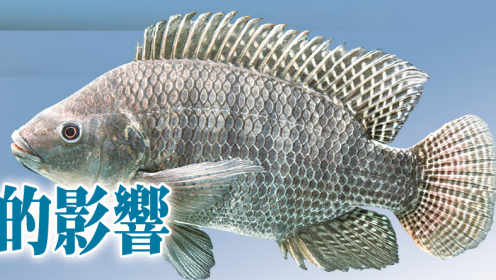


水溫對尼羅吳郭魚性別決定的影響



王俐文、張凱傑、陳建彰、蘇慧敏、陳榮華

水產試驗所淡水繁養殖研究中心

前言

吳郭魚為臺灣重要的經濟魚種，具有成長快速、雜食性、繁殖力高、對環境適應力強等優點，不僅普及國內市場，也是臺灣的重要外銷水產品，甚至具有臺灣鯛的響亮稱號。各品種的吳郭魚中，尼羅吳郭魚 (*Oreochromis niloticus*) 成長快速、體型大，而成為育種研究的主要品種。尼羅吳郭魚的性染色體系統是 XX/XY 系統，在自然的情況下，XX 為雌性，XY 為雄性，一般雄魚體型較雌魚大，生長速度約為雌魚的兩倍，但吳郭魚早熟多產的特性，雌雄混養時會產生子代，造成密度過高、生長停滯、魚隻大小不一以及飼料浪費等問題，因此單雄性魚苗為養殖業者一直以來追求的目標，故吳郭魚的育種研究集中於提高雄性率及探討性別決定機制。

本中心經多年選育，已培育出超雄性尼羅吳郭魚 (性染色體為 YY)，用於量產高雄性比例尼羅吳郭魚，利用超雄性 YY 尼羅吳郭魚，與一般雌性尼羅吳郭魚 (XX) 配對，以生產性染色體全為 XY 的高雄性子代。為了能持續生產超雄性 YY 吳郭魚，種魚的保種存續顯得格外重要，而維持超雄性品系的最佳方式就是使用超雄性雄魚 (YY♂) 與超雄性變性雌魚 (YY△♀) 交配，即能生產全

為超雄性的子代 (YY♂)，而不需要重複篩選子代的性染色體基因型；同樣地，為了穩定生產 XX 種魚，可利用變性雄魚 (XX△♂) 與雌魚 (XX) 交配，產生 XX 的子代而不需要篩選子代性染色體。超雄性變性雌魚 (YY△♀) 與 XX 變性雄魚 (XX△♂) 的需求突顯出吳郭魚變性技術的重要 (圖 1)。

吳郭魚變性的方法大致可分下列四種：(1) 餵食雌性激素或是雄性激素；(2) 利用芳香酶抑制劑 (Aromatase inhibitor)，抑制雌激素的生成，使魚隻性別分化為雄性；(3) 藉由分子生物技術，將性別分化相關的基因抑制或剔除；(4) 改變環境條件，如水溫。其中，改變環境條件或是處理藥物，都需要在稚魚性別分化前開始處理。

影響魚類性別的環境因子包括 pH、養殖密度、溫度、鹽度等，目前已知養殖密度及鹽度對吳郭魚的性別決定影響不大，而早期發育時環境高溫則會影響吳郭魚的性別，臨界溫度為 34℃。此種因為環境溫度變化造成子代性別比例改變之敏感性，被稱作感溫性 (thermosensitivity) 性別決定，感溫性高的魚類，在一定的溫度變化下，性別比例的改變也會越高。尼羅吳郭魚感溫性的研究約始於 1990 年代，從性染色體組合是否有差異，到親代種魚影響、個體差異、可能的訊息傳遞路徑及相關的基因等，各方學者嘗試歸納出

