

溪哥魚的隨機擴增多形性 DNA 標記的開發研究

黃家富、劉富光

淡水繁養殖研究中心竹北試驗場

溪哥魚(*Zacco spp.*) 為台灣河川原生種魚類，然近年來，因河川污染日益嚴重，濫採砂石破壞其生態環境，自然界中之族群有逐年減少之趨勢，對其保育與生態等研究日趨重要。建立水產生物保育與種原庫之首要在於種原之鑑定。溪哥魚為台灣民間的通稱，在分類學上主要分為粗首鱨(*Zacco pachycephalus*) 與平頷鱨(*Z. platypus*) 兩種，以往有人認為本省尚有一種丹氏鱨(*Z. termminki*)，實係粗首鱨之異名而已，因為丹氏鱨為日本特有種，而粗首鱨則為台灣特有種。然粗首鱨與平頷鱨在傳統之形態形質分類上有許多相同點，二者之差異主要為(1)側線鱗片數：粗首鱨為 48~52，平頷鱨為 44~46；(2)口裂：粗首鱨口較大、口裂向後達眼之 1/3、上下頷稍曲屈；平頷鱨則為口較小、口裂向後僅達眼之前緣下方、上下頷近乎平直；然相異點也有混淆的情形，如口裂為

僅達眼之前緣下方，側線數卻為 50。因此本研究以 RAPD (Random Amplified Polymorphic DNA) 分析技術探討二者的遺傳基因之相關性。本研究係利用 100 組商業化之 RAPD 引子來篩選適當引子，作為分析研究用。初步結果(表 1)有 38 組 RAPD 引子產生多形性模式，再經反覆試驗獲得 22 組引子，在選定標準魚 DNA 上之隨機擴增 DNA 片段具重複、再現的模式，其寡核苷酸序列 G+C 含量均高於 60%。以此 22 組引子對粗首鱨(來自宜蘭蘭陽溪與台北淡水河)、平頷鱨(台北淡水河)、馬口魚(台北縣淡水河系)及圓吻鮠(宜蘭蘭陽溪)等 5 種魚做比較，發現粗首鱨與平頷鱨間相似性極高，僅在引子組編號 NAPS #402、#438、#459、#474 及 #492 等 5 組所隨機擴增之 DNA 片段有稍許差異(圖 1)，可用於鑑定分析。

表 1 5 組隨機擴增 DNA 片段引子 (RAPD primer) 之核苷酸序列與聚合酶連鎖反應條件

Primer No.	Primer sequence	G+C content (%)	Annealing temp. (°C)	dNTP conc. (mM)	Mg ⁺⁺ conc. (mM)	DNA conc. (µg/µl)
402	CCC GCC GTT G	80	50	15	1.5	0.5
438	AGA CGG CCG G	80	56	15	1.5	0.5
459	GCG TCG AGG G	80	52	15	1.5	0.5
474	AGG CGG GAA C	70	52	15	1.5	0.5
492	GTG ACT GCT C	60	50	15	1.5	0.5

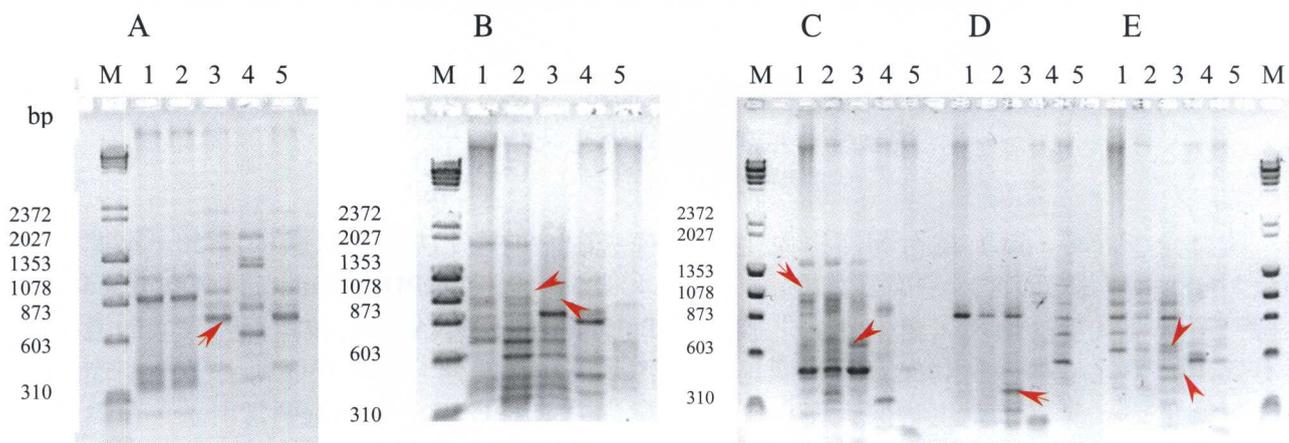


圖 1 RAPD primer NAPS #402、#438、#459、#474 及#492 在粗首鱨、平頷鱨、馬口魚及圓吻鮠的隨機擴增 DNA 片段

A：NAPS#402，B：NAPS#438，C：NAPS#459，D：NAPS#474，E：NAPS#492。紅色指標為粗首鱨與平頷鱨隨機擴增片段相異處。M：Marker； 1：粗首鱨(宜蘭蘭陽溪)， 2：粗首鱨(台北淡水河)； 3：平頷鱨(台北淡水河)； 4：馬口魚(台北縣淡水河系)； 5：圓吻鮠(宜蘭蘭陽溪)