

臺灣白甲魚屬物種的細胞遺傳學研究

陳念慈¹、曾美珍²、蕭玉晨¹

¹水產試驗所淡水繁養殖研究中心、²國立屏東科技大學水產養殖系

前言

白甲魚屬 (*Onychostoma*) 分類地位隸屬於鯉科 (Cyprinidae)，在東亞廣泛分布，約有 23 種，臺灣地區有兩種，分別為臺灣白甲魚 (*O. barbatulum*) (圖 1) 及高身白甲魚 (圖 2) (*O. alticorpus*)。



圖 1 臺灣白甲魚 (攝影/趙士龍)



圖 2 高身白甲魚 (攝影/趙士龍)

臺灣白甲魚 (*Onychostoma barbatulum*) 俗名臺灣鏟頷魚、苦花、鯛魚、苦俛、齊頭俛，為臺灣常見的中高海拔魚類，主要分布於中國與臺灣，臺灣分布區域包括西部高屏溪以北、東部太麻里溪以北各水系，海拔 800—2,000 m 之溪流中。成魚體長可達 45 cm，一般以 18—25 cm 較為常見，體呈銀白色，體背部為灰黃綠色，腹部淺黃至淡白色。體側及背部鱗片為新月形黑點，背鰭鰭膜的末端有黑色斑紋，喜棲息於河川上游水質冷而清澈的水域，以附著於石頭上的矽藻和褐藻為食，也攝取小型無脊椎動物，繁殖期為 1—7 月。

高身白甲魚 (*Onychostoma alticorpus*) 為臺灣特有種，俗名高身鯛魚、赦鮠、鮠仔，幼魚期與臺灣鏟頷魚極相似，隨成長而漸有變化。主要分布於臺灣南部及東部地區，包括高屏溪、花蓮溪、秀姑巒溪、卑南溪及太麻里溪等流域，分布海拔在 150—800 m。喜棲息於水流湍急，具有巨石及岩壁的溪流中，以附著於石頭上的藻類為主食，也攝取水生昆蟲。成魚最大體長可達 50 cm，其頭部及體背側呈暗灰綠色，側線下方的腹側粉紅或淡橘紅色，吻部前方具白色縱帶，鰭條為淡灰黑色，胸、腹、臀鰭鰭膜為粉紅色，繁殖期為 9—11 月。本魚種在 1989 年曾經被

列為瀕臨絕種的保育類野生動物，但 2009 年 4 月修正的名錄中已取消其保育等級。

臺灣白甲魚及高身白甲魚皆為臺灣的溪流魚類，前者是臺灣的經濟魚種，後者是臺灣特有種，兩者在幼魚時具有相似的外部形態，很難依據外部特徵分辨。另外，臺灣河川因為受到嚴重污染，加上過去的人為濫捕，造成魚類資源日益枯竭，因此了解此兩物種的細胞遺傳學資訊將有助於今後的復育與養殖管理。

染色體的研究分析

染色體是生物主要遺傳物質的載體，許多染色體特性在物種間具有特殊的變化，可提供我們了解生物體的細胞遺傳學資訊。

一、吉姆薩染色法 (Giemsa staining)

臺灣白甲魚及高身白甲魚的染色體經由 Giemsa 染色後顯示其染色體數與許多鯉科魚種相同，皆為 $2n = 50$ (圖 3)。Buth et al. (1991) 統計 435 種鯉科染色體數目結果顯示，其中有 282 種為 $2n = 50$ ；Rábová et al. (2003) 及 Boron et al. (2009) 研究文編屬 (*Vimba*) 及雅羅魚屬 (*Leuciscus*) 也得到相同結果，代表 $2n = 50$ 應該是鯉科魚類較原始的染色體數目。臺灣白甲魚及高身白甲魚母魚的染色體排列後，其核型公式分別為 $10m + 22sm + 10st + 8t$ 及 $14m + 18sm + 8st + 10t$ ，兩者的染色體臂數皆為 82，但在核型公式上有明顯差異。在其他研究中，同屬的白甲魚 (*O. simum*) 及細長白甲魚 (*O. elongatum*) 的核型公式為 $10m + 16sm + 16st + 8t$ 和 $12m + 12sm + 14st + 12t$ ，染色