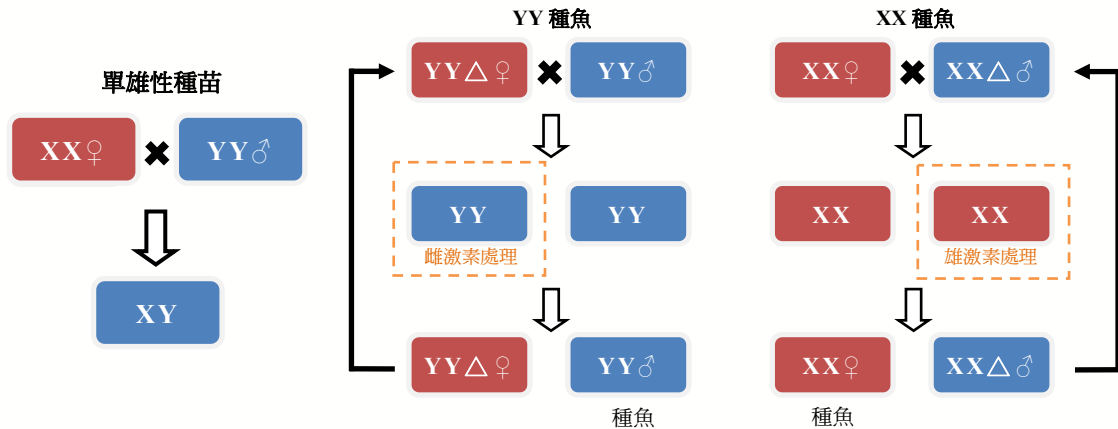


圖 1 單雄性(XY)吳郭魚種苗生產示意圖 (左為單雄性種苗生產，為 XX 雌魚與 YY 雄魚配種，產生全 XY 的子代；右為種魚持續生產及保種方式；△代表性別轉變)

感溫性的特性，以及試圖釐清吳郭魚的性別決定機制。近代研究多以基因分析為主，然而到目前為止，尚無法確認控制感溫性關鍵基因，此外，針對超雄性尼羅吳郭魚感溫性相關文獻並不多。因此，本文主要探討水溫對於尼羅吳郭魚性別決定的影響。

高水溫對於尼羅吳郭魚具有性別逆轉的功能

不同性染色體的尼羅吳郭魚，在孵化後連續一個月給予高水溫 ($\geq 34^{\circ}\text{C}$) 環境，可能會導致性別轉變。Baroiller and D'Cotta, (2000) 指出，高水溫會造成 YY 雄性率降低及 XX 雄性率提高，然而高水溫對 XY 魚具有雌性化或雄性化效果尚有分歧，有部分文獻認為高水溫會使 XY 基因型的吳郭魚維持高比例的雄性率，但也有文獻認為高水溫造成 XY 基因型吳郭魚雄性率降低 (Abucay, 1999)。推測高水溫具有讓吳郭魚性別轉變的功能，能夠使原本應表現雄性的 XY、YY 雌性

化，而讓原本是雌性的 XX 基因型吳郭魚雄性化。另外自然情況下混和性別的群體 (XX + XY) 在高水溫環境下培育，可以使整體的雄性率上升 (Baroiller, 2009)。

感溫性性別決定與性染色體基因型 (XX、XY、YY) 研究

根據學者 Abucay 1999 年在菲律賓做的實驗，以基因型分組，於尼羅吳郭魚苗孵化後在高水溫下養殖，可以造成其性別比例改變。實驗對象包含四個品系的尼羅吳郭魚：Egypt-Swansea (埃及-斯旺西，簡稱 ES)，Egypt-ICLARM (埃及-國際水生生物資源管理中心，簡稱 EI)，Ghana-BFAR (迦納-漁業和水生資源局，簡稱 GB) 和 Kenya-Turkana (肯亞-圖爾卡納郡，簡稱 KT)，四個品系皆來自菲律賓中央呂宋州立大學淡水養殖中心，將其分別自交或雜交，產生子代作為實驗對象，並且控制子代的性染色體全為 XX、全為 XY 或全為 YY。其實驗方法為，將種魚

放入配對槽後，每隔 7 天蒐集魚卵或魚苗，在一般水溫 $29.77 \pm 0.26^{\circ}\text{C}$ 及高水溫 $37.04 \pm 0.49^{\circ}\text{C}$ 當中培育 21 天。

