (254)	54.90 ± 0.53 (122)	0.872
BL3 (cm)	52.97 ± 0.58 (91)	52.67 ± 0.35 (254)	52.77 ± 0.50 (122)	0.909
BCG3 (cm)	57.20 ± 0.66 (91)	57.04 ± 0.39 (254)	57.46 ± 0.57 (122)	0.833
ADG6 (kg/day)	0.11 ± 0.01 ^b (53)	0.13 ± 0.01 ^a (155)	0.12 ± 0.01 ^{ab} (64)	0.011
BW6 (kg)	27.10 ± 0.63 ^B (53)	29.32 ± 0.37 ^A (155)	28.05 ± 0.57 ^{AB} (64)	0.006
BH6 (cm)	62.64 ± 0.83 (53)	62.08 ± 0.48 (155)	61.86 ± 0.75 (64)	0.767
BL6 (cm)	62.12 ± 0.83 (53)	61.84 ± 0.48 (155)	62.12 ± 0.75 (64)	0.933
BCG6 (cm)	67.70 ± 0.96 (29)	67.37 ± 0.56 (155)	66.78 ± 0.87 (64)	0.764
ADG9 (kg/day)	0.14 ± 0.01 ^b (46)	0.15 ± 0.01 ^{ab} (94)	0.16 ± 0.01 ^a (44)	0.019
BW9 (kg)	39.92 ± 0.84 (46)	41.64 ± 0.58 (94)	40.92 ± 0.86 (44)	0.246
BH9 (cm)	68.10 ± 1.01 (46)	67.46 ± 0.71 (94)	68.17 ± 1.04 (44)	0.800
BL9 (cm)	69.73 ± 1.02 (46)	68.57 ± 0.72 (94)	68.43 ± 1.05 (44)	0.594
BCG9 (cm)	77.57 ± 1.06 (46)	76.16 ± 0.74 (94)	76.08 ± 1.09 (44)	0.503
ADG12 (kg/day)	0.16 ± 0.01 (28)	0.16 ± 0.01 (63)	0.17 ± 0.01 (31)	0.344
BW12 (kg)	54.16 ± 1.58 (28)	57.15 ± 1.05 (63)	56.14 ± 1.41 (31)	0.251
BH12 (cm)	73.18 ± 1.37 (28)	74.07 ± 0.91 (63)	73.32 ± 1.22 (31)	0.799
BL12 (cm)	74.86 ± 1.47 (28)	74.58 ± 0.97 (63)	73.73 ± 1.30 (31)	0.821
BCG12 (cm)	85.07 ± 1.52 (28)	84.68 ± 1.01 (63)	84.14 ± 1.35 (31)	0.894

Values are the least square means ± standard error for the trait.

^{*} Numbers within parentheses are the sample sizes.

¹ ADG=average daily gain; BW=body weight; BH=body height; BL=body length; BCG=body circumference girth.

^{a,b} Means within the same row with different superscripts differ significantly ($P < 0.05$).

^{A,B} Means within the same row with different superscripts differ significantly ($P < 0.01$).

(三)、*IGF-I* 基因第四內顯子基因多態性分析

1. *IGF-I* 基因第四內顯子基因型分析

本試驗中，先利用限制片段長度多態性分析努比亞山羊 *IGF-I* 基因第四內顯子區域基因型之多態性，並分析其基因型分布情況與頻率。該區域可被限制酶 *HaeIII* 辨識並進行酶切反應，使用之限制酶酵素種類、引子序列以及反應條件如表 6 及表 7 所示，PCR 產物大小為 177 bp，經由酶切後以 2% 之 agarose gel 進行電泳，從電泳圖可以發現，利用限制酵素 *HaeIII* 酶切後之 PCR 產物可以產生三種條帶（圖 25），其大小為 177、117 和 60 bp，基因型：CC、CG 以及 GG 基因型所對應之條帶型態如圖 25 所示，顯示 *IGF-I* 基因第四內顯子 g.282G>C 具有三種基因型。進一部經由定序之結果顯示，CC 基因型於 g.282G>C 位點為 C 之同型結合子 (C/C)，不能為酵素所辨識，在電泳圖上產生大小為 177 bp 的條帶；GG 基因型則是帶有 G 之同型結合子 (G/G)，可為酵素所辨識，在電泳圖上產生大小為 117 和 60 bp 的條帶；CG 基因型則為具有 C 以及 G 之異型結合子 (C/G)，在電泳圖上產生大小為 177、117 和 60 bp 的條帶。

確認變異位點後，再使用 TaqMan SNP Genotyping Assay 進行大量樣本之基因型分析（圖 26），螢光引子序列及反應條件如表 5 所示，基因型與交替基因頻率結果如表 16 及表 17 所示，其分布情形於兩個不同來源之山羊族群與全體山羊族群內相似，皆以異型結合子之 CC 基因型數量最少，於全體努比亞山羊族群中之比例僅占 10%，數量為 47 頭，分別來自 C 場 23 頭與 S 場 24 頭，交替基因 A 與 B 之頻率在全體山羊族群內為 0.31 與 0.69，然以 χ^2 檢定進行 HWE 檢測之結果顯示，此一分布所有族群仍符合哈溫平衡 ($P > 0.05$)。

2. *IGF-I* 基因型多態性與努比亞生長性狀相關性分析

為探討 *IGF-I* 基因第四內顯子區域 g.282C>G 之基因多態性與努比亞山羊生長性狀之相關性，本試驗中，將 *IGF-I* 基因第四內顯子區域 g.282C>G 為 C/C 的個體定義為 CC 基因型，*IGF-I* 基因第四內顯子區域 g.282C>G 為 C/G 的個體定義為 CG 基因型，*IGF-I* 基因第四內顯子區域 g.282C>G 為 G/G 的



個體則定義為 GG 基因型，將此三種基因型對蒐集之生長性狀資料進行相關性分析。分析結果如表 18 所示，於 *IGF-I* 基因第四內顯子區域 g.282C>G 為 CC 基因型之個體，於所檢測之生長性狀項目中，有多項生長性狀達到顯著性 ($P < 0.05$) 與極顯著性之差異 ($P < 0.01$)，包括出生之體重 (5.79 ± 0.46) ($P < 0.01$)、體長 (40.09 ± 1.47) ($P < 0.01$) 及胸圍 (41.48 ± 0.96) ($P < 0.01$)；六月齡之體高 (65.31 ± 1.11) ($P < 0.01$)、體長 (64.95 ± 1.12) ($P < 0.01$) 及胸圍 (70.38 ± 1.29) ($P < 0.01$)；九月齡之體長 (74.29 ± 1.57) ($P < 0.01$)、及胸圍 (81.05 ± 1.63) ($P < 0.01$)；十二月齡之體高 (77.86 ± 1.95) ($P < 0.05$) 及體長 (79.19 ± 2.08) ($P < 0.05$)，皆顯著地高於 CG 以及 GG 基因型之個體，且除了十二月齡之體高及體長性狀達到顯著水平以外，其餘在出生、六月齡以及九月齡所檢測之性狀，皆達到極顯著之水平。而基因型為 CG 以及 GG 之個體間，則無顯著差異 ($P > 0.05$)。

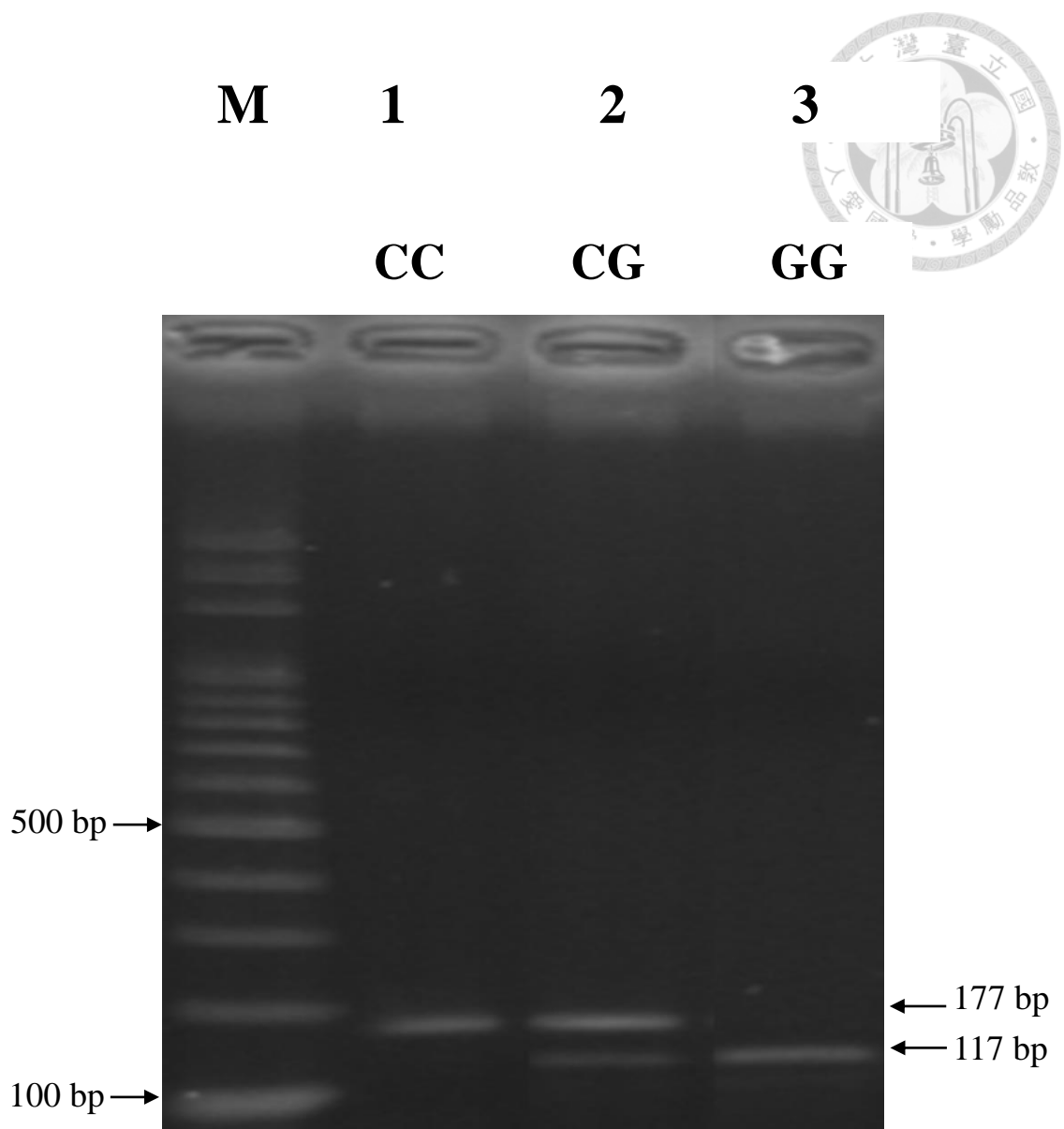


圖 25 山羊類胰島素生長因子 *I* 基因第四內顯子區域片段以 *Hae*III 限制酶切割之基因型判定。Lane 1: CC 基因型(177 bp); Lane 2: CG 基因型(177 、117 和 60 bp) ; Lane 3 : GG 基因型 (117 和 60 bp) 。M : 100 bp DNA ladder marker 大小為 60 bp 的片段無法在 agarose gel 上顯示。

Figure 25 The genotyping of intron 4 fragment of the goat *IGF-I* gene by *Hae*III restriction enzyme digestion. Lane 1: CC genotype (177 bp); Lane 2: CG genotype (177 and 117 bp); Lane 3: GG genotype (117 bp). M: 100 bp DNA ladder marker The 60 bp fragments were invisible in the agarose gel.



