

制定水產分子遺傳育種的研究策略

張格銓、黃瀛生、陳建彰、陳榮華

水產試驗所淡水繁養殖研究中心

前言

水產生物的遺傳育種主要可分為傳統的選擇育種與新興的分子育種。傳統育種通常是選擇特定的幾個性狀來進行下個世代的繁殖研究，這種方法或許能循序漸進的改善目標性狀，但多半會遭遇停滯不前或遺傳不穩定等問題，逐漸形成不易突破的瓶頸。因此，分子育種是改進傳統育種的一個辦法。簡單來說，一般所認知的分子育種，是依據基因決定性狀的原理，經過各種試驗的證實後，再應用於品種的改良。但實際上，分子育種可能需要使用相當多的生物技術方法，包括各種遺傳標誌的篩選或遺傳圖譜等之建立，都需要龐大的研究資源，近年來由於基因體定序技術越來越發達，例如次世代定序 (Next Generation Sequencing) 等方法之開發，加快了人類對各種基因的認識，該技術的準確度佳，雖然該技術目前仍需相當的經費與長時間的拼接分析，但全基因體定序可間接加速遺傳育種工作之進行，是幾乎不可或缺的重要工具。

簡介水產遺傳育種的方法

常用的遺傳育種方法大致可分為四類：

一、雜交育種

雜交育種已應用在水產生物多年，雜交可能會產生一定程度的雜交優勢，使目標物種同時具有二種以上的遺傳優勢。若能進一步以育種方式建立其分子標誌，就能進行標誌輔助育種，甚至有機會找到具經濟性的遺傳標誌。

二、性別控制

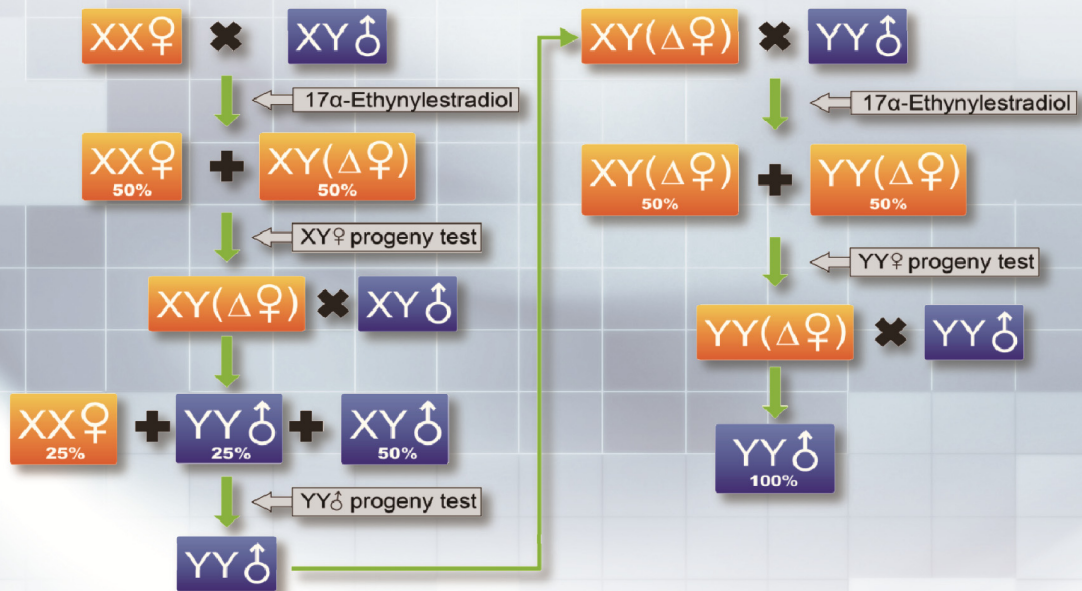
吳郭魚是最好的實例，雄性的吳郭魚相較於雌魚有成長優勢，因此發展單雄性養殖是增加產量的辦法，本所開發的 YY 尼羅吳郭魚 (如圖) 就是能成功的生產高雄性比例的魚苗 (陳等, 2013)。在國外，有些研究者以雄性激素浸泡魚苗，藉以提高雄性比例，但雄性激素處理過的魚隻可能導致食安疑慮，因此該技術並非理想的性別控制方法。

