

赴以色列研習吳郭魚遺傳育種心得報告

張格銓

水產試驗所淡水繁養殖研究中心

研習之背景與目的

品種是人類養殖動物的基礎，品系的選擇與培育對產業的發展影響極大。在台灣的水產養殖產業中，採用育種方式來生產魚苗的首推吳郭魚；但近年來，傳統育種開始遭遇瓶頸，亟待加強應用分子育種技術，以強化產業發展。以色列在水產動物遺傳育種上的經驗，值得台灣在吳郭魚保種和育種方面作為借鏡。台以雙邊合作計畫的主要目的在促進雙方人員在吳郭魚遺傳育種的經驗與學術交流，並評估共同進行合作研究或種原交換的可行性。

2010 年我方曾邀請以方專家來台交流，彼等針對吳郭魚遺傳育種提供許多建議，並參與淡水繁養殖研究中心的吳郭魚性別相關之遺傳標誌研究。影響吳郭魚性別之因子複雜，若能找到與性別高度相關的遺傳標誌，將有助於加速遺傳研究，並縮短育種期程。淡水中心已參考以方專家的建議，進行多組配種工作且對其子代進行分析研究。另外，雙方對種原交換達成共識，並已著手進行。

研習之規畫與行程

以色列農業機構 (ARO) Hulata 教授在我方交流的過程中，已多次在來往的電子

郵件中提出交換吳郭魚種原的要求；其本人則於 2010 年應邀來台參訪。訪台期間，Hulata 教授除了在總所發表遺傳育種的演講，也至本中心參訪，並與相關研究人員交換研究心得，同時達成種原交換、與本中心合作研究吳郭魚性別相關標誌以及派員前往以色列農業機構研習等三項共識。

本研習行程在 2012 年 3 月確定細節，主要的研習項目為討論前述之 2010 年的吳郭魚性別標誌之試驗結果與分子生物試驗之操作訓練。性別標誌試驗的討論在 Hulata 教授實驗室進行，同時也與吳郭魚性別研究專家 Cnaani 博士會面，深入瞭解吳郭魚性別標誌之應用；實驗室的研習工作主要在希伯來大學 Rehovot 校區的農學院進行，由 Hulata 教授、Ron 教授及 Shirak 博士協助。另外，由 Harpaz 教授帶領參訪一處有機養殖場，及由 Hulata 教授陪同參觀在台拉維夫舉辦的國際農業大展。在研習工作和參訪行程之外，亦多次與以色列的學者專家晤談，交換彼此的研究經驗與成果，對於以色列在吳郭魚的遺傳育種歷史、發展策略及目前的研究方向有進一步的了解。

研習過程與內容

一、以色列的吳郭魚養殖

吳郭魚是以色列最重要的養殖魚種，近

年來其產量已超越鯉科魚類勇奪第一名。以色列境內的吳郭魚共有歐利亞 (*Oreochromis aureus*)、吉利 (*Tilapia zillii*)、尼羅 (*O. niloticus*) 及加利利 (*Sarotherodon galilaeus*) 等 4 種，其中以歐利亞種和尼羅種較具經濟價值。由於本地的尼羅吳郭魚純度不良，曾先後引進烏干達、肯亞、埃及、象牙海岸與迦納等品系，其中以迦納品系的養殖情況較佳。Hulata 教授指出，以色列的吳郭魚養殖戶有幾種放苗的選擇：(1)在魚苗性別未定時期，利用藥物促其變性，以獲得全雄性的尼羅吳郭魚苗；(2)以雌性的尼羅吳郭魚雜交雄性的歐利亞吳郭魚，直接獲得高比例的雄性魚苗；(3)進口其他地區之吳郭魚魚苗進行養殖，例如 GIFT (Genetic Improvement of Farmed Tilapia) 或遺傳性雄尼羅吳郭魚 (genetically male tilapia, GMT) 等。

雄性吳郭魚的體型一般為雌性魚的 2 倍，在魚苗性別未分化時使用雄性激素是一個獲得全雄性魚苗的有效辦法，但近年來健康意識抬頭，被激素處理過的吳郭魚在食用安全上是有疑慮的，因此生產天然的單雄性雜交魚苗是個相當好的選擇。然而，據 Shirak 博士轉述，以色列常見的尼羅吳郭魚與歐利亞吳郭魚通常都已雜交過，魚苗的雄性比率約為 90%，因此，如何提高雜交魚苗的雄性比例是以色列吳郭魚研究上的重要課題。