Allelic Discrimination Plot

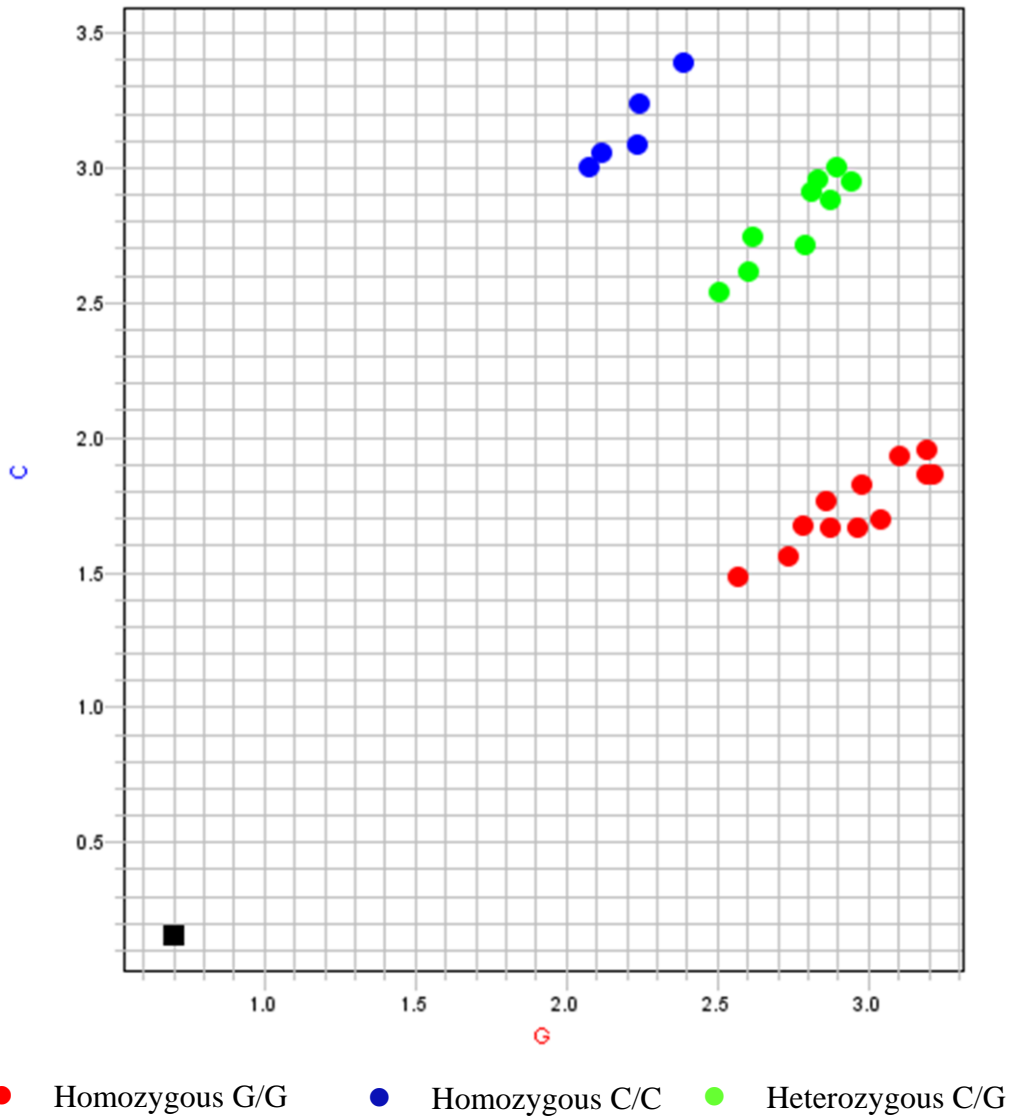


圖 26 *IGF-1* 基因第四內顯子區域 g.282G>C 位點以 TaqMan SNP Genotyping Assay 分析之基因型結果。未加 DNA 模板之對照組 (negative control) 以 (■) 表示。

Figure 26 *IGF-1* gene intron 4 g.282G>C cluster plot between TaqMan SNP Genotyping Assay. One no template control (■) was included as negative control in the study.



表 15 來自不同族群之努比亞山羊族群 *IGF-I* 基因第四內顯子區域 g.282G>C 變異位點之基因型及交替基因頻率

Table 15 Allelic and genotypic frequencies of *IGF-I* gene intro 4 g.282G>C from different Nubian populations

Pop ¹	Sample size	Genotypic frequency			Allelic frequency		HWE ²
		CC	CG	GG	C	G	
C	189	0.12 (23)	0.45 (84)	0.43 (82)	0.34	0.66	NS
S	296	0.08 (24)	0.40 (119)	0.52 (153)	0.28	0.72	NS
Total	485	0.10 (47)	0.42 (203)	0.48 (235)	0.31	0.69	NS

Pop¹: populations.

HWE²: Hardy-Weinberg equilibrium test, NS: not significant ($P > 0.05$).

Number within parenthesis is the sample size.

表 16 *IGF-I* 基因第四內顯子區域 g.282C>G 之基因型與努比亞山羊生長性狀之相關性

Table 16 Associations of genotypes of *IGF1* gene into 4 g.282G>C with growth traits in Nubian goats

Traits ¹	Genotypes of <i>IGF1</i> gene			P value
	CC (48) [*]	CG (204)	GG (236)	
BW0 (kg)	5.79 ± 0.463 ^A (9)	4.42 ± 0.21 ^B (37)	3.76 ± 0.22 ^B (34)	0.0006
BH0 (cm)	37.83 ± 1.06 (6)	38.94 ± 0.60 (16)	38.63 ± 0.82 (9)	0.2325
BL0 (cm)	40.09 ± 1.47 ^A (6)	35.36 ± 0.83 ^B (16)	33.04 ± 1.13 ^B (9)	0.0029
BCG0 (cm)	41.48 ± 0.96 ^A (6)	38.82 ± 0.54 ^{AB} (16)	37.32 ± 0.74 ^B (9)	0.0076
ADG3 (kg/day)	0.19 ± 0.01 (47)	0.19 ± 0.01 (199)	0.19 ± 0.01 (227)	0.6122
BW3 (kg)	17.74 ± 0.50 (47)	17.84 ± 0.24 (199)	17.51 ± 0.22 (227)	0.6066
BH3 (cm)	55.73 ± 0.86 (47)	54.76 ± 0.41 (199)	54.29 ± 0.38 (227)	0.2920
BL3 (cm)	54.26 ± 0.81 (47)	52.90 ± 0.39 (199)	52.19 ± 0.36 (227)	0.0554
BCG3 (cm)	58.44 ± 0.93 (47)	57.39 ± 0.45 (199)	56.63 ± 0.42 (227)	0.1584
ADG6 (kg/day)	0.12 ± 0.01 (29)	0.13 ± 0.01 (112)	0.12 ± 0.01 (135)	0.3098
BW6 (kg)	28.73 ± 0.88 (29)	29.10 ± 0.44 (112)	28.00 ± 0.40 (135)	0.1867
BH6 (cm)	65.31 ± 1.11 ^A (29)	62.21 ± 0.55 ^B (112)	61.34 ± 0.51 ^B (135)	0.0057
BL6 (cm)	64.95 ± 1.12 ^A (29)	62.39 ± 0.56 ^{AB} (112)	60.90 ± 0.51 ^B (135)	0.0031
BCG6 (cm)	70.38 ± 1.29 ^A (29)	67.96 ± 0.65 ^{AB} (112)	65.96 ± 0.59 ^B (135)	0.0034
ADG9 (kg/day)	0.15 ± 0.01 (20)	0.16 ± 0.01 (77)	0.15 ± 0.01 (96)	0.7046
BW9 (kg)	41.82 ± 1.32 (20)	42.01 ± 0.66 (77)	40.15 ± 0.59 (96)	0.0994
BH9 (cm)	71.08 ± 1.57 (20)	67.91 ± 0.79 (77)	67.07 ± 0.70 (96)	0.0703
BL9 (cm)	74.29 ± 1.57 ^A (20)	69.14 ± 0.79 ^B (77)	67.46 ± 0.70 ^B (96)	0.0005
BCG9 (cm)	81.05 ± 1.63 ^A (20)	77.08 ± 0.82 ^{AB} (77)	75.18 ± 0.73 ^B (96)	0.0038
ADG12 (kg/day)	0.17 ± 0.01 (13)	0.16 ± 0.01 (46)	0.16 ± 0.01 (69)	0.9572
BW12 (kg)	58.48 ± 2.27 (13)	57.68 ± 1.17 (46)	54.71 ± 0.98 (69)	0.0748
BH12 (cm)	77.86 ± 1.95 ^a (13)	74.16 ± 1.01 ^{ab} (46)	72.41 ± 0.85 ^b (69)	0.0257
BL12 (cm)	79.19 ± 2.08 ^a (13)	74.75 ± 1.07 ^{ab} (46)	73.17 ± 0.90 ^b (69)	0.0236
BCG12 (cm)	88.04 ± 2.16 (13)	85.40 ± 1.11 (46)	83.40 ± 0.94 (69)	0.0854

Values are the least square means ± standard error for the trait.

^{*} Numbers within parentheses are the sample sizes.

¹ ADG=average daily gain; BW=body weight; BH=body height; BL=body length; BCG=body circumference girth.

^{a,b} Means within the same row with different superscripts differ significantly ($P < 0.05$).

^{A,B} Means within the same row with different superscripts differ significantly ($P < 0.01$).

(四)、*POUIF1* 基因第六外顯子區域基因多態性分析

1. *POUIF1* 基因第六外顯子區域基因型分析

本試驗中，先利用直接定序法確認努比亞山羊 *POUIF1* 基因第六外顯子區域 g.102T>G 基因型之多態性，定序所需之引子序列與反應條件表 6 及表 7 所示。PCR 產物大小為 450 bp，再經由定序結果可區分出 TT、TG 及 GG 三種不同基因型（圖 27），顯示努比亞山羊 *POUIF1* 基因第六外顯子區域具有多態性。

確認變異位點後，再使用 TaqMan SNP Genotyping Assay 進行大量樣本之基因型分析（圖 28），並分析其基因型分布情況與頻率，螢光引子序列及反應條件如表 5 所示，基因型檢測結果顯示，*POUIF1* 基因第六外顯子區域 g.102T>G 具有三種基因型，分別為 D1D1、D1D2 與 D2D2 型，其中，D1 代表交替基因 T，而 D2 代表交替基因 G。基因型與交替基因頻率結果如表 19 及表 20 所示，其基因型分布情形於兩個不同來源之山羊族群與全體山羊族群內相似，皆以同型結合子 D2D2 基因型數量最少，在所受檢測之 497 頭山羊中僅出現 11 頭，其中 C 場與 S 場各佔 1 頭與 10 頭，基因型頻率於全體努比亞山羊族群中之比例僅占 3%，交替基因 D1 與 D2 之頻率，在全體山羊族群內為 0.79 與 0.21，在 C 場與 S 場皆為 0.75 與 0.25，交替基因 D2 明顯較少。以 χ^2 檢定進行 HWE 檢測之結果顯示，此一分布所有族群皆偏離哈溫平衡（ $P < 0.05$ ）。

2. *POUIF1* 基因型多態性與努比亞生長性狀相關性分析

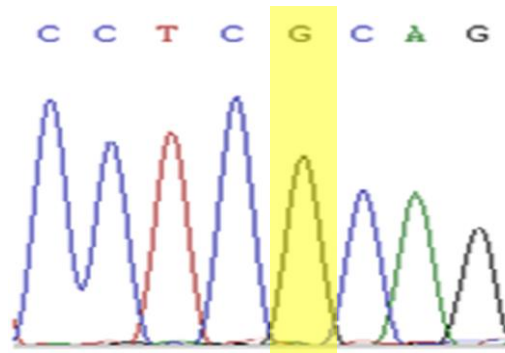
為探討 *POUIF1* 基因第六外顯子區域 g.102T>G 之基因多態性與努比亞山羊生長性狀之相關性，本試驗中，將 *POUIF1* 基因第六外顯子區域 g.102T>G 為 T/T 的個體定義為 D1D1 基因型，*POUIF1* 基因第六外顯子區域 g.102T>G 為 T/G 的個體定義為 D1D2 基因型，*POUIF1* 基因第六外顯子區域 g.102T>G 為 G/G 的個體定義為 D2D2 基因型，將此三種基因型對蒐集之生長性狀資料進行相關性分析。

分析結果如表 21 所示，*POUIF1* 基因第六外顯子區域 g.102T>G 位點之三基因型中，以 D1D1 基因型之個體，於多項受測之生長性狀項目達到顯著

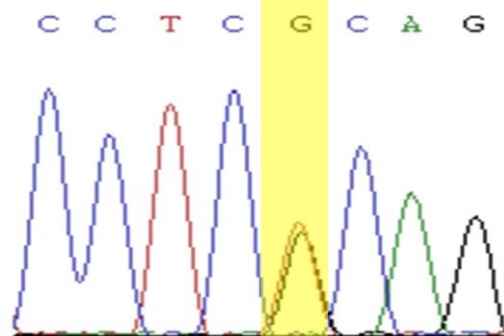
性 ($P < 0.05$) 以及極顯著 ($P < 0.01$) 性差異，包括六月齡之體重 (29.03 ± 0.36) ($P < 0.05$)、體高 (62.85 ± 0.46) ($P < 0.05$)、體長 (62.99 ± 0.46) ($P < 0.01$) 及胸圍 (68.64 ± 0.52) ($P < 0.01$)；九月齡之體重 (41.95 ± 0.52) ($P < 0.01$)、體高 (69.07 ± 0.61) ($P < 0.01$)、體長 (70.08 ± 0.63) ($P < 0.01$) 及胸圍 (77.95 ± 0.64) ($P < 0.01$) 與十二月齡之體長 (76.69 ± 1.13) ($P < 0.01$) 及胸圍 (87.69 ± 1.16) ($P < 0.01$)，皆顯著地高於 D1D2 以及 D2D2 基因型之個體 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)，且除了六月齡之體重與體高達到顯著性水平以外，其餘之生長性狀項目皆達到極顯著水平。而基因型為 D1D2 以及 D2D2 之個體間，則無顯著差異 ($P > 0.05$)。