其中 XX 基因型的實驗組別有 ES、EI 及 GB 等品系自交，以及各品系雜交，高水溫處理下，雄性率大多數提升了 30—40%，甚至在 KT 及 ES 雜交組中，最高可提升雄性率 80%；不過在 EI 純品系中，雄性率只上升了 10—20%，甚至四組中有一組的雄性率沒有改變。XY 基因型的實驗組別中 ES 純品系及 ES、EI 雜交品系在高水溫處理下，約有 1/3 組別的雄性率下降，2/3 組別的雄性率維持不變，但 EI 純品系及 EI、GB 雜交品系子代，雄性率在常溫及高水溫下沒有差別。在 YY 基因型的組別中，ES 純品系的 13 組子代在高水溫的處理下有 11 組的子代雄性率顯著的降低 10—90%；然而在 ES、EI 雜交的 10 組子代中，高水溫處理後雄性率卻沒有明顯下降，其中 8 組別不論在高水溫中或是常溫下都維持接近 100% 的雄性率。

針對感溫性較高的 ES 品系分組實驗，在 XX 基因型的吳郭魚中，高水溫會造成子代雄性化，也就是雄性比例會提升，對照組的雄性率由 20.19% 上升為 37.27%。然而在 YY 當中卻反而會造成雌性化，雄性率由 100% 下降為 7.62%。而在 XY 基因型的部分，高水溫會使部分吳郭魚有雌性化的效果 (Abucay et al, 1999) (圖 2)。

感溫性性別決定之個體差異研究

根據 Baroiller 在 2001 年整理先前的研究後提出的假設，感溫性在不同品系吳郭魚間

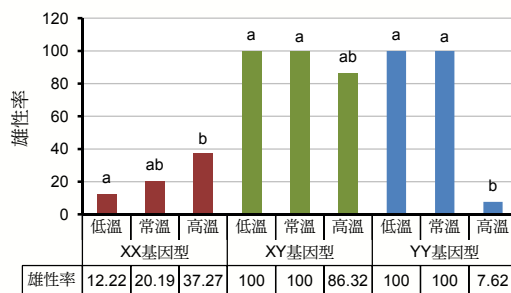


圖 2 高水溫、常溫、低溫對於埃及-斯旺西 (Egypt-Swansea) 品系尼羅吳郭魚的性別比例之影響 (Abucay et al., 1999)

具有高變異性，表示感溫性可能在基因的控制下作用。實驗使用 4 尾雄魚及 4 尾雌魚全互交產生 16 組子代後，蓄養於一般水溫 (27°C) 及高水溫 (35°C) 下，其結果經統計後可以歸納出三個特性：(1)一般水溫下，16 組種魚配對之子代性別比例沒有顯著差異，同一雄魚和不同雌魚交配生產的子代，性別比例差異不大；同一雌魚和不同雄魚交配生產的子代亦然；(2)在一般水溫下，同一對種魚先後生產的三組子代，性別比例非常一致；在高水溫處理下，雄性率增加的比例也相近；(3)高水溫處理後，16 組子代雄性率變化差異極大，只有一隻雄魚與不同雌魚的 4 組子代，雄性率皆有顯著上升，但並沒有任何一尾雌魚的全部子代有這樣的現象。這表示感溫性在同一種魚的子代中具有再現性，感溫性個體差異程度不同，且有來自父系的親代效應，可能存在父系決定的感溫性基因，推測遺傳因子與環境因素是相互影響的。