二、吳郭魚的遺傳育種

傳統的遺傳育種大致可分為雜交育種與選擇育種二大類，雜交育種一般是指雌尼羅吳郭魚與雄歐利亞吳郭魚交配生產高比例雄性子代，在台灣也有雜交莫三比克吳郭魚和賀諾奴吳郭魚等紀錄。選擇育種則是以成長

最佳的尼羅吳郭魚為研究主體，過去國外育成的 GIFT 品系就是選拔多種尼羅品系的試驗，另外遺傳雄性吳郭魚 (GMT) 也是一大研究方向，國外過去曾育成遺傳雄性尼羅吳郭魚 (YY-GMT)，並自 1995 年起，由菲律賓、泰國等地推廣至中國、斐濟、越南、美國與中美洲等國家養殖。以色列過去曾以類似的方法培育全雄性歐利亞吳郭魚 (ZZ)。

隨著生物科技的快速發展，在吳郭魚的研究上也進行了 DNA 標誌的研究與利用，小衛星 (minisatellite) 與 RAPD (random amplified polymorphic DNA) 等方法是最早被應用的技術。以色列目前是以微衛星方法應用於吳郭魚的遺傳育種，該方法最初由 Lee 與 Kocher (1996) 開發了 140 個微衛星標誌；繼之，Carleton 等人 (2002) 陸續開發了 165 個微衛星標誌，挪威的一家私人企業也開發了 1,319 個尼羅吳郭魚微衛星標誌。在遺傳標誌聯鎖圖譜方面，第一代的聯鎖圖譜是由 AFLP (amplified fragment length polymorphism) 標誌與微衛星標誌繪製而成，遺傳標誌約有 200 多個。第二代聯鎖圖譜是以色列研究吳郭魚遺傳育種的主要參考圖，內容包含了 525 個微衛星標誌和 21 個功能性基因之遺傳標誌，主要分為 24 個聯鎖群 (22 個大聯鎖與 2 個小聯鎖)，迄今仍不斷地在強化功能性基因等資訊，該圖譜目前的貢獻為性別分化、耐鹽能力、抗寒性、免疫與基因調控等研究。

三、台以在吳郭魚性別研究方面的合作情形

以色列近年在吳郭魚之性別研究上發展迅速，Hulata 教授與其合作團隊以第二代圖

特別報導

譜為藍本，積極地研究尼羅吳郭魚的性別系統，目前已發現迦納品系和埃及品系主要的性別決定區域為第一條聯鎖群 (Linkage group 1, LG1)。另外，第三條聯鎖群 (LG3) 對埃及品系之性別也有些許關聯。歐利亞吳郭魚方面，發現 LG3 是性別的主要聯鎖區，LG1 的影響力較小。最新的研究顯示，Swansea 品系的尼羅吳郭魚的主要性別決定區域為第二十三條聯鎖群 (LG23)，並且發現一些具性別功能性的基因位於 LG23。根據以色列的吳郭魚性別研究結果，本中心將 LG1、LG3 和 LG23 設定為台灣吳郭魚性別研究之目標。

2010 年本中心針對所繁殖的 3 對尼羅吳郭魚與 2 對歐利亞吳郭魚 (1 對 1 的方式交配)，以微衛星標誌進行試驗研究，結果顯示本中心所保存的尼羅吳郭魚之性別決定區與 LG23 相關，歐利亞吳郭魚之性別與 LG3 相關。Cnaani 博士指出，台灣的歐利亞吳郭魚與以色列的歐利亞吳郭魚機制類似，性別區域同為 LG3，但互換程度因親代個體的不同而稍有差異。整體而言，台灣的歐利亞吳郭魚性別基因座具有相當好的鑑定力，2 個家系性別區域的遺傳都相當穩定。換言之，以方肯定本中心歐利亞吳郭魚的純度。尼羅吳郭魚的結果則顯示，本中心試驗的品系過去可能有發生過同種雜交，以致性別之遺傳區域 LG23 的顯著性較歐利亞吳郭魚差。Shirak 博士也表示，根據我方提供之實驗數據，台灣的尼羅吳郭魚部分家系之 LG23 可能含有致死遺傳等複雜因子。整體而言，本次試驗之尼羅吳郭魚的性別決定區較為複雜，以方建議我方選擇純度更好 (或不同品系) 的尼

羅吳郭魚進行性別相關標誌研究，以利後續的遺傳育種工作。

四、分子生物操作之研習心得

(一) 吳郭魚性別標誌檢測

在一般市場隨機取得吳郭魚 32 尾 (依外型分別雌尼羅吳郭魚、雄尼羅吳郭魚、雌歐利亞吳郭魚及雄歐利亞吳郭魚各 8 尾)，經過 DNA 的萃取後，用 4 組微衛星引子進行 PCR 實驗，再將 PCR 產物進行基因型分析，以軟體 (GeneMapper 4.0) 進行最終校正。