(a) GG 基因型



(b) TG 基因型



(c) TT 基因型

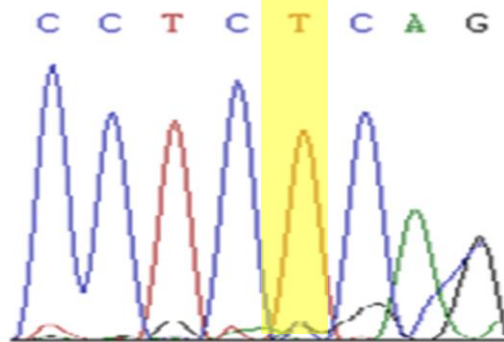
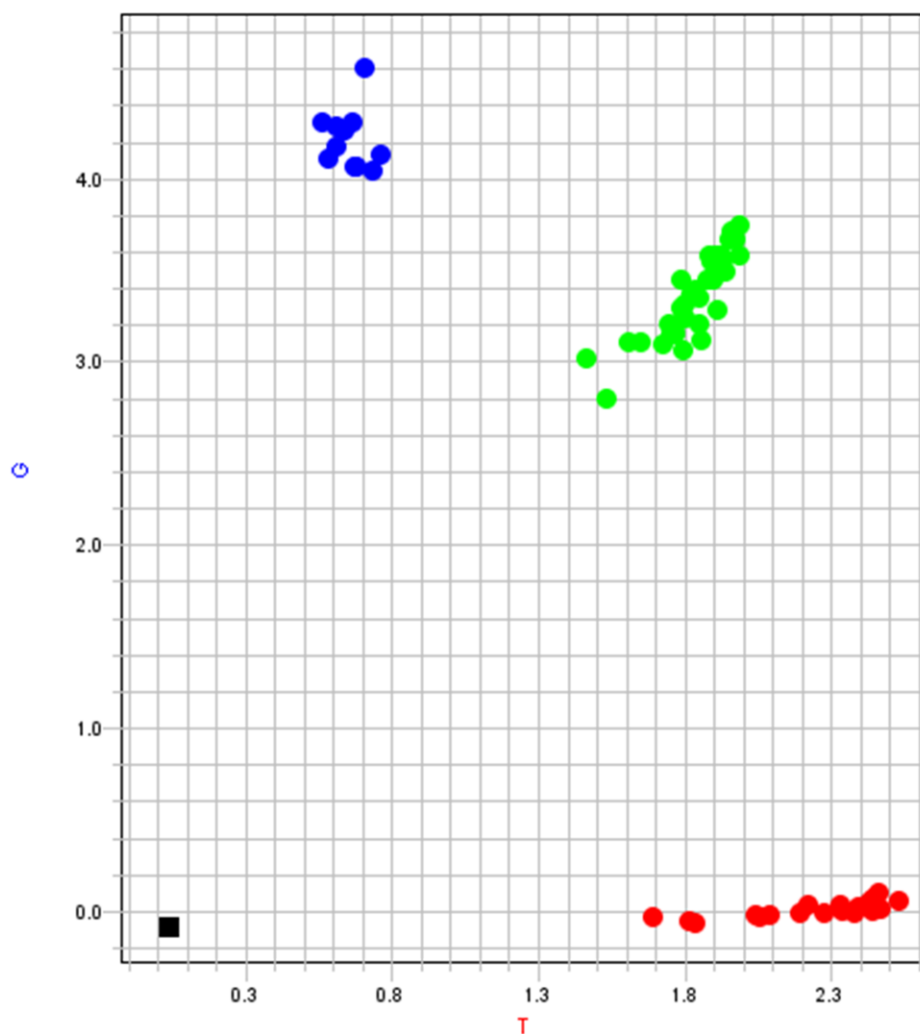


圖 27 山羊 *POUIF1* 基因第六外顯子區域 g.102T>G 變異位點(黃色標示)。(a) GG 基因型；(b) TG 基因型；(c) TT 基因型。

Figure 27 Goat *POUIF1* gene exon 6 g.102T>G mutation site. Highlight with yellow color. (a) GG genotype; (b) TG genotype; (c) TT genotype.



Allelic Discrimination Plot



● Homozygous T/T ● Homozygous G/T ● Heterozygous G/G

圖 28 *POU1F1* 基因第六外顯子區域 g.102T>G 位點以 TaqMan SNP Genotyping Assay 分析之基因型結果。未加 DNA 模板之對照組 (negative control) 以 (■) 表示。

Figure 28 *POU1F1* gene exon 6 g.102T>G cluster plot between TaqMan SNP Genotyping Assay. One no template control (■) was includes as negative control in the study.



表 17 來自不同族群之努比亞山羊族群 *POUIF1* 基因第六外顯子區域 g.102T>G 變異位點之基因型及交替基因頻率

Table 17 Allelic and genotypic frequencies of *POUIF1* gene exon 6 g.102T>G from different Nubian populations

Pop ¹	Sample size	Genotypic frequency			Allelic frequency		HWE ²
		D1D1	D1D2	D2D2	D1	D2	
C	189	0.77 (146)	0.22 (42)	0.01 (1)	0.75	0.75	*
S	293	0.53 (154)	0.44 (129)	0.03 (10)	0.75	0.75	*
Total	482	0.62 (300)	0.35 (171)	0.03 (11)	0.79	0.21	*

Pop¹: populations.

HWE²: Hardy-Weinberg equilibrium test, *: significant ($P < 0.05$).

Number within parenthesis is the sample size.

表 18 *POUIF1* 基因第六外顯子區域 g.102T>G 基因型與努比亞山羊族群生長性狀之相關性

Table 18 Associations of individual genotypes of *POUIF1* gene exon 6 g.102T>G with growth traits in Nubian goats

Traits ¹	Genotypes of <i>POUIF1</i> gene			<i>P</i> value
	D1D1 (301) [*]	D1D2 (172)	D2D2 (12)	
BW0 (kg)	4.28 ± 0.17 (68)	4.21 ± 0.51 (9)	-	0.8978
BH0 (cm)	39.74 ± 0.46 (23)	37.63 ± 0.98 (5)	-	0.0575
BL0 (cm)	36.04 ± 0.85 (23)	33.29 ± 1.79 (5)	-	0.1674
BCG0 (cm)	39.09 ± 0.54 (23)	38.11 ± 1.15 (5)	-	0.4359
ADG3 (kg/day)	0.19 ± 0.01 (291)	0.19 ± 0.01 (168)	0.19 ± 0.01 (10)	0.9176
BW3 (kg)	17.76 ± 0.20 (291)	17.62 ± 0.26 (168)	17.62 ± 1.08 (10)	0.9147
BH3 (cm)	55.16 ± 0.34 (291)	53.93 ± 0.44 (168)	52.31 ± 1.83 (10)	0.0760
BL3 (cm)	52.97 ± 0.32 (291)	52.38 ± 0.42 (168)	51.40 ± 1.75 (10)	0.4063
BCG3 (cm)	57.70 ± 0.37 (291)	56.35 ± 0.48 (168)	55.78 ± 1.99 (10)	0.0712
ADG6 (kg/day)	0.13 ± 0.00 (164)	0.12 ± 0.00 (101)	0.14 ± 0.13 (8)	0.5255
BW6 (kg)	29.03 ± 0.36 ^a (164)	27.67 ± 0.46 ^a (101)	30.18 ± 1.64 ^a (8)	0.0428
BH6 (cm)	62.85 ± 0.46 ^a (164)	61.01 ± 0.25 ^b (101)	61.14 ± 2.09 ^{ab} (8)	0.0445
BL6 (cm)	62.99 ± 0.46 ^A (164)	60.32 ± 0.58 ^B (101)	61.31 ± 2.08 ^{AB} (8)	0.0018
BCG6 (cm)	68.64 ± 0.52 ^A (164)	65.11 ± 0.67 ^B (101)	66.78 ± 2.39 ^{AB} (8)	0.0003
ADG9 (kg/day)	0.15 ± 0.01 (115)	0.15 ± 0.01 (68)	0.17 ± 0.01 (5)	0.3909
BW9 (kg)	41.95 ± 0.52 ^A (115)	39.24 ± 0.67 ^B (68)	43.67 ± 2.50 ^{AB} (5)	0.0044
BH9 (cm)	69.07 ± 0.61 ^A (115)	65.87 ± 0.80 ^B (68)	63.80 ± 2.96 ^B (5)	0.0033
BL9 (cm)	70.08 ± 0.63 ^A (115)	66.42 ± 0.82 ^B (68)	69.61 ± 3.04 ^{AB} (5)	0.0024
BCG9 (cm)	77.95 ± 0.64 ^A (115)	73.79 ± 0.84 ^B (68)	78.17 ± 3.09 ^{AB} (5)	0.0005
ADG12 (kg/day)	0.17 ± 0.01 (54)	0.16 ± 0.01 (42)	0.19 ± 0.03 (3)	0.6732
BW12 (kg)	59.08 ± 1.20 (54)	55.52 ± 1.28 (42)	61.66 ± 4.44 (3)	0.0570
BH12 (cm)	74.91 ± 1.13 (54)	71.53 ± 1.20 (42)	72.48 ± 4.17 (3)	0.0801
BL12 (cm)	76.69 ± 1.13 ^A (54)	71.98 ± 1.21 ^B (42)	77.06 ± 4.20 ^{AB} (3)	0.0078
BCG12 (cm)	87.69 ± 1.16 ^A (54)	82.38 ± 1.24 ^B (42)	87.02 ± 4.30 ^{AB} (3)	0.0034

Values are the least square means ± standard error for the trait.

^{*} Numbers within parentheses are the sample sizes.

¹ ADG=average daily gain; BW=body weight; BH=body height; BL=body length; BCG=body circumference girth.

^{a,b} Means within the same row with different superscripts differ significantly ($P < 0.05$).

^{A,B} Means within the same row with different superscripts differ significantly ($P < 0.01$).

肆、討論



試驗一：應用微衛星標識進行臺灣山羊族群遺傳結構分析

(一)、微衛星基因座與遺傳變異

本試驗所使用之 15 組微衛星標識，分別進行三組 multiplex-PCR。三組多引子系統內使用之引子，包括來自山羊、綿羊以及牛隻三個不同物種來源，來自山羊的有 INRA063、SRCRSP08、SRCRSP023 及 SRCRSP001；來自綿羊的有 ILSTS019、HSC、OarFCB20、McM0527、CSR0247、SPS113 及 SPS115；來自牛隻的有 INRA023、BM1258、BOBT24A 及 BM1329 (表 2)。使用跨物種的微衛星標識增幅哺乳動物 DNA 時，以同科不同屬的標識為例，其能被成功增幅的機率約為 80%，且多態性程度約降低至 50% (Barbará *et al.*, 2007)。試驗結果顯示，此 15 組微衛星標識皆能成功增幅諸山羊樣本，平均多態性訊息含量為 0.747，落於高度多態性訊息的範圍 ($PIC > 0.5$) (Agha *et al.*, 2008)，顯示此 15 組微衛星標識在物種間具有高度的轉移性 (transferability)。

本試驗利用微衛星標識探討臺灣山羊族群的遺傳變異，交替基因數與期望交替基因數之平均值分別為 11.87 和 5.09，其中，最高與最低之交替基因數與期望交替基因數出現在 HSC 以及 SPS115，分別為 19 和 3 以及 7.869 和 2.217 (表 8)，而觀察到之基因座 ILSTS019 其交替基因數為 12，然其期望交替基因數僅 3.611，推測為該基因座之交替基因頻率主要集中在 147 bp (18.7%)、149 bp (36.38%) 以及 151 bp (32.4%) 三個交替基因上 (表 A.1 附錄)，此一交替基因頻率分布極度不平均之現象，導致觀測之交替基因數與期望交替基因數落差極大。

存在於臺灣山羊族群的微衛星基因座之特有交替基因中，除了恆春努比亞族群、吉安山羊以及臺灣黑山羊花蓮品系以外，其餘族群皆觀測到其特有之交替基因，以阿爾拜因最多，而 C 場努比亞最少，顯示這些特有交替基因存在於山羊族群在遺傳組成上保有獨特性，說明了不同來源 (包括育成過程之不同、地理隔離及育種策略...等) 之山羊品種或許在不同微衛星基因座上存在特有交替基因 (表 A.1~A.15 附錄)。