三、基因轉殖技術

該方法是以基因工程的方式，將特定基因導入目標物種的 DNA 或稱之為基因改造。目前國際間對基因改造食品的安全性多所顧忌且有嚴格的規範，未來科技進展如能排除風險，這些技術將具有相當的發展潛力。

四、細胞遺傳工程

可再細分為多倍體操作、誘導雌核發育技術、細胞核質雜交技術與細胞融合技術等，細胞遺傳工程在核質雜交與細胞融合方



建立 YY 品系吳郭魚之流程圖

面有相當不錯的研究發展性，但操作過程多半涉及人工的遺傳重組，可應用於開發保種技術或新品種研究。

分子育種所面臨的問題

近幾年來，水產分子遺傳生物學已相當受到重視，在 20 多年前，許多專家與學者已清楚認知分子遺傳育種的重要性，但受限於當時對全基因體的解讀問題，因此開始建立各式各樣的分子標誌，例如增幅性片段多型性 (random amplification of polymorphic DNA)、微衛星標誌 (microsatellite) 等方法，目的是為了建立物種的遺傳指紋圖譜，作為後續育種研究之基礎。然而，即便現今有多種全基因體定序等技術，但分子育種發

展在現階段仍然緩慢或受限，可能的原因大致歸納成三點：

- 一、多數的水產養殖物種之遺傳圖譜才剛開始要建立，在此之前需搭配適當且足夠的分子標誌與基因定位等遺傳連鎖資訊，圖譜建立後才能實際進行遺傳育種研究。整體而言，多數養殖物種的遺傳圖譜之建立尚未落實，離實際應用在育種研究仍有一段距離。
- 二、許多具經濟價值的性狀可能是多基因調控或其他較複雜的調控模式，又水產養殖物種的一些基因表現容易受環境因子影響而產生變化，以致干擾因素較多，進行試驗後不一定能得到預期的理想結果。現今在動物育種方面，雖然有使用最佳線性無偏預測 (best linear unbiased

prediction) 方法等，可針對較複雜的隨機效應進行預測分析，但缺乏關鍵基因的直接證據，多個世代後也可能另外產生新的瓶頸。

三、即便掌握了一、二個重要基因或遺傳片段，還是得配合現場養殖試驗，且至少需經過三個世代分析，方能初步確定其遺傳性。另外，分子育種所需的期程與遺傳的複雜程度和物種的生殖週期皆呈正相關，育成一個新品系所花費的時間甚至可能超過十年。例如，本中心前後耗費 6—7 年，才掌握了雄性遺傳標誌群，並分離出四個 YY 尼羅吳郭魚品系(如表)。目前雖然建立了吳郭魚分子遺傳育種之模式，但後續仍需要數年時間進行品系間的比較與選別工作。

本中心已發現的 4 種雄性決定型 (C1, C2, F1 與 F2)

型 式	代表種魚	簡 述
C1/C2	YY-1	雄性子代比例約 87-100%
F1/F1	YY-2	可生產幾乎 100% 全雄性子代
C1/F2	YY-5	雜合型，子代中 F2 雄性比例較 C1 高，平均 97%
F2/F2	YY-9	雄性子代比例約 95-100%

水產分子育種後期管理經驗有限

理論上來說，分子育種技術建立新品系後，應有許多維繫品系的工作，已知的遺傳重組包括染色體局部複製、缺失、互換、倒置、異位與轉座子。因此本中心在吳郭魚的分子育種維繫工作需要掌握足夠的分子標誌或相關基因，以確保每個世代 DNA 的遺傳型可正確的對應到活體的表現型。在雄性決定標誌研究來說，研究人員一共鎖定了 4 組分子標誌和 1 個 *AMH* 基因，在每一個世代大量繁殖前，種魚群都需要進行繁殖前之分子標誌的檢測，當確認沒有發現有影響性的遺傳重組後才能移入繁殖池，後續繁殖的子代也需進行抽樣篩檢。目前的管理方式只能保守的進行維護管理，將特定遺傳區域有發生變異的族群移出保種池，萬一發生異常時得追溯至前一二代並重新進行選種與繁殖。