具高溫條件的吳郭魚野生棲地

野生尼羅吳郭魚的棲地包含某一些四季分明或是特殊地理環境的地方，因此在自然

環境下也可能出現影響吳郭魚性別決定的高水溫環境，例如埃及北部及西非的亞熱帶地區，其夏季高水溫可達 28–34°C，冬季溫度約 22–26°C；特殊地形像是高山湖泊則是長期低溫 (17–24°C)，相對也有長年高水溫約 40°C 的地熱溫泉區。蒐集這些棲地的野生種吳郭魚子代進行實驗，在常溫下，其雄性率在 50% 上下，以 36°C 高水溫處理後，稚魚的雄性率皆顯著提升至 70–80%，表示野外吳郭魚族群的性別比例也是會受到溫度影響 (Baroiller, 2009)。而另外野生的吳郭魚子代在高水溫處理的實驗結束後，除了少數從未孵化即開始以高水溫處理的實驗組存活率在 50% 以下，多數的高水溫處理組存活率約在 87–96%，由此可知 34–38°C 的高水溫下，吳郭魚依然能夠正常的生存。

尼羅吳郭魚的感溫性性別決定相關基因

近年分子生物技術逐漸應用於農業或養殖選育，各方的研究者均嘗試找出高水溫是透過何種調控途徑來影響尼羅吳郭魚性別。透過觀察性別決定時期的相關基因 (即精巢或卵巢分化基因) 表現量，可以得知高水溫影響那些基因表現。

將高水溫處理的 XX 尼羅吳郭魚 (發育為雄性) 基因表現，與常溫下一般 XY 雄魚或 XX 雌魚相關基因表現相對照，發現常溫下的吳郭魚，其性別分化基因在受精後 5–9 天即開始作用，而高水溫的 XX 吳郭魚則是在 15 天左右才開始表現 (Baroiller, 2009)。如圖 3 所示，在一般情況下，抗穆勒氏荷爾

蒙基因 (anti-Müllerian hormone gene, *amh*) 和轉錄因子 *dmrt1* 基因 (doublesex-and mab-3-related transcription factor 1, *dmrt1*) 在雄性精巢發育時，表現量會上升；轉錄調節因子 *foxl2* 基因 (forkhead transcriptional factor, *foxl2*) 及卵巢型態芳香酶基因 (cytochrome P450, family 19, subfamily A, polypeptide 1a, *cyp19a1a*) 則是在卵巢發育時表現量上升。然而 XX 基因型吳郭魚，在高水溫下，其 *amh* 和 *dmrt1* 等精巢發育基因表現量上升，且 *dmrt1* 的表現量在受精後 20 天達到一般 XY 雄性的 3 倍；卵巢發育基因 *cyp19a1a* 雖是持續表現，但不像一般的 XX 雌魚會持續上升且在 17–19 天時有一個高峰；至於 *foxl2* 的表現量，在 17–19 天時即開始下降。XX 雄魚 *foxl2* 及 *cyp19a1a* 的表現量下調時，剛好是精巢發育基因 *dmrt1* 大量表現的時候，因此在性別分化時期的基因調控，有助於精巢發育，提高雄性比例 (Poonlaphdecha, 2013)。至於 YY 基因型吳郭魚早期發育時，性別決定相關基因表現的變化，目前尚未有相關的研究文獻。

結論

由上述可以發現，水體溫度在不同性染色體系統、不同個體或品系間，能影響性別的轉換。尼羅吳郭魚的性別由主要遺傳因素 (性染色體 X、Y)，次要遺傳因素 (性別相關基因) 及環境因素等三種決定機制所控制 (圖 4)。最早認為是性染色體 X、Y 決定尼羅吳郭魚性別，但就算是已經透過配種生產了 100% 基因型為 XY 的尼羅吳郭魚子代，也

