

五、重要水產生物育種、繁養殖技術及餌飼料研究

種原庫保種生物遺傳資料庫之建立(II)

宋嘉軒¹、陳高松¹、何淑真¹、陳佳香¹、城振誠²¹企劃資訊組、²澎湖海洋生物研究中心

種原庫的主要功能在於保種、育種，並建立種原資料以供應用。本計畫以本所澎湖海洋生物研究中心所繁殖之德班氏活額蝦 (*Rhynchocinetes durbanensis*) 為標的，透過次世代定序及兩種不同的 *de novo* 序列組裝，進行簡單重複序列標記 (SSR) 的預測分析，並利用毛細管電泳及螢光標記引子進行族群遺傳變異分析。

次世代定序產出的定序量為 20,965,331 bp，後續利用 CLC Genomics Workbench 進行 *de novo* assembly 的組裝分析，組裝後大於 500 bp 的 contig 數為 76,394，最大長度為 16,557 bp，總核苷酸數為 66,090,000 bp；再利用 ABySS 進行 *de novo* assembly 的組裝，組裝後大於 500 bp 的 contig 數為 548，最大長度為 17,053 bp，總核苷酸數為 503,952 bp (如表)。

ABySS *de novo* 組裝統計

kmer size	number of contigs	min. length	N80	N50	N20	max. length	total contigs bases(bp)
31	12,939	500	530	594	728	5,389	8,044,121
51	17,534	500	531	601	751	5,430	11,100,000
71	15,473	500	533	609	808	8,038	10,120,000
91	13,621	500	537	626	901	8,490	9,342,450
111	12,774	500	546	664	1,075	11,297	9,337,993
131	10,536	500	555	708	1,464	15,386	8,224,792
151	7,380	500	569	754	1,897	15,486	6,189,926
201	2,517	500	572	857	2,956	17,014	2,326,844
251	548	500	546	860	3,284	17,053	503,952
261	293	502	580	924	2,964	15,893	281,480
271	110	501	572	804	3,320	13,014	103,102

以 CLC 軟體組裝之 contig 預測的 SSR 總數為 39,169，在 SSR 區域兩端具有 100 bp 可設計 primer 的數量為 19,536，可被 raw reads 覆蓋率達 100% 的數量有 17,366 (圖 1-A)。以 ABySS 組裝的 contig 預測的 SSR 總數為 133，在 SSR 區域兩端具有 100 bp 可設計 primer 的數量為 45，可被 raw reads 覆蓋率達 100% 的數量有 33 (圖 1-B)。

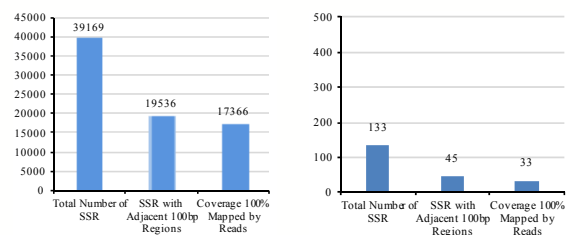


圖 1 SSR 目標區域預測統計(A:CLC GW;B:ABySS)

總共使用 10 組引子對透過螢光引子毛細管電泳技術 (capillary electrophoresis with fluorescent-labeled technique) 進行遺傳歧異度分析。PIC (polymorphism information content) 值界於 0.38—0.412。遺傳分化指數 (*F_{st}*) 為 0.0184，小於 0.05，顯示兩族群間無顯著遺傳分化。

利用貝氏群歸分析 (Bayesian method) 建構澎湖種原庫及庫外之德班氏活額蝦對偶基因的分布情形 (圖 2)，結果顯示兩個族群無明顯的遺傳結構差異存在，但種原庫外族群的遺傳結構有較多的趨勢。

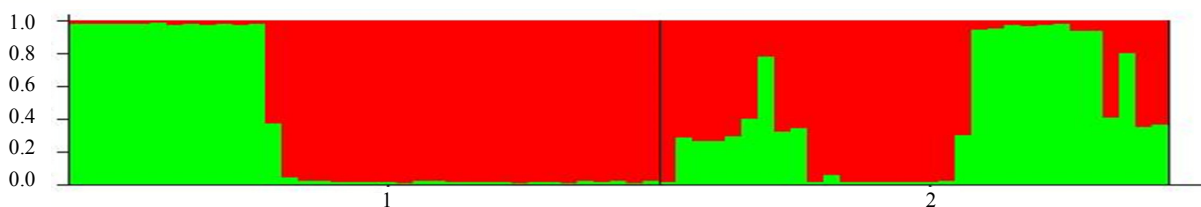


圖 2 以貝氏群歸分析建構澎湖種原庫內、外之德班氏活額蝦遺傳組成