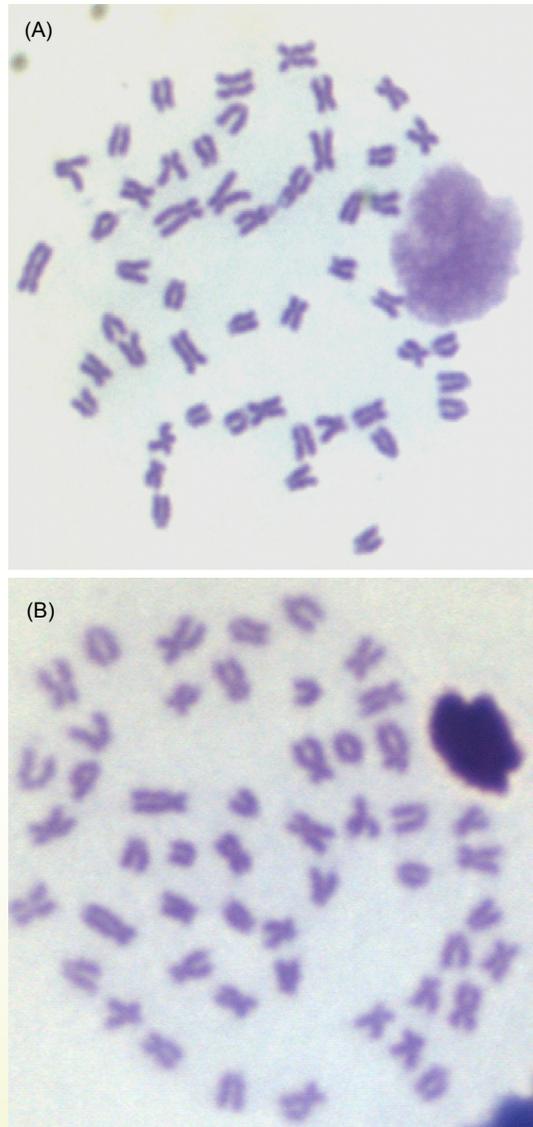


圖 3 臺灣白甲魚 (A) 及高身白甲魚 (B) 染色體使用 Giemsa 染色結果

體臂數分別為 76 及 74，染色體形態大部分為近中央中結 (m) 與中央中結 (sm) 兩種，顯示此為白甲魚屬保守的特徵。

二、銀染核仁組成區 (Nucleolar organizer regions, Ag-NOR)

染色體條帶分析技術係以酸鹼、熱、鹽

類、酵素或染料進行處理，根據每一對染色體 DNA 及蛋白質組成不同而形成的深淺不同條帶，進行染色體的排列分析，包括 C-banding、G-banding、R-banding、Q-banding 及 Ag-NOR。Ag-NOR 為核糖體基因 (rDNA) 主要轉錄活性的位置，包括 18S、5.8S 和 28S，銀染會與轉錄的 RNA 前驅物 (pre-RNA) 所殘留的酸性蛋白結合而顯現。在鯉科魚類中，NORs 的形態及位置具多型性，Buth 等人 (1991) 鑑別 100 種北美洲的鯉科魚類，具有 15 種以上 NORs 的形態，相同於 Takai 和 Ojima (1992) 指出，有超過 30 多種的日本鯉科魚類，顯示 NORs 在種間具有許多的變化，因此，鯉科魚類 NORs 的研究，可作為其細胞遺傳學分類的工具之一。本研究的兩種白甲魚屬以 Ag-NOR 方式染色後，顯示臺灣白甲魚的 NORs 有兩對，位於 m 染色體上，而高身白甲魚只有一對，位於 sm 染色體的短臂上 (圖 4)，顯示在兩個物種的 NORs 存在差異性。Klinkhardt 等人 (1995) 指出，100 種鯉科魚類中，大多數只有一對 NORs，且位在 m 或 sm 染色體短臂的端點上；Buth 等人 (1991) 研究的 69 種北美鯉科魚類中，大部分具有一或兩對 NORs，只有三個物種的染色體具有三對 NORs。NORs 標記在兩種白甲魚的形態位置不同，往後可進一步應用分子遺傳技術，鑑定其親緣關係。

三、螢光原位雜合技術 (Fluorescence in situ hybridization, FISH)

此技術係利用核苷酸序列互補的原理，以螢光標記的單鏈核酸片段為探針，確認 DNA 序列在染色體上的位置，因具有靈敏度

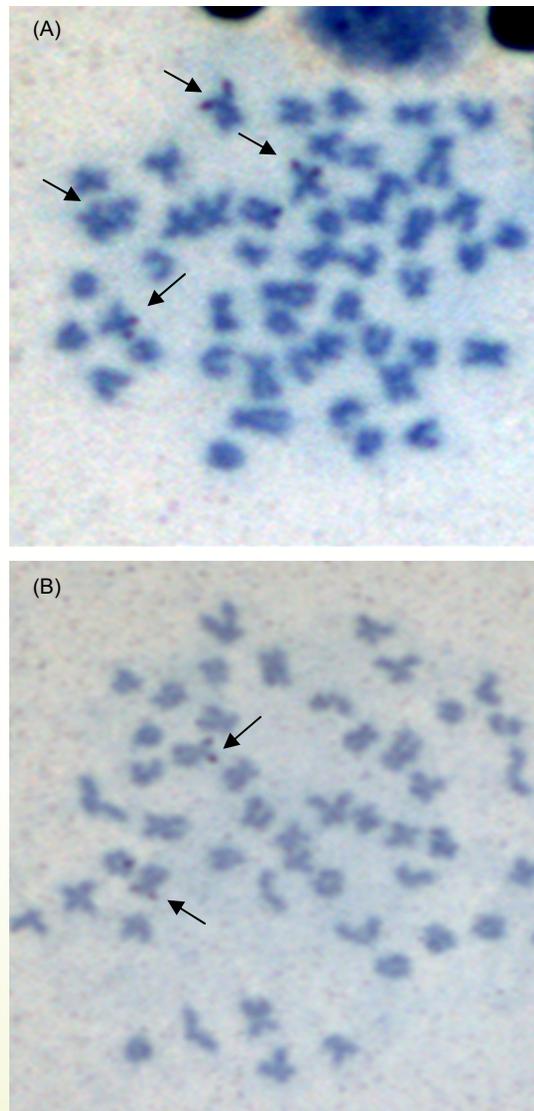


圖 4 臺灣白甲魚 (A) 及高身白甲魚 (B) 染色體銀染結果 (箭頭處為 NORs 的位置)