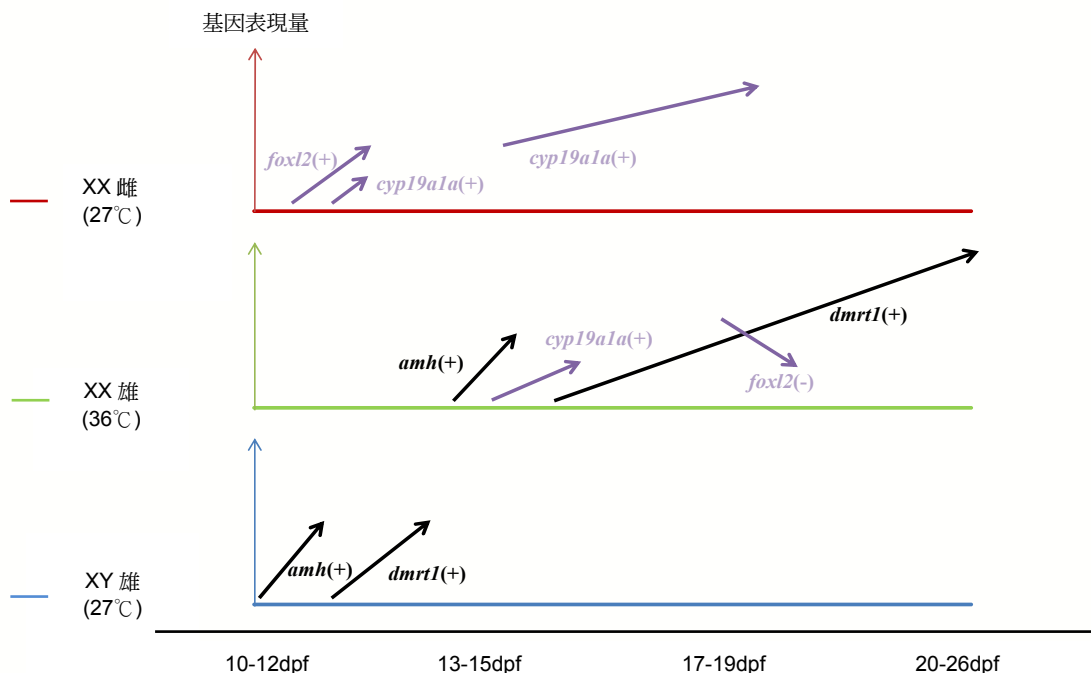


圖 3 高水溫處理之 XX 基因型雄魚、XX 雌魚及 XY 雄魚，早期發育精卵巢發育相關基因的表現示意圖，加號代表表現量上升，減號代表表現量下降，箭頭位置代表基因開始表達、開始上升或開始下降的時間點。紫色箭頭為卵巢發育基因，黑色箭頭為精巢發育基因，dpf (days post fertilization) 為受精後天數 (Poonlaphdecha, 2013; Baroiller, 2009)

不一定全為雄性。因此在控制染色體基因型之外，還需要篩選出性別決定的關鍵基因座作為選育條件，才能產生接近 100% 雄性率的子代。然而環境溫度也參與決定吳郭魚的性別，且感溫性性別決定也具有個體差異，可能在遺傳基因的前提下作用。尼羅吳郭魚的性別在三方的影響下，可以說是相當複雜，但感溫性性別決定提供了一個操作單純甚至接近自然棲地條件的方法，可作為尼羅吳郭魚早期性別控制的窗口。

以溫度控制性別轉換相較於前述其他三種方法具有以下項優點，包含活存率高、成本低及降低食品安全疑慮等，高水溫控制性別方式利於尼羅吳郭魚 XX 雄性品系及超雄

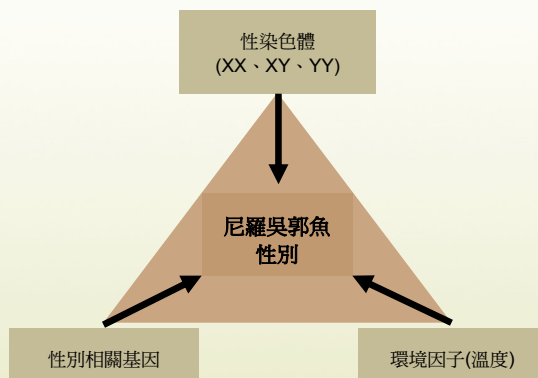


圖 4 尼羅吳郭魚的性別決定因子

性品系的維持，可達到穩定生產全 XX 子代或超雄性種魚的目的。而找出感溫性相關的基因，以及建立高感溫性品系的尼羅吳郭魚，都是未來可以研究的方向。