期望與觀測異質度之評估值結果，在 15 組微衛星基因座上皆顯示期望之異質度大於觀測之異質度（表 8），表示雜合子的個體普遍低於哈溫平衡所計算之預期，可能有雜合度缺乏的情況。此外，來自綿羊的微衛星標識 SPS115 於所有遺傳介值皆最低，然而仍達到學者提出至少三個交替基因數以上（Barker, 1994）之建議值；HSC 與 CSR0247 同樣源自於綿羊，其遺傳介值卻不若 SPS115 低，且 CSR0247 具有最高之觀測異質度（0.752），與 HSC、SRCRSP001 皆落於高度異質度的範圍（ $H_O > 0.7$ ）（Fonteque *et al.*, 2014），此外，期望異質度之平均值，在所有基因座中，亦落於高度異質度的範圍（ $H_O > 0.5$ ）（Fonteque *et al.*, 2014），顯示本試驗中所使用之 15 組微衛星標識，無論物種來源，皆適用於山羊的族群遺傳分析。

（二）、族群遺傳結構與近親程度結果

利用 Fisher's 精確檢定（Fisher's exact test）檢測之結果，顯示所有山羊族群皆偏離哈溫平衡（ $P < 0.05$ ），表示各族群內可能發生近親交配或受到選拔壓力的影響，本研究試驗結果得到的 F_{IS} 值平均為 0.053，除了 S 場努比亞、吉安山羊以及臺灣黑山羊花蓮品系之 F_{IS} 值為負值以外，其餘族群之 F_{IS} 值皆為正值（表 9），此結果與 Bruno-de-Sousa *et al.*（2011）利用 25 組微衛星標識分析 6 個葡萄牙山羊族群同為正值（0.07），由於 F_{IS} 為族群基因固定指數，可做為族群內個體近親配種程度的指標，因此可知整體山羊族群內雜合子比例少於預期，即有近親交配之現象。其中以臺灣黑山羊恆春品系之 F_{IS} 值最高（0.165），由於臺灣黑山羊目前正於恆春分所進行復育與保育工作，故近親情形較為明顯。

（三）、遺傳距離與分群

由微衛星標識所得到之結果，利用 Nei（1972）之估算式計算出族群之間的遺傳距離，再進一步繪製族群親緣關係樹、STRUCTURE 群集分析圖以及主成分分析圖，其結果相似（圖 17~19）。本試驗之山羊族群可分成四個主要群集，分別為：努比亞群集、阿爾拜因群集、波爾和墾丁山羊一群集以及包含恆春和花蓮之臺灣黑山羊、金門山羊與吉安山羊之群集，而包含恆春和花蓮之臺灣黑山羊、

金門山羊與吉安山羊之群集，可再細分出恆春臺灣黑山羊與金門山羊以及花蓮臺灣黑山羊與吉安山羊兩個亞群集。惟在努比亞群集與包含恆春和花蓮之臺灣黑山羊、金門山羊與吉安山羊群集之再取樣值僅 56%，意指重複取樣 1,000 次的分析中，僅 56% 的機率可將此兩群集分開，有學者提出，當兩族群間之再取樣值小於 70%，表示此分群結果並不理想 (Efron *et al.*, 1996)，且必須提高 STRUCTURE 群集分析圖之 K 值，才可將波爾、墾丁山羊、三個不同來源之努比亞族群區分出來。由此可知，山羊品種間差異可被本試驗之微衛星標識所分辨，而其品種差異或許為特有之交替基因座所導致，然對於非純種或合成品種之山羊族群，其差異或許需更多數量之微衛星標識方可達到較理想之分群結果。

此外，根據 STRUCTURE 群集分析圖之結果，可發現金門山羊與臺灣黑山羊恆春品系以及吉安山羊與臺灣黑山羊花蓮品系彼此間具有相當高程度之遺傳背景來源 (圖 19)。臺灣黑山羊恆春品系以及金門山羊距離最為接近，其次為臺灣黑山羊花蓮品系以及吉安山羊，此結果與王 (1994) 研究顯示，臺灣黑山羊恆春品系、臺灣黑山羊花蓮品系與金門山羊同一群集，且臺灣黑山羊恆春品系與金門山羊同一亞群集相符合，顯示金門山羊於恆春分所進行保育時可能混淆了臺灣黑山羊恆春品系之血脈，而吉安山羊與臺灣黑山羊花蓮品系則混淆了彼此之血胤，此一結果同樣導致了個體親緣關係樹中，部分山羊個體被錯誤分群之情況。

(四)、臺灣山羊個體鑑別率

個體鑑別之分析中，全體山羊族群於此 15 組微衛星標識之綜合個體鑑別率 ($P_{(ID)}$) 為 6.2×10^{-18} (表 12)，而根據 103 年農業統計年報資料顯示，103 年底臺灣地區羊隻總飼養頭數為 16 萬 850 頭，其中肉羊在養頭數為 10 萬 3,079 頭 (行政院農業委員會統計室，2014)，以目前臺灣山羊數量，使用本試驗之 15 組微衛星標識進行遺傳分析時，出現完全相同基因型之機率非常低，因此可適用於臺灣山羊族群的個體鑑別率。而由 Fisher's 精確檢定 (Fisher's exact test) 之檢測結果，顯示臺灣各山羊族群內可能發生近親交配或受到選拔壓力的影響，因此需以近親個體鑑別率做修正，個體鑑別之分析中，全體山羊族群於此 15 組微衛星標識之近親個體鑑別率 ($P_{(ID)sibs}$) 為 4×10^{-7} (表 12)，顯示臺灣山羊族群中，具有血緣關係之山羊數量需達百萬頭以上，才有可能出現兩個體於此

試驗中 15 組微衛星標識皆完全相同基因型的可能。Poole *et al.* (2011) 利用微衛星標識探討英國西南部山區 mountain goat (*Oreamnos americanus*) 個體鑑別率，綜合與近親之個體鑑別率分別為 1.78×10^{-6} 以及 3.15×10^{-3} ，皆低於本試驗所得之結果，又 Waits *et al.* (2001) 提出，近親之個體鑑別率在小於 10^{-3} ，即足以鑑別自然族群之近親個體，因此，本試驗所使用之 15 組微衛星標識，未來應可適用於臺灣山羊族群之個體鑑別。

(五)、應用衛星標識於臺灣黑山羊族群保育之探討

群集分群分析結果顯示，恆春及花蓮之臺灣黑山羊族群各自形成一個群集，彼此間再取樣值高達 99%，此乃可能與先前文獻所探討的品種來源有關。臺灣黑山羊大概可以分為黑色與棕色兩種表型，其中以分布在中央山脈以西之黑色山羊較多，原先來自於中國廣東及福建…等東南沿海各省，而中央山脈以東則分布棕色山羊，爾後至臺灣民間放牧飼養 (Gall, 1983)。之後畜產試驗所在保種計畫後，再由恆春分所 (黃等, 1993) 及花蓮種畜繁殖場 (施等, 1996) 分別自民間收購之，並以閉鎖方式育種，並利用幾近半近親育種 (semiinbreeding) 方式純化 (王, 1994)，因此可能與臺灣黑山羊的起源有關，外表型黑色與棕色來源之臺灣黑山羊，分別保種於恆春分所及花蓮種畜繁殖場。臺灣黑山羊族群與其他外國山羊品種族群不同，可於群集分群之分析中區分出來，其中又以努比亞之遺傳距離最為接近，阿爾拜因之遺傳距離最遠。

試驗二：利用候選基因法進行臺灣努比亞生長性狀及體型測量值相關性分析

(一)、*MSTN* 基因 5 端 UTR 區域基因多態性分析

根據 NCBI GenBank 資料庫的資料，山羊 *MSTN* 基因全長為 6,355 bp (Genbank accession No.: EF591039)，本試驗之 SNP 之命名乃依據山羊 *MSTN* 基因序列上，第 1,256 個核苷酸位置上所發生之缺失，其相對應具有多態性之位點，稱為 g.1256TTTTA/-。文獻顯示，該位點於波爾、波爾雜交羊後代、海門山羊以及馬頭山羊具有多態性 (Li *et al.*, 2008; Zhang *et al.*, 2012)，皆具有三種基因型 AA、AB 及 BB，分別表示其 *MSTN* 基因 g.1256TTTTA/- 帶有 g.1256/-、g.1256TTTTA/- 及 g.1256TTTTA/TTTTA，且皆利用 PCR-RFLP 進行基因型之分析。文獻指出，波爾山羊 *MSTN* 基因 g.1256TTTTA/- 基因型頻率以 AA 基因型最高 (0.49)，AB 基因型次之 (0.43)，BB 基因型最少 (0.08)，且交替基因 A 之頻率 (0.70) 較交替基因 B 之頻率 (0.30) 高；而努比亞山羊 *MSTN* 基因 g.1256TTTTA/- 基因型頻率則以 AB 基因型最高 (0.55)，BB 基因型次之 (0.24)，AA 基因型最少 (0.21)，且交替基因 A 之頻率 (0.49) 與交替基因 B (0.51) 之頻率相當 (Zhang *et al.*, 2012)。另有學者在 135 頭波爾雜交羊後代之基因型檢測中，發現以 BB 基因型最多，AA 基因型最少，且交替基因 A 之頻率 (0.77) 較交替基因 B 之頻率 (0.23) 高 (Li *et al.*, 2008)。對照本試驗中，所檢測之努比亞族群，其 *MSTN* 基因 g.1256TTTTA/- 之基因型頻率與交替基因頻率，以 AB 基因型最高 (0.54)，BB 基因型次之 (0.26)，AA 基因型最少 (0.20)，交替基因 A 之頻率 (0.47) 與交替基因 B (0.53) 之頻率相當，顯示本試驗之 *MSTN* 基因型分布情形與 Zhang *et al.* (2012) 之結果較為相似。

探討基因型與生長性狀相關性分析，在波爾與努比亞山羊之結果不同，在波爾山羊 *MSTN* 基因型為 AB 之個體，其出生體重、體長、離乳體重、十月齡體重顯著較高 ($P < 0.05$) (Zhang *et al.*, 2012)；Li *et al.* (2008) 則在波爾雜交羊後代 *MSTN* 基因型為 AA 和 BB 之個體，普遍於多項體重與體型測量值高於 AB 基因型之個體 ($P < 0.05$)。而在本試驗中，整體生長性狀較佳之個體為 BB 基因型 ($P < 0.05$)，其可能原因或許為 *MSTN* 基因 5 端 UTR 區域基因多態性對山羊生長性狀之影響具品種差異。

本試驗指出，*MSTN* 基因 g.1256TTTTA/TTTTA 交替基因對臺灣努比亞山羊生長表現具有正向影響，有助於提高山羊平均之日增重，因此，在實際應用上，建議選拔帶有 g.1256TTTTA/TTTTA 交替基因的努比亞山羊，可達到提高其生長性能之目標。

本試驗推薦之 *MSTN* 基因 SNP 標識，其變異位點發生在 5 端 UTR 區域，並非在基因編碼區域，同樣的，Clop *et al.* (2006) 以特賽爾綿羊進行了全基因組掃描 (whole-genome scan)，試驗結果發現，*MSTN* 基因 3 端 UTR 區域 (c.2360) 上發生了鹼基 G 互換 (transition) 成 A 的變異，並進一步證實該變異產生許多 mir1、mir206 及 microRNAs (miRNAs) 的目標標的，並在骨骼肌中大量表現，使得 *MSTN* 基因受到轉譯上的抑制，進而促成特賽爾綿羊的肌肉大量增生。前言中提到，非基因編碼區域的基因體區段，例如啟動子區域或 UTR 區域，雖然不會轉譯成蛋白質，但是可轉錄出調控轉譯作用的 mRNAs，進而影響基因的表現量，其中，主要以 5 端 UTR 區域負責進行調控 (Mignone *et al.*, 2002)，又該文獻指出，許多生長發育過程所需的生長因子或轉錄因子，其所編碼之 mRNA 通常含有較長片段的 5 端 UTR 區域。因此認為，本試驗 *MSTN* 基因 SNP 標識對生長性狀產生影響的生理作用，可能與造成特賽爾綿羊肌肉大量增生的原因相似，皆因 UTR 區域發生的單核苷酸突變改變了 *MSTN* 基因的轉譯效率，因而減少了 *MSTN* 基因的表現量，降低對肌肉生長的抑制，導致突變個體的肌肉量增加，然仍需更進一步的試驗來證實此一預測。

(二)、*IGF-1* 基因第四內顯子區域基因多態性分析

根據 NCBI GenBank 資料庫的資料，山羊 *IGF-1* 基因全長為 6,784 bp (Genbank accession No.: D26119)，本試驗之 SNP 之命名乃依據所增幅出的山羊 *IGF-1* 基因 PCR 產物序列上，第 282 個核苷酸位置上所發生之鹼基互換 (G → C)，其相對應具有多態性之位點，稱為 g.282G>C (Genbank accession No.: D26118)。文獻顯示，此位點於中國南江黃山羊 *IGF-1* 基因具有多態性 (Zhang *et al.*, 2008)。利用單鏈構型多態性 (single strand conformation polymorphism, SSCP)，以六組引子分別增幅 *IGF-1* 基因之啟動子區域以及包含五個外顯子之區域，分析中國南江黃山羊 *IGF-1* 基因多態性，結果顯示，僅有一組引子具有