為尊重 Shirak 博士尚未發表的實驗數據，故簡述本試驗結果。微衛星數據顯示 4 組微衛星引子中的 1 組引子 (位於 LG3) 可鑑別不同性別的歐利亞吳郭魚，另 1 組微衛星引子 (位於 LG23) 可鑑別不同性別的尼羅吳郭魚。其他 2 組引子雖不具性別的鑑別力，但根據 Shirak 博士提出的研究資料，顯示該些引子可用來判斷其是否為雜交種。

(二) 未知鮪魚的鑑定

因 Hulata 教授知悉筆者曾多次進行吳郭魚與鰻魚的鑑別試驗，恰好 Shirak 博士最近也在進行鮪魚及地中海魚類的分析試驗，故安排此研習項目。

鮪魚系群龐大，部分品種的鮪魚價格不斐，以色列在此方面也著手進行鑑種研究。此實驗的目的為嘗試鑑定經烹煮後的鮪魚罐頭，其流程為將食品加工場未烹煮的 2 種魚塊與 4 件罐頭魚肉之 DNA 分別進行粒線體 COI 之 PCR 反應 (罐頭魚肉在 PCR 進行前需經過 DNA 修復的操作)，再將 PCR 產物進行電泳分析純化，定序後進行序列分析 (分別以生命條碼資料庫 BOLD 和 NCBI 網站比對)。

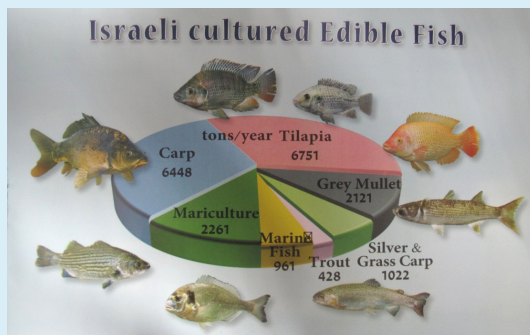
試驗結果顯示，未烹煮的魚塊分別為圓花鯉 (*Auxis rochei*) 和正鯉 (*Katsuwonus pelamis*)，兩種魚皆為罐頭鮪魚的常見魚種。另外，4 件罐頭魚肉皆因 PCR 失敗而沒有結果，Shirak 博士推論，由於烹煮魚肉之 DNA 已遭受相當程度的破壞，本次 DNA 修復試驗結果不佳，未來將嘗試在此部分做進一步的改良。

心得與建議

在吳郭魚品種方面，最常見的以色列吳郭魚為尼羅吳郭魚（埃及品系與迦納品系）與歐利亞吳郭魚，其中迦納品系的育種成效較好；台灣則以尼羅吳郭魚（台灣品系）和

歐利亞吳郭魚最常見，但台灣過去曾大力發展福壽魚（♀莫三比克 × ♂尼羅）養殖，現今坊間也常看到莫三比克吳郭魚或其混種。雙方的歐利亞吳郭魚是同一來源，但台灣過去並未引進中東地區的尼羅吳郭魚，故在種原保存上與以色列不同。因此建議引進不同品系的尼羅吳郭魚（尤其是成長表現較好的迦納品系），以強化我國吳郭魚之遺傳育種。

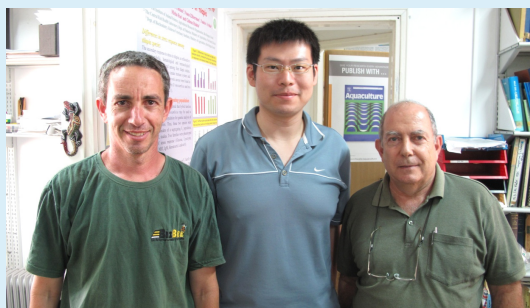
就以國吳郭魚遺傳育種的研究現況與歷史文化而言，猶太民族相當團結，研究人員之間有強大的合作與信賴，並願意共同分享成果。台灣在設備資源、技術與人才並不亞於以國，若能在研究發展上真心的進行團隊合作，成就必然不斐。



2008 年以色列食用魚類的養殖量統計(單位：噸/年)，吳郭魚類為最主要的養殖魚種



Hulata 教授在 Bet-Dagan 的 ARO 主持之吳郭魚遺傳育種研究室，牆上的淡水魚類海報為本所所贈



筆者與 Hulata 教授(右)、Cnaani 博士(左)之合影



Shirak 博士(左)詳盡的解說吳郭魚性別鑑定試驗流程