高及操作便利的優點，也廣泛應用於魚類遺傳研究上。在魚類基因組裡，核糖體 DNA 多基因家族 (5S 和 18S rDNA) 具有重複性 DNA 排列的特性，最常被作為探針使用，其核苷酸位置分布於端粒、著絲粒和性染色體上。本研究將臺灣白甲魚和高身白甲魚的

rDNA 選殖後定序，其 5S rDNA 片段大小分別為 215 bp (G + C 比率 = 51.9) 和 202 bp (G + C 比率 = 52.9)。自 NCBI 基因庫以 BLAST (Basic Local Alignment Search Tool) 搜尋 5S rDNA 相似度高的物種，包括黃鰭結魚 (*Tor putitora*)、兔脂鯉屬 (*Leporinus elongates*)、薄唇魮 (*Liza ramada*) 和舌齒鱸 (*Dicentrarchus labrax*)，序列全長平均相似度為 75%，之後加入點帶石斑 (*Epinephelus coioides*) 以 BioEdit 軟體比對 5S rDNA 轉錄區中，在前半段約 99 bp 的序列，顯示在魚類中具有高度保守性，而非轉錄區序列則具高度變異性。

另製備 5S rDNA 探針，並分別與兩個白甲魚屬物種的染色體進行雜合作用，結果顯示兩者皆出現一對螢光訊號，臺灣白甲魚的 5S rDNA 基因座位於著絲粒 (pericentromeric) 上，而高身白甲魚是近端點中結 (st) 的染色體上 (圖 5)。只帶有一對 5S rDNA 條帶的染

色體特性是此類魚種的一個祖徵，但也有一些物種被發現具有多個 5S rDNA 位點，例如鯉科魚類的巨口鱮 (*Acheilognathus tabira*) 和鯉魚 (*Cyprinus carpio*)。

結語

本研究結果顯示，臺灣白甲魚和高身白甲魚共同的特徵為染色體數目相同 ($2n = 50$)，染色體臂數皆為 82，但在核型公式上則有所差異。另外，Ag-NOR 分析結果得知，該二魚種分別具有 2 對和 1 對 NOR 位置，顯示 Ag-NOR 是好的細胞遺傳學標記。將兩者 5S rDNA 進行選殖、定序後，經由螢光原位雜合技術鑑定 5S rDNA 染色體對數，兩者間沒有差異，但臺灣白甲魚染色體雜合位置在著絲粒上，而高身白甲魚則是位於近端點中結。上述之細胞遺傳學相關結果，可提供往後在白甲魚屬或鯉科魚類分類上之參考。

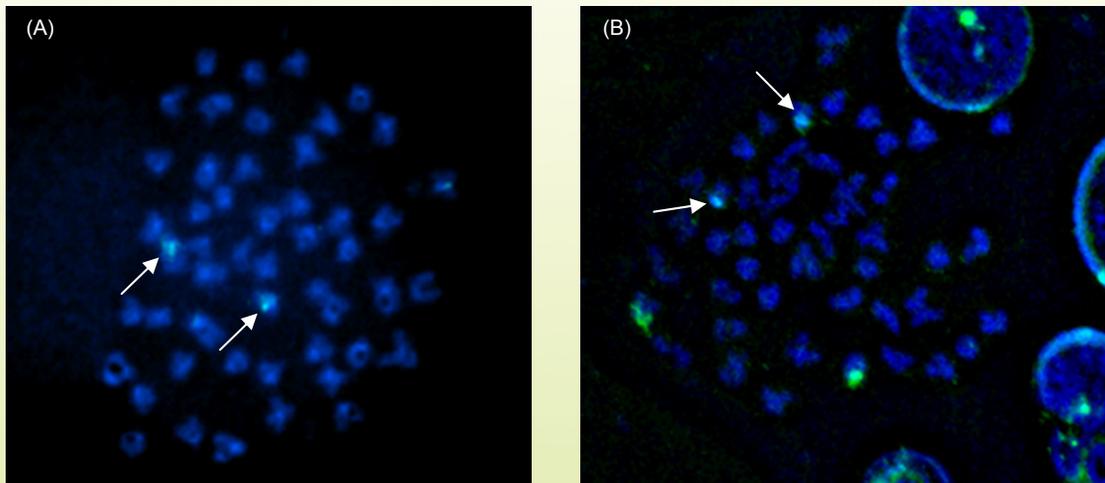


圖 5 臺灣白甲魚 (A) 及高身白甲魚 (B) 染色體應用 5S rDNA 探針之螢光原位雜合結果 (箭頭處為雜合位置)