多態性，即 *IGF-1* 基因第四內顯子區域 g.282C>G 之變異位點。該研究顯示，中國南江黃山羊 *IGF-1* 基因第四內顯子區域 g.282C>G 基因型頻率分布，以 GC 基因型最多(0.375)，GG 基因型次之(0.358)，而 CC 基因型最少(0.267)，交替基因 G 之頻率(0.55)較交替基因 C 之頻率(0.45)高，且基因型與交替基因頻率的分布顯著偏離哈溫平衡 ($P < 0.05$)，顯示此位點已在族群中產生了選拔壓力，可能為該族群歷經長期人工授精與選拔高生長速率的結果。進一步探討 *IGF-1* 基因第四內顯子區域基因型與山羊生長性狀之相關性，結果顯示 CC 基因型之個體在體重以及多項體型測量值平均較其他兩個基因型為高 ($P < 0.05$)，其最小平方均值在三個基因型之大小為 $CC > CG > GG$ ，表示帶有交替基因 C 在提高生長表現之效應較交替基因 G 顯著 (Zhang *et al.*, 2008)。

本試驗中，努比亞山羊 *IGF-1* 基因第四內顯子區域 g.282G>C 基因型頻率分布，以 GG 基因型最多(0.48)，CG 基因型次之(0.42)，而 CC 基因型最少(0.01)，進一步將基因型對所蒐集的生長性狀進行相關性分析。結果顯示，*IGF-1* 基因第四內顯子區域 g.282C>G 為 CC 基因型之個體，在許多生長階段之平均體重、體高、體長及胸圍，皆顯著高於 CG 和 GG 基因型之個體 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)，顯示本試驗之努比亞山羊 *IGF-1* 基因型分布情形與 Zhang *et al.*(2008) 之結果相似，於 *IGF-1* 基因第四內顯子區域 g.282G>C 位點，帶有 CC 基因型之個體，具有顯著較高之生長性狀 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)。

IGF-1 基因多態性在山羊之研究甚少，在牛隻生長表現的相關研究中，Ge *et al.* (1997) 在安格斯牛隻 *IGF-1* 基因 5 端側翼區 (flanking region) 發現了一個鹼基的轉換 (T→C) (GenBank accession No.: AF017143)，進一步探討基因型與生長性狀相關性，發現帶有 CC 基因型的個體具有顯著較高日增重 ($P < 0.05$)，並且發現牛隻血清中 *IGF-1* 濃度具有高遺傳率 (0.48) (Ge *et al.*, 2001)；又有其他研究結果顯示，該位點同樣影響了韓牛牛隻的三月齡體重，帶有 TT 和 TC 基因型的個體，具有顯著較高的三月齡體重 ($P < 0.05$) (Chung and Kim, 2005)，與安格斯牛隻不同的是，帶有 CC 基因型的個體具有顯著較低的三月齡體重 ($P < 0.05$)，此一結果可能與品種間差異有關。利用 NCBI Blast 資料庫將山羊 (Genbank accession No.: D11378) 與牛隻 (Genbank accession No.: NM001077828) *IGF-1* 基因進行比對，可發現兩物種間有高達 99% 的序列同源性，顯示 *IGF-1*

基因在物種間具有高度保留，因此，Zhang *et al.* (2008) 在中國南江黃山羊 *IGF-1* 基因啟動子區域尋找與牛隻體重具有顯著性相關之 SNPs，然該 SNPs 位點在中國南江黃山羊中並無多態性，但仍在 *IGF-1* 基因第四內顯子區域 g.282C>G 變異位點發現多態性。因此，未來可繼續分析山羊不同基因型之 *IGF-1* 之濃度，進一步了解 *IGF-1* 基因第四內顯子區域基因型多態性在山羊生長性狀之影響。

考量 *IGF-1* 基因多態性已廣泛應用在牛隻及其他家畜動物分子標識輔助選種，以及 *IGF-1* 基因具有高度保留與高遺傳率的特性，加之本研究中，首度發現 *IGF-1* 基因多態性顯著提升努比亞山羊之生長表現，因此認為，*IGF-1* 基因之多態性為具有相當潛力之候選基因，值得更加深入探討其後續之基因表現量並加以推廣之。

(三)、*POUIF1* 第六外顯子區域基因多態性分析

根據 NCBI GenBank 資料庫的資料，Zhao *et al.* (2004) 利用綿羊 (Genbank accession No.: AJ549207) 與牛隻 (Genbank accession No.: I38351) *POUIF1* 基因序列進行引子設計，增幅出山羊 *POUIF1* 基因第六外顯子區域，本試驗之 SNP 之命名乃依據所增幅出的山羊 *POUIF1* 基因第六外顯子區域的 PCR 產物上，第 102 個核苷酸位置上所發生之鹼基互換 (T→G)，其相對應具有多態性之位點，稱為 g.282T>G (Genbank accession No.: DQ826397)，並導致了胺基酸 (Ser→Ser) 的同義突變 (synonymous mutation)。

同義突變又稱為緘默突變 (silent mutation)，表示該突變不會導致胺基酸序列發生改變。然有文獻指出，同義突變的多態性仍可能導致蛋白質構型 (conformation)、活性以及與受質特异性結合的改變 (Komar, 2007)，並首次提出發生同義突變的 SNP (silent SNP) 仍應受到重視; Kimchi-Sarfaty *et al.* (2007) 也證實同義突變的 SNP 可能影響蛋白質折疊，進而影響蛋白質的功能。本試驗中山羊 *POUIF1* 基因 g.102T>G 同為同義突變的 SNP，然而其如何影響試驗中山羊生長性狀的表現，仍有待進一步的試驗進行探究。

本試驗中，利用 TaqMan SNP Genotyping Assay 分析努比亞山羊 *POUIF1* 基因 g.102T>G 多態性，結果顯示努比亞山羊 *POUIF1* 基因 g.102T>G 具有

多態性，以 D1D1 基因型最高 (0.62)，D1D2 基因型次之 (0.35)，D2D2 基因型最少 (0.03)，交替基因 D1 之頻率 (0.79) 與交替基因 D1 (0.21) 之頻率相當，其中，D2D2 基因型之數量極少，在所檢測之 497 頭努比亞僅出現 11 頭，且此一分布顯著偏離哈溫平衡 ($P < 0.05$)，根據此基因型分布情況推測，此位點的選拔已達相當高的程度，而使基因型呈現偏分布之現象。此外，將 *POUIF1* 基因 g.102T>G 基因多態性與努比亞山羊生長性狀進行相關性分析，顯示基因型為 D1D1 之個體在多項體重以及體型測量值顯著較高 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)，加之 D1D1 之個體數量在所檢測之各個努比亞族群皆最高，因此建議可將帶有 D2 交替基因之個體優先淘汰之，以達到快速篩選優良體型與降低成本之選拔效果。

Lan *et al.* (2007a) 利用 PCR-RFLP 分析來自中國不同地域山羊 *POUIF1* 基因 g.102T>G 基因型頻率，在所檢測之 801 頭山羊皆沒有發現帶有 D2D2 基因型之個體，基因型頻率分布以 D1D1 基因型最高 (0.66)，D1D2 基因型次之 (0.34)，且其相關性分析同樣顯示基因型為 D1D1 之個體具有顯著較優良之生長表現 ($P < 0.05$)，推測此位點之高度選拔情況不僅出現在臺灣努比亞山羊，在中國當地山羊品種也有類似之現象，顯示此位點的確有潛力成為影響山羊生長表現之候選基因。

伍、結論



臺灣肉羊產業持續蓬勃發展，為提升肉羊經濟價值以及維護種源，本研究利用微衛星標識分析臺灣山羊族群遺傳結構，以及候選基因對山羊生長性狀之相關性分析，結果可歸納出下列幾點：

- 一、利用 15 組微衛星標識對臺灣山羊族群進行分析，結果顯示，臺灣本地山羊族群中皆具有多態性，且所有微衛星標識在所檢測的山羊族群中皆偏離哈溫平衡，顯示族群內可能有雜合度缺乏或過多的情況，亦或有近親或選拔之壓力存在。
- 二、本研究利用微衛星標識探討山羊族群之間的分化程度，結果顯示三個不同來源之努比亞族群間分化程度最低，而阿爾拜因與金門山羊族群間分化程度最高。恆春以及花蓮品系之臺灣黑山羊族群則分別與金門山羊以及吉安山羊族群之間分化程度最低。
- 三、經由群集分析，三個不同來源之努比亞族群形成一群集，恆春以及花蓮品系之臺灣黑山羊族群則分別與金門山羊以及吉安山羊族群形成一群集，墾丁山羊與波爾山羊一群集，與阿爾拜因一獨立群集區分開來，此結果符合品種差異與血統來源，因此本研究之 15 個微衛星標識可用於探討臺灣本地山羊間之族群遺傳結構。
- 四、利用單核苷酸多態性標識檢測臺灣努比亞山羊族群基因多態性，及對生長性狀進行相關性分析，結果顯示，四個單核苷酸多態性標識在所檢測之努比亞族群具有多態性，且皆顯著影響山羊體重與各體型測量值等生長性狀 ($P < 0.05$)。

綜合上述，根據族群遺傳分析介值之數據，可了解臺灣山羊族群間之遺傳結構，評估各族群間之歧異度，並提供臺灣黑山羊種源之保存參考，同時，本試驗推薦三個單核苷酸多態性標識，若將之應用於種畜群之分子標識輔助選拔，必能提高生長表現並且降低育種成本，因此，藉由分子標識對山羊族群之研究，能達到山羊育種及保種之目的，以增進臺灣羊隻的生長表現。


參考文獻



- 戈福江、陳立治。1952。臺灣畜牧獸醫文獻集，第 9 頁。臺灣研究叢刊第十七種「臺灣之畜產資源」，臺灣。
- 王佩華。1994。臺灣山羊血型之研究。國立臺灣大學畜產學研究所。碩士論文。臺北市。
- 白火城。2007。羊學，第 60-72 頁。宏大出版社，臺南市。
- 寺田清二。1923。山羊の調査。臺灣農事報。
- 行政院農業委員會畜產試驗所。2014a。吉安山羊申請命名審查資料。行政院農業委員會。臺北市。
- 行政院農業委員會畜產試驗所。2014b。墾丁山羊申請命名審查資料。行政院農業委員會。臺北市。
- 行政院農業委員會統計室。2014。農業統計年報。行政院農業委員會，臺北市。
- 吳明哲、黃鈺嘉、李世昌。2005。山羊育種與保種。羊協一家親 37：26-41。
- 施義章、黃耀興、劉立乾。1996。本土性家畜品種特性之調查-臺灣山羊。畜產研究 29：347-351。
- 苗雨蒔。2011。利用候選基因法及微衛星標幟法進行努比亞和臺灣黑山羊生長性狀及體型測量值之分子標幟開發。國立臺灣大學動物科學技術研究所。碩士論文。臺北市。
- 高源豐。2002。臺灣肉羊產業輔導策略之我見。羊協一家親 25：18-27。
- 孫玉玫。2012。期待乳、肉量價平穩，疫情不再。畜產報導月刊，第 140 期，中央畜產會。
- 黃政齊、謝瑞春、張宏仁、蘇安國、溫上湘。1993。努比亞與本地山羊生產性能之研究。畜產研究 26：175-187。
- 葉家僊、黃耀廷。2009。單核苷酸多型性之簡介與研究回顧。生物醫學 2：135-146。
- 溫上湘、蘇安國、謝瑞春、楊深玄、吳錦賢、張宏仁。1997。肉用山羊改良:利用努比亞山羊與本地黑山羊雜交級進。畜產研究 30：231-236。

- 賴永裕、李世昌、黃鈺嘉、吳明哲。2004。畜產生物品種資源，第 11-17 頁。
行政院農委會畜產試驗所，臺南縣。
- 謝瑞春。1998。肉羊之雜交繁殖與選育。臺灣省畜產試驗所四十週年所慶家畜禽
遺傳育種研討會論文集，第 101-110 頁。臺灣省畜產試驗所專輯第 57 號，
臺南縣。
- 蘇安國。2003。臺灣養羊產業趨勢之分析。羊協一家親 26：10-13。
- 蘇楹媛。2007。發展基因相關研究之整合系統。國立陽明大學生物資訊研究所。
碩士論文。臺北市。
- 蘇安國、楊深玄、謝瑞春、成游貴、黃政齊。2010。黑色波爾雜交山羊之選育。
畜產研究 43(3)：195-206。
- Agha, S. H., F. Pilla, S. Galal, I. Shaat, M. D'andrea, S. Reale, A. Z. A. Abdelsalam,
and M. H. Li. 2008. Genetic diversity in Egyptian and Italian goat breeds
measured with microsatellite polymorphism. *J. Anim. Breed. Genet.* 125:
194-200.
- An. X. P., J. G. Wang, J. X. Hou, H. B. Zhao, L. Bai, G. Li, L. X. Wang, X. Q. Liu,
W. P. Xiao, Y. X. Song, and B.Y. Cao. 2011. Polymorphism identification in the
goat *MSTN* gene and association analysis with growth traits. *J. Anim. Sci.* 56:
529-535.
- Baker, J., J.-P. Liu, E. J. Robertson, and A. Efstratiadis. 1993. Role of insulin-like
growth factors in embryonic and postnatal growth. *Cell* 75: 73-82.
- Barbará, T., C. Palma-Silva, G. M. Paggi, F. Bered, M. F. Fay, and C. Lexer. 2007.
Crossspecies transfer of nuclear microsatellite markers: potential and limitations.
Mol. Ecol. 16: 3759-3767.
- Barker, J. S. F. 1994. A global protocol for determining genetic distances among
domestic livestock breeds. *Proc. 5th World Cong. Genet. Appl. Livest. Prod.* 21:
501-508.
- Barry, G. H. 2007. *Phylogenetic tree made easy: a how-to manual*. 3rd. ISBN
978-0-87893-310-5. Sinauer Associates Inc., U. S.
- Boman, I. A., G. Klemetsdal, T. Blichfeldt, O. Nafstad, and D. I. Våge. 2009. A
frameshift mutation in the coding region of the *myostatin* gene (*MSTN*) affects
carcass conformation and fatness in Norwegian White Sheep (*Ovis aries*). *Anim.*
Genet. 40: 418-422.