從零開始，進行水產分子遺傳育種研究

水產分子育種的主要目的為產出具有經濟性狀之新品系，過程中可能需要使用多種生物技術輔助分析與繁養殖操作。筆者多年來參與吳郭魚遺傳育種之相關研究，特將分子育種研究策略與要點介紹如後。

一、種原鑑定與鑑別

所有的研究不外乎要對「種」的認識詳盡且清晰，最佳的方式是同時以傳統分類學與分子生物進行解析，常用的分子生物鑑定方法是利用粒線體 DNA 的差異性，但該方法需要注意該物種是否有種間雜交的可能因

素，以免發生誤判。一旦確立好對種原的鑑識，則可進入建立分子標誌的工作。

二、分子標誌之建立與遺傳圖譜

過去國內外對分子標誌的研究，開發出相當多的方法，可參考的研究報告多到無法計數，但自從全基因體定序技術開始應用在各種經濟性生物，即開始取代過去各種方法。因此，只要能進行全基因體定序，就相當於直接建立分子標誌的原始數據，剩下的工作是做好分子標誌的標記與遺傳多樣性之測試。

遺傳圖譜對於育種研究是不可或缺的重要工具，詳盡的遺傳圖譜能記載成千上萬的遺傳標誌，這些標誌可進一步依坐落染色體的位置來進行連鎖關係分析，繪成遺傳連鎖圖譜。至此，相關的準備工作算是告一段落，可開始進行分子育種之試驗設計。

三、制定研究策略

研究策略的制定可謂是整個分子育種的核心，試驗設計之質量會直接影響整個育種工作所花費的時間。簡單的說，選育有個體選育和群體選育二大方向，個體選育可以用一對一的方式進行最簡單的交配，有助於釐清數據，或有機會找到重要基因的位置；群體選育所花費的時間較短，並且需要善用相關之統計方法，但不易直接找到關鍵基因，適合用在多基因或機制較複雜的性狀。

在性狀的選擇方面，則是以最具有經濟價值的性狀或最迫切需要的性狀為優先，在選擇配種方面，又可分純種選育與雜交選育，其中雜交選育的策略通常能較快建立理想的品系。

上述等方法均是傳統選育就能做到的

事，因此，更進一步的使用分子標誌篩選，嘗試找到關鍵的遺傳調控標誌，甚至要額外進行自交、回交、選擇配對等繁殖工作，依遺傳學的理論基礎，逐步驗證遺傳標誌，才能算是真正的分子育種。

四、建立新品系與量產

確認遺傳標誌後，需重新思考建立品系的方法。連結到不良性狀的遺傳標誌可直接用篩選的方式剔除，直接建立新的族群；好的遺傳標誌則要進行 CSH (chromosome segment homozygosity) 選育工作 (Hayes et al., 2005)，以獲得目標個體或群體，而後再進行種的培育與量產。

結語

分子育種是知易行難且相當耗費時間的研究工作，若以產出新品系為研究目標，確實可能會面臨各種挑戰。根據淡水繁養殖研究中心在吳郭魚育種研究的經驗，發現純以基因的角度進行試驗設計是不盡理想的，因為生物體的遺傳調控並非想像般的簡單，試驗應以遺傳標誌進行選育，即使短時間未能追蹤到任何已知的基因，仍能獲得改良後的優質品系。

因此，掌握 DNA 的遺傳標誌和維繫選育的品系才是最重要的兩個關鍵。此外，水產生物較容易因溫度、光週期等環境因子而影響性狀的表現，所以育種時需特別留心環境因子可能產生的變數，在驗證遺傳標誌時最好先在同一環境條件下進行，而後再測試不同的環境條件，才能更完整的定義遺傳標誌的特性。