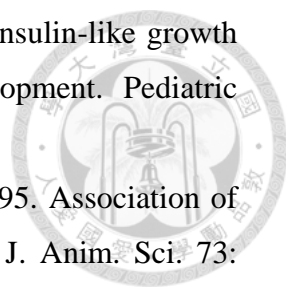
- Botstein, D., R. L. White, M. Skolnick, and R. W. Davis. 1980. Construction of a genetic linkage map in man using restriction fragment length polymorphisms. *Am. J. Hum. Genet.* 32: 314-331.
- Brookes, A. J. 1999. The essence of SNPs. *Gene* 234: 177-186.
- Bruno-de-Sousa, C., A. M. Martinez, C. Ginja, F. Santos-Silva, M. I. Carolino, J. V. Delgado, and L. T. Gama. 2011. Genetic diversity and population structure in Portuguese goat breeds. *Livest. Sci.* 135: 131-139.
- Casas-Carrillo, E., A. Prill-Adams, S. G. Price, A. C. Clutter, and B. W. Kirkpatrick. 1997. Relationship of growth hormone and insulin-like growth factor-1 genotypes with growth and carcass traits in swine. *Anim. Genet.* 28: 88-93.
- Chambers, G. K., and E. S. MacAvoy. 2000. Microsatellites: consensus and controversy. *Comparative Biochem. Physiol. (Part B)* 126: 455-476.
- Chung, E. R., and W. T. Kim. 2005. Association of SNP marker in *IGF-I* and *MYF5* candidate genes with growth traits in Korean cattle. *J. Anim. Sci.* 18: 1061-1065.
- Clop, A., F. Marcq, H. Takeda, D. Pirottin, X. Tordoir, B. Bibé, J. Bouix, F. Caiment, J. M. Elsen, F. Eychenne, C. Larzul, E. Laville, F. Meish, D. Milenkovic, J. Tobin, C. Charlier, and M. Georges. 2006. A mutation creating a potential illegitimate microRNA target site in the myostatin gene affects muscularity in sheep. *Nat. Genet.* 38: 813-818.
- Collins, A. C., I. C. Martin, and B. W. Kirkpatrick. 1993. Growth quantitative trait loci (QTL) on mouse chromosome 10 in a Quackenbush-Swiss × C57BL/6J backcross. *Mamm. Genome* 4: 454-458.
- Efron, B., E. Halloran, and S. Holmes. 1996. Bootstrap confidence levels for phylogenetic trees. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 93: 13429-13429.
- Efron, B. 1979. Bootstrap methods: another look at the jackknife. *Ann. Statist.* 7: 1-26.
- 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.
- Felsenstein, J. 2002. Phylogeny Inference Package (PHYLIP). Department of genomes sciences and department of Genetics, Univ. of Washington, Seattle, WA, USA.

- 
- Fonteque, G. V., J. Battilana, E. Paludo, and C. A. D. V. Lima-Rosa. 2014. Genetic polymorphism of fifteen microsatellite loci in Brazilian (blue-egg Caipira) chickens. *Pesquisa Vet. Brasil.* 34: 98-102.
- Gall, C. 1983. Goat production. pp. 80-126. Academic Press. London.
- Gall, C. 1996. Goat breeds of the world. Margraf, Weikersheim, Germany.
- Ge, W., M. E. Davis, and H. C. Hines. 1997. Two SSCP alleles identified in the 5'-flanking region of bovine *IGF1* gene. *Anim. Genet.* 28: 155-156.
- Ge, W., M. E. Davis, H. C. Hines, K. M. Irvin, and R. C. M. Simmen. 2001. Association of a genetic marker with blood serum insulinlike growth factor-I concentration and growth traits in Angus cattle. *J. Anim. Sci.* 79: 1757-1762.
- Gemayel, R., M. D. Vincés, M. Legendre, and K. J. Verstrepen. 2010. Variable tandem repeats accelerate evolution of coding and regulatory sequences. *Annu. Rev. Genet.* 44: 445-477.
- Glowatzki-Mullis, M., J. Muntwyler, and C. Gaillard. 2007. Cost-effective parentage verification with 17-plex for goats and 19-plex for sheep. *Anim. Genet.* 38: 86-88.
- Guo, S. W., and E. A. Thompson. 1992. Performing the exact test of Hardy-Weinberg proportion for multiple alleles. *Biometrics* 48: 361-372.
- Ibeagha-Awemu, E., P. Kgwatalala, and X. Zhao. 2008. A critical analysis of production-associated DNA polymorphisms in the gene of cattle, goat, sheep, and pig. *Mamm. Genome* 19: 591-617.
- ISAG conference. 2006. Applied Genetics in Sheep and Goats Workshop. Retrieved from: http://www.isag.us/Docs/ISAG2006_AppliedGeneticsSheepGoats.pdf
- Jeffreys, A. J., V. Wilson, and S. L. Thein. 1985. Hypervariable 'minisatellite' regions in human DNA. *Nature* 314:67-73.
- Kim, K. S., J. S. Yeo, J. W. Kim, and C. B. Choi. 2002. Genetic diversity of goats from Korea and China using microsatellite analysis. *J. Anim. Sci.* 15: 461-465.
- Kimchi-Sarfaty, C., J. M. Oh, I.-W. Kim, Z. E. Sauna, A. M. Calcagno, S. V. Ambudkar, and M. M. Gottesman. 2007. A "silent" polymorphism in the *MDRI* gene changes substrate specificity. *Science* 315: 525-528.
- Kimura, M., and J. F. Crow. 1964. The number of alleles that can be maintained in a finite population. *Genetics* 49: 725-738.
- Komar, A. A. 2007. Silent SNPs: impact on gene function and phenotype. *Pharmacogenomics* 8: 1075-1080.

- Lan, X. Y., C. Y. Pan, H. Chen, C. Z. Lei, L. S. Hua, X. B. Yang, G. Y. Qiu, R. F. Zhang, and Y. Z. Lun. 2007a. *DdeI* polymorphism in coding region of goat *POUIF1* gene and its association with production traits. *J. Anim. Sci.* 20: 1342-1348.
- Lan, X. Y., C. Y. Pan, H. Chen, and C. Z. Lei. 2007b. A *DdeI* PCR-RFLP detecting genetic variation of goat *POUIF1* gene. *Can. J. Anim. Sci.* 87: 13-14.
- Lan, X. Y., C. Y. Pan, H. Chen, C. Z. Lei, and S. Q. Liu. 2007c. The *HaeIII* and *XspI* PCR-RFLPs detecting polymorphisms at the goat *IGFBP-3* locus. *Small Rumin. Res.* 73: 283-286.
- Lan, X. Y., C. Y. Pan, H. Chen, C. L. Zhang, J. Y. Li, M. Zhao, C. Z. Lei, A. L. Zhang, and L. Zhang. 2007d. An *AluI* PCR-RFLP detecting a silent allele at the goat *POUIF1* locus and its association with production traits. *Small Rumin. Res.* 73: 8-12.
- Lan, X. Y., C. Y. Pan, J. Y. Li, Y. W. Guo, S. Hu, J. Wang, Y. B. Liu, S. R. Hu, C. Z. Lei, and H. Chen. 2009a. Twelve novel SNPs of the goat *POUIF1* gene and their associations with cashmere traits. *Small Rumin. Res.* 85: 116-121.
- Lan, X. Y., J. H. Shu, H. Chen, C. Y. Pan, C. Z. Lei, X. Wang, S. Q. Liu, and Y. B. Zhang. 2009b. A *PstI* polymorphism at 3'UTR of goat *POUIF1* gene and its effect on cashmere production. *Mol. Biol. Rep.* 36: 1371-1374.
- Larkin, M. A., G. Blackshields, N. P. Brown, R. Chenna, P. A. McGettigan, H. McWilliam, F. Valentin, I. M. Wallace, A. Wilm, R. Lopez, J. D. Thompson, T. J. Gibson, and D. G. Higgins. 2007. Clustal W and Clustal X version 2.0. *Bioinformatics* 23: 2947-2948.
- Levinson, G., and G. A. Gutman. 1987. Slipped-strand mispairing: A major mechanism for DNA sequence evolution. *Mol. Biol. Evol.* 4: 203-221.
- Li, S., E. B. Crenshaw, E. J. Rawson, D. M. Simmons, L. W. Swanson, and M. G. Rosenfeld. 1990. Dwarf locus mutants lacking three pituitary cell types result from mutations in the POU-domain gene *pit-1*. *Nature* 347: 528-533.
- Li, X. L., Z. L. Wu, Y. F. Gong, Y. Q. Liu, Z. Z. Liu, X. J. Wang, T. R. Xin, and Q. Ji. 2006. Single nucleotide polymorphism identification in the caprine myostatin gene. *J. Anim. Breed. Genet.* 123: 141-144.
- Li, X., Z. Liu, R. Zhou, G. Zheng, Y. Gong, and L. Li. 2008. Deletion of TTTTA in 5'UTR of goat *MSTN* gene and its distribution in different population groups and genetic effect on body weight at different ages. *Front. Agric.* 2: 103-109.

- Marshall, T. C., J. Slate, L. E. Kruuk, and J. M. Pemberton. 1998. Statistical confidence for likelihood-based paternity inference in natural populations. *Mol. Ecol.* 8: 893-894.
- McPherron, A. C., and S. J. Lee. 1997. Double muscling in cattle due to mutations in the *myostatin* gene. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 94: 12457-12461.
- McPherron, A. C., A. M. Lawler, and S. J. Lee. 1997. Regulation of skeletal muscle mass in mice by a new TGF-beta superfamily members. *Nature* 387: 83-90.
- Mignone, F., C. Gissi, S. Liuni, and G. Pesole. 2002. Untranslated regions of mRNAs. *Genome Biol.* 3: reviews 0004.1-0004.10.
- Mikawa, S., G. Yoshikawa, H. Aoki, Y. Yamano, H. Sakai, and T. Komano. 1995. Dynamic aspects in the expression of the goat insulin-like growth factor-I (IGF-I) gene: diversity in transcription and post-transcription. *Biosci. Biotech. Bioch.* 59: 87-92.
- Miranda, M. E., Y. Amigues, M. Y. Boscher, F. Ménessier, O. Cortés, and S. Dunner. 2002. Simultaneous genotyping to detect myostatin gene polymorphism in beef cattle breeds. *J. Anim. Breed. Genet.* 119: 361-366.
- Nei, M. 1972. Genetic distance between populations. *Am. Nat.* 106: 283-292.
- Nei, M. 1987. *Molecular evolutionary genetics*. pp. 87-88. Columbia Univ. Press, NY, USA.
- Park, S. D. E. 2001. Trypanotolerance in West African cattle and the population genetic effects of selection. Ph. D. Thesis. Trinity College, University of Dublin, Ireland.
- Peakall, R., and P. E. Smouse. 2012. GeneA1Ex ver6.5: genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research – an update. *Bioinformatics* 28: 2537-2539.
- Poole, K. G., D. M. Reynolds, M. Darryl, G. Mowat, and P. Paetkau. 2011. Estimating mountain goat abundance using DNA from fecal pellets. *J. Wildl. Manag.* 75: 1527-1534.
- Pritchard, J. K., M. Stephens, and P. Donnelly. 2000. Inference of population structure using multilocus genotype data. *Genetics* 155: 945-959.
- Renaville, R., N. Gengler, E. Vrech, A. Prandi, S. Massart, C. Corradini, C. Bertozzi, F. Mortiaux, A. Burny, and D. Portetelle. 1997. PIT-1 gene polymorphism, milk

- yield, and conformation traits for Italian Holstein-Friesian bulls. *J. Dairy Sci.* 80: 3431-3438.
- Rosenberg, N. A., T. Burke, K. Elo, M. W. Feldman, P. J. Freidlin, M. A. M. Groenen, J. Hillel, A. Mäki-Tanila, M. Tixier-Boichard, A. Vignal, K. Wimmers, and S. Weigend. 2001. Empirical evaluation of genetic clustering methods using multilocus genotypes from 20 chicken breeds. *Genetics* 159: 699-713.
- Saitbekova, N., C. Gaillard, G. Obexer-Ruff, and G. Dolf. 1999. Genetic diversity in Swiss goat breeds based on microsatellite analysis. *Anim. Genet.* 30: 36-41.
- Saitou, N., and M. Nei. 1987. The Neighbor-joining method: a method for reconstructing phylogenetics trees. *Mol. Biol. Evol.* 4: 406-425.
- SAS Institute Inc. 2013. Base SAS® 9.4 Procedures Guide: Statistical Procedures. Cary, NC: SAS Institute Inc.
- Semagn, K., Å. Bjørnstad, and M. N. Ndjiondjop. 2006. An overview of molecular marker methods for plants. *Afr. J. Biotechnol.* 5: 2540-2568.
- Schibler, L., D. Vaiman, A. Oustry, C. Giraud-Delville, and E. P. Crihiu. 1998. Comparative gene mapping: a fine-scale survey of chromosome rearrangements between ruminants and humans. *Genome Res.* 8: 901-915.
- Slatkin, M. 1985. Gene flow in natural populations. *Annu. Rev. Ecol. Syst.* 16: 393-430.
- Tay, G. K., S. P. A. Iaschi, R. H. S. Bellinge, F. N. Chong, and J. Hui. 2004. The development of sequence-based-typing of *myostatin* (*GDF-8*) to identify the double muscling phenotype in the goat. *Small Rumin. Res.* 52: 1-12.
- Vignal, A., D. Milan, M. SanCristobal, and A. Eggen. 2002. A review on SNP and other types of molecular markers and their use in animal genetics. *Genet. Sel. Evol.* 34: 275-305.
- Waits, P. L., L. Gordon, and T. Pierre. 2001. Estimating the probability of identity among genotypes in natural populations: cautions and guidelines. *Mol. Ecol.* 10: 249-256.
- Wright, S. 1965. The interpretation of population structure by F-Statistics with special regard to systems of mating. *Evolution* 19: 395-420.
- Wright, S. 1978. *Evolution and the Genetics of Populations, Vol. 4, Variability within and among Natural Populations.* pp. 53-56. Univ. Chicago Press, Chicago, USA.

- 
- Yakar, S., J. L. Liu, and D. LeRoith. 2000. The growth hormone/insulin-like growth factor-I system: implications for organ growth and development. *Pediatric Nephrol.* 14: 544-549.
- Yu, T.-P., C. K. Tuggle, C. B. Schmitz, and M. F. Rothschild. 1995. Association of PIT1 polymorphisms with growth and carcass traits in pigs. *J. Anim. Sci.* 73: 1282-1288.
- Yu, Z., Z. Li, N. Jolicoeur, L. Zhang, Y. Fortin, E. Wang, M. Wu, and S. H. Shen. 2007. Aberrant allele frequencies of the SNPs located in microRNA target sites are potentially associated with human cancers. *Nucleic Acids Res.* 35: 4535-4541.
- Yuan, H. Y., J. J. Chiou, and W. H. Tseng. 2006. FASTSNP: an always up-to-date and extendable service for SNP function analysis and prioritization. *Nucleic Acids Res.* 3: 635-641.
- Zhang, C., W. Zhang, H. Luo, W. Yue, M. Gao, and Z. Jia. 2008. A new single nucleotide polymorphism in the IGF-I gene and its association with growth traits in the Nanjiang huang goat. *J. Anim. Sci.* 21: 1073-1079.
- Zhang, C., Y. Liu, D. Xu, Q. Wen, X. Li, W. Zhang, and L. Yang. 2012. Polymorphisms of myostatin gene (*MSTN*) in four goat breeds and their effects on Boer goat growth performance. *Mol. Biol. Rep.* 39: 3081-3087
- Zhao, Q., M. E. Davis, and H. C. Hines. 2004. Associations of polymorphisms in the Pit-1 gene with growth and carcass traits in Angus beef cattle. *J. Anim. Sci.* 82: 2229-2233.
- Zhou, H., A. D. Mitchell, J. P. McMurtry, C. M. Ashwell, and S. J. Lamont. 2005. Insulin-like growth factor-I gene polymorphism associations with growth, body composition, skeleton integrity, and metabolic traits in chickens. *Poult. Sci.* 84: 212-219.
- Zhou, K., A. Aertsen, and C. W. Michiels. 2014. The role of variable DNA tandem repeats in bacterial adaptation. *F. E. M. S. Microbiol. Rev.* 38: 119-141.

附錄



表 A. 1 ILSTS019 基因座於 10 個山羊族群之交替基因頻率

Table A. 1 Allele frequencies for all populations by ILSTS019 locus

Allele \ Pop	NUC	NUS	KG	TBHC	NUHC	BO	AL	KM	JA	TBHU
141		0.47				0.51				
142	7.92	2.34								
143		2.34	0.46		7.14	1.02				3.45
145						3.06				
147	31.68	56.54	0.46	1.05	53.57	14.29	1.88		14.29	1.72
149	30.20	8.88	51.39	32.63	23.21	58.16	55.63	7.89	7.14	34.48
151	22.77	12.62	43.06	64.74	14.29	21.94	6.25	89.47	78.57	58.62
153		10.28	4.63	1.58			29.38	2.63		1.72
155	2.97	2.80			1.79	1.02	6.88			
156	4.46									
177		1.87								
179		1.87								

Pop: population - NU-C: NU from C farm, NU-S: NU from S farm, KG: Ken Ting goat, TB-HC: TB from Hengchun, NU-HC: NU from Hengchun, BO: Boer, AL: Alpine, KM: Kinmen goats, JA: Ji-An goat, TB-HU: TB from Hualien.

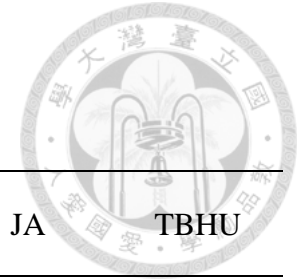


表 A. 2 INRA063 基因座於 10 個山羊族群之交替基因頻率

Table A. 2 Allele frequencies for all populations by INRA063 locus

Allele \ Pop	NUC	NUS	KG	TBHC	NUHC	BO	AL	KM	JA	TBHU
171						1.02				
173			0.46	1.58		4.59	0.63			
175	0.50	7.48	9.26	71.58	7.14	11.22	26.25	47.37	82.14	59.38
177	29.70	32.71	23.15	17.89	28.57	38.27	40.63	39.47	14.29	29.69
179	19.80	44.86	42.13	1.05	26.79	42.86	22.50		3.57	
180	0.50									
181	49.50	13.08	25.00	7.89	37.50	2.04	10.00	13.16		10.94
273		0.47								
279		1.40								

Pop: population - NU-C: NU from C farm, NU-S: NU from S farm, KG: Ken Ting goat, TB-HC: TB from Hengchun, NU-HC: NU from Hengchun, BO: Boer, AL: Alpine, KM: Kinmen goats, JA: Ji-An goat, TB-HU: TB from Hualien.

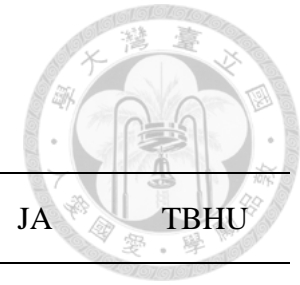


表 A. 3 SRCRSP08 基因座於 10 個山羊族群之交替基因頻率

Table A. 3 Allele frequencies for all populations by SRCRSP08 locus

Allele \ Pop	NUC	NUS	KG	TBHC	NUHC	BO	AL	KM	JA	TBHU
219		0.47	0.46							
227			21.76	3.68	1.79		6.88	13.16		
229	21.78	19.16	23.15	0.53	3.57	6.12	5.00		21.43	3.13
231	18.81	35.98	3.70	34.21	16.07	8.67	8.13	23.68	35.71	35.94
233	0.50						0.63			
235							0.63			
237	15.35	16.36	6.48	61.58	46.43	12.24	1.25	63.16	17.86	31.25
239		0.47	36.57			16.84	7.50		7.14	9.38
243			0.46			0.51				
245	0.50					1.53	11.88			
247	43.07	27.57	7.41		32.14	53.06	57.50		17.86	20.31
249						1.02				
289							0.63			

Pop: population - NU-C: NU from C farm, NU-S: NU from S farm, KG: Ken Ting goat, TB-HC: TB from Hengchun, NU-HC: NU from Hengchun, BO: Boer, AL: Alpine, KM: Kinmen goats, JA: Ji-An goat, TB-HU: TB from Hualien.

表 A. 4 HSC 基因座於 10 個山羊族群之交替基因頻率

Table A. 4 Allele frequencies for all populations by HSC locus



Allele	Pop	NUC	NUS	KG	TBHC	NUHC	BO	AL	KM	JA	TBHU
179								0.63			
267				14.49	0.53		9.69				
269				5.61			1.02				
270									2.63		
271		5.94	1.87	0.93	62.11	28.57	2.55	7.50	50.00	46.43	12.50
273			5.61	3.74	16.32		18.88	1.25	18.42	25.00	10.94
275		0.99	8.88	1.40	14.21	1.79	1.02	0.63	28.95		1.56
277							0.51			21.43	7.81
279		38.12	21.03	0.93		48.21	0.51	3.75			
281			0.93	3.27	1.58		6.12	4.38			
283		30.69	31.78	21.96	3.16	3.57	11.73	23.75		7.14	54.69
285							1.02	0.63			
287		20.79	28.50	4.21		17.86	4.08	50.63			12.50
289			0.93	10.28			21.94	3.13			
291			0.47	0.47			2.04	3.75			
293				0.47							
295				0.93							
301		3.47		31.31	2.11		18.37				
303							0.51				

Pop: population - NU-C: NU from C farm, NU-S: NU from S farm, KG: Ken Ting goat, TB-HC: TB from Hengchun, NU-HC: NU from Hengchun, BO: Boer, AL: Alpine, KM: Kinmen goats, JA: Ji-An goat, TB-HU: TB from Hualien.

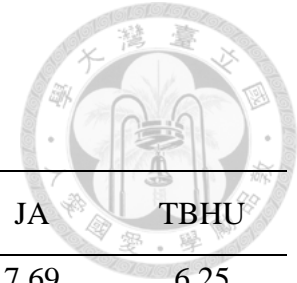


表 A. 5 SRCRSP023 基因座於 10 個山羊族群之交替基因頻率

Table A. 5 Allele frequencies for all populations by SRCRSP023 locus

Allele \ Pop	NUC	NUS	KG	TBHC	NUHC	BO	AL	KM	JA	TBHU
83		0.47	15.42	10.00			25.00	13.16	7.69	6.25
85	15.84	20.09	9.35	85.26	14.29	10.20	6.88	76.32	26.92	34.38
87		0.47	2.34			1.53	0.63		3.85	4.69
89	6.93	0.93			1.79					
91							5.00			
93			1.40							
95			6.07		3.57	2.55	3.75			3.13
97	70.79	66.36	2.80	1.58	80.36	24.49	1.25		7.69	26.56
99	3.47	10.75					3.13	5.26		
101		0.47	42.06			1.02	5.63	5.26		
103			17.76			60.20	1.25		7.69	6.25
105			0.93	3.16			31.25		46.15	18.75
107		0.47	1.87							
109	1.98						14.38			
110	0.50									
111	0.50						1.88			

Pop: population - NU-C: NU from C farm, NU-S: NU from S farm, KG: Ken Ting goat, TB-HC: TB from Hengchun, NU-HC: NU from Hengchun, BO: Boer, AL: Alpine, KM: Kinmen goats, JA: Ji-An goat, TB-HU: TB from Hualien.



表 A. 6 OarFCB20 基因座於 10 個山羊族群之交替基因頻率

Table A. 6 Allele frequencies for all populations by OarFCB20 locus

Allele \ Pop	NUC	NUS	KG	TBHC	NUHC	BO	AL	KM	JA	TBHU
93				1.05						
95			0.46	39.47	3.57		1.30	44.74		
97	24.26	27.57	21.30	40.53	28.57	2.58	1.95	47.37	39.29	42.19
99	75.74	71.03	49.54	17.89	67.86	3.61	58.44	7.89	57.14	32.81
101			9.72	1.05		33.51	37.01			
103							0.65			
105		1.40					0.65			7.81
107						0.52			3.57	17.19
125			18.98			59.79				

Pop: population - NU-C: NU from C farm, NU-S: NU from S farm, KG: Ken Ting goat, TB-HC: TB from Hengchun, NU-HC: NU from Hengchun, BO: Boer, AL: Alpine, KM: Kinmen goats, JA: Ji-An goat, TB-HU: TB from Hualien.

表 A. 7 McM0527 基因座於 10 個山羊族群之交替基因頻率

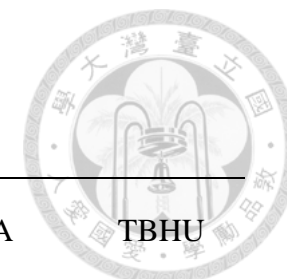


Table A. 7 Allele frequencies for all populations by McM0527 locus

Allele \ Pop	NUC	NUS	KG	TBHC	NUHC	BO	AL	KM	JA	TBHU
153				0.53				2.63		
155	22.77	8.41	5.09	18.62	12.50	5.15	46.79	15.79		10.94
157	14.85	7.01	82.41	75.53	3.57	43.30		73.68	50.00	32.81
159							1.28			
163							1.28			
165	8.91	0.47	6.02	0.53		48.45	1.28			
167		0.47			1.79		4.49		3.57	
169		0.47	3.24				34.62		21.43	6.25
171	53.47	83.18	3.24	4.79	82.14	2.58	9.62	7.89	25.00	50.00
173						0.52	0.64			

Pop: population - NU-C: NU from C farm, NU-S: NU from S farm, KG: Ken Ting goat, TB-HC: TB from Hengchun, NU-HC: NU from Hengchun, BO: Boer, AL: Alpine, KM: Kinmen goats, JA: Ji-An goat, TB-HU: TB from Hualien.

表 A. 8 INRA023 基因座於 10 個山羊族群之交替基因頻率



Table A. 8 Allele frequencies for all populations by INRA023 locus

Allele \ Pop	NUC	NUS	KG	TBHC	NUHC	BO	AL	KM	JA	TBHU
193				0.53						
195	8.91	14.15	1.39	45.26	19.64		5.70	21.05	42.31	30.65
197	12.87	13.21	1.39	43.68	37.50		13.29	63.16	38.46	58.06
199	48.51	28.30		1.58	19.64		3.80		11.54	6.45
201	3.96	3.77			8.93					
203		0.94	1.85				0.63	7.89		
204			0.93							
205		1.42	81.94	1.05		91.84				
207	0.50							5.26		
209	5.94	11.32	6.94	1.58	1.79	2.55	8.23	2.63	7.69	3.23
211	18.32	19.34	5.56	5.79	12.50	5.61	56.33			1.61
213				0.53			12.03			
215	0.99	7.55								

Pop: population - NU-C: NU from C farm, NU-S: NU from S farm, KG: Ken Ting goat, TB-HC: TB from Hengchun, NU-HC: NU from Hengchun, BO: Boer, AL: Alpine, KM: Kinmen goats, JA: Ji-An goat, TB-HU: TB from Hualien.



表 A. 9 CSRD0247 基因座於 10 個山羊族群之交替基因頻率

Table A. 9 Allele frequencies for all populations by CSRD0247 locus

Allele \ Pop	NUC	NUS	KG	TBHC	NUHC	BO	AL	KM	JA	TBHU
219		0.47				1.04				
221	0.99					0.52				
227			0.46							
231	10.89	10.75			8.93		28.48			
233	10.89	11.21	18.98	0.54	12.50	25.52	43.67		10.71	26.56
235	10.89	21.96	13.89		19.64		13.92	18.42	10.71	7.81
237	0.50	1.40	2.78	19.89	5.36		0.63	47.37	14.29	14.06
239	8.42	22.90	5.56	16.67	7.14		1.27	28.95	17.86	1.56
241	7.92	7.48	12.96	31.18	23.21	21.88	6.33		3.57	15.63
243	49.50	23.83	45.37	31.72	23.21	51.04	5.70	5.26	42.86	34.38

Pop: population - NU-C: NU from C farm, NU-S: NU from S farm, KG: Ken Ting goat, TB-HC: TB from Hengchun, NU-HC: NU from Hengchun, BO: Boer, AL: Alpine, KM: Kinmen goats, JA: Ji-An goat, TB-HU: TB from Hualien.

表 A. 10 BM1258 基因座於 10 個山羊族群之交替基因頻率

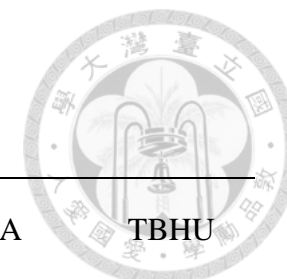


Table A. 10 Allele frequencies for all populations by BM1258 locus

Allele \ Pop	NUC	NUS	KG	TBHC	NUHC	BO	AL	KM	JA	TBHU
101	14.85	8.88	35.19	16.49	25.00	29.08	7.59			
103		9.35	9.26	14.89	14.29	2.04	3.16	44.74		18.75
105	5.94	9.35	0.46				37.34		35.71	4.69
107		3.27		1.06						6.25
109	28.22	18.22	4.17	26.06	37.50	4.59	2.53	5.26	25.00	10.94
111	10.89	22.43	11.11	2.66		25.00	5.06		21.43	12.50
113	40.10	28.50	3.70	37.77	23.21	21.43	32.28	50.00	17.86	45.31
115			7.41	1.06		6.12				
127			27.78			11.73	11.39			1.56
129			0.46				0.63			
135			0.46							

Pop: population - NU-C: NU from C farm, NU-S: NU from S farm, KG: Ken Ting goat, TB-HC: TB from Hengchun, NU-HC: NU from Hengchun, BO: Boer, AL: Alpine, KM: Kinmen goats, JA: Ji-An goat, TB-HU: TB from Hualien.

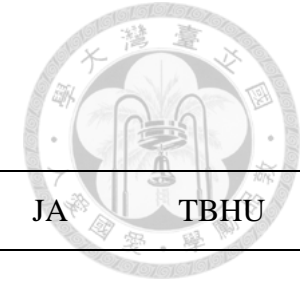


表 A. 11 SRCRSP001 基因座於 10 個山羊族群之交替基因頻率

Table A. 11 Allele frequencies for all populations by SRCRSP001 locus

Allele \ Pop	NUC	NUS	KG	TBHC	NUHC	BO	AL	KM	JA	TBHU
123	18.32	3.74			33.93					
125					5.36					
129	14.85	7.01	2.55			14.43	11.69	31.58	42.86	15.63
131	30.69	25.70	1.53	21.43	25.00	5.67	25.32	31.58	7.14	42.19
133	3.47	8.88		15.38	5.36	0.52	7.79			
135	15.35	20.56	2.55	32.97	12.50	5.15	4.55	34.21		6.25
137		2.34	25.51	28.02		37.63	2.60			4.69
139			3.57	1.10		1.55	2.60			
141	2.48	7.48	2.04			2.58	3.90		14.29	10.94
143	5.45	6.07	0.51		7.14	0.52	7.14		7.14	
145	6.44	6.54	32.14	0.55	8.93	19.59		2.63	28.57	20.31
147			3.06		1.79	1.55				
149	2.97	11.68	22.96			0.52				
151			3.57	0.55			2.60			
153						8.76	0.65			
155						1.55	17.53			
157							11.69			
159							1.95			

Pop: population - NU-C: NU from C farm, NU-S: NU from S farm, KG: Ken Ting goat, TB-HC: TB from Hengchun, NU-HC: NU from Hengchun, BO: Boer, AL: Alpine, KM: Kinmen goats, JA: Ji-An goat, TB-HU: TB from Hualien.



表 A. 12 SPS113 基因座於 10 個山羊族群之交替基因頻率

Table A. 12 Allele frequencies for all populations by SPS113 locus

Allele \ Pop	NUC	NUS	KG	TBHC	NUHC	BO	AL	KM	JA	TBHU
129								2.63		
131			0.93	28.19				2.63		
135	53.96	25.23	37.96	17.02	23.21	19.79	4.38	5.26	17.86	4.69
137	0.99	6.07		0.53	1.79		10.00		3.57	4.69
139	26.73	44.39	40.74	46.81	41.07	36.46	7.50	36.84	7.14	12.50
141	1.98			1.06		11.46	25.63			6.25
143	8.91	5.14	14.81		7.14	30.73	28.13		46.43	3.13
145	1.98			5.85			0.63	52.63	25.00	68.75
147				0.53						
149			0.46							
151	5.45	19.16	5.09		26.79	1.56	0.63			
155							23.13			

Pop: population - NU-C: NU from C farm, NU-S: NU from S farm, KG: Ken Ting goat, TB-HC: TB from Hengchun, NU-HC: NU from Hengchun, BO: Boer, AL: Alpine, KM: Kinmen goats, JA: Ji-An goat, TB-HU: TB from Hualien.



表 A. 13 BOBT24A 基因座於 10 個山羊族群之交替基因頻率

Table A. 13 Allele frequencies for all populations by BOBT24A locus

Allele \ Pop	NUC	NUS	KG	TBHC	NUHC	BO	AL	KM	JA	TBHU
135			0.93		1.79					
147		0.47				0.51				
149				0.53						
153		3.74	3.24	24.74	5.36	23.98		34.21		4.69
155	9.90	9.81	7.87	1.05	5.36	3.06	6.41	50.00	3.57	12.50
157			2.78	28.42		7.14			14.29	15.63
159		7.01	16.20	5.26	7.14	18.88			3.57	
161	38.12	22.43	43.98	22.11	28.57	18.88	4.49	5.26	17.86	29.69
163	14.85	19.63	13.43	4.74	12.50	23.47	7.69	5.26	21.43	23.44
165	6.93	11.68	9.26	13.16	10.71	2.04	23.72	5.26	39.29	14.06
167	30.20	25.23	1.85		21.43	2.04	46.79			
169			0.46		5.36		9.62			
171					1.79		1.28			

Pop: population - NU-C: NU from C farm, NU-S: NU from S farm, KG: Ken Ting goat, TB-HC: TB from Hengchun, NU-HC: NU from Hengchun, BO: Boer, AL: Alpine, KM: Kinmen goats, JA: Ji-An goat, TB-HU: TB from Hualien.

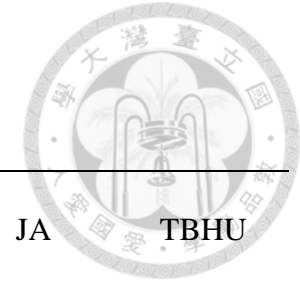


表 A. 14 BM1329 基因座於 10 個山羊族群之交替基因頻率

Table A. 14 Allele frequencies for all populations by BM1329locus

Allele \ Pop	NUC	NUS	KG	TBHC	NUHC	BO	AL	KM	JA	TBHU
167	1.49		11.73	7.37	1.79		18.83	10.53		
169	19.31	29.91	19.90	3.16	19.64	70.10	39.61		14.29	31.25
171	15.35	19.63	2.04		46.43	3.61	9.74			3.13
173	0.50				3.57		3.90			
175	63.37	49.07	7.14	46.32	19.64	12.89	14.29	89.47	85.71	60.94
176		0.47								
177		0.93	41.84	43.16	8.93	12.89	3.90			
179			14.80			0.52	0.65			4.69
181			2.55				8.44			
183							0.65			

Pop: population - NU-C: NU from C farm, NU-S: NU from S farm, KG: Ken Ting goat, TB-HC: TB from Hengchun, NU-HC: NU from Hengchun, BO: Boer, AL: Alpine, KM: Kinmen goats, JA: Ji-An goat, TB-HU: TB from Hualien.



表 A. 15 SPS115 基因座於 10 個山羊族群之交替基因頻率

Table A. 15 Allele frequencies for all populations by SPS115locus

Allele \ Pop	NUC	NUS	KG	TBHC	NUHC	BO	AL	KM	JA	TBHU
243	74.75	77.57	43.52	40.53	55.36	71.43	24.68	50.00	28.57	53.13
245	23.27	13.55	51.39	37.89	17.86	27.04	68.99	50.00	71.43	46.88
247	1.98	8.88	5.09	21.58	26.79	1.53	6.33			

Pop: population - NU-C: NU from C farm, NU-S: NU from S farm, KG: Ken Ting goat, TB-HC: TB from Hengchun, NU-HC: NU from Hengchun, BO: Boer, AL: Alpine, KM: Kinmen goats, JA: Ji-An goat, TB-HU: TB from Hualien.

