

尼羅吳郭魚性別決定之研究

張格銓^{1*} · 陳榮華¹ · 黃瀛生¹ · 張芸溶¹ · 劉富光²

¹行政院農業委員會水產試驗所淡水繁養殖研究中心

²行政院農業委員會水產試驗所

摘 要

本研究應用吳郭魚遺傳連鎖圖譜 (linkage map)，以微衛星分析兩個品系共五對尼羅吳郭魚及其子代之性別決定相關之連鎖族群 (linkage group, LG)，試驗一共篩選出六個微衛星基因座 (UNH995、GM258、UNH168、GM354、UNH216 及 UNH898，分別位於 LG1、LG3 和 LG23) 進行基因型分析。結果顯示，三組配對之尼羅吳郭魚 (N₁-1、N₁-2 與 N₂-2 家系) 的性別決定與 LG23 等二個基因座標誌 (UNH216 及 UNH898) 有相關性 ($p < 0.05$)，顯示尼羅吳郭魚的性別決定受到 LG23 所影響。根據試驗結果，可推測 N₁-1 與 N₁-2 家系的性別決定系統為 XX-XY。進一步分析 N₁ 子代在 LG23 的基因型，發現 UNH216 之對偶基因型 D 和 UNH898 之對偶基因型 E 在雄性之決定有關聯性。因此，本研究初步確認雄性決定之遺傳標誌，未來可應用於全雄性尼羅吳郭魚之遺傳育種與改良工作。

關鍵詞：尼羅吳郭魚、遺傳連鎖圖譜、微衛星基因座、性別決定

前 言

全世界的吳郭魚類超過 70 種，跨越了 3 個屬 (*Oreochromis*、*Sarotherodon* 與 *Tilapia*)，主要分布於非洲與中東等地，在演化上已有 500 萬年以上的歷史 (Trewavas, 1983)。FAO 最新的統計資料顯示，2015 年全球養殖吳郭魚年產量已超過 567 萬噸，相較於 10 年前 (2006 年) 的 227 萬噸，成長 2.5 倍 (FAO, 2017)。其中，養殖尼羅吳郭魚 (*Oreochromis niloticus*) 2015 年產量高達 393 萬噸，名列世界第 4 大高產魚種，顯示尼羅吳郭魚是相當重要的養殖魚種。

尼羅吳郭魚最早於 1966 年由日本引進 (N₁ 品系) 至臺灣，體色呈黃棕色，體側具垂直斑紋，頭之背部外廓呈凹形，口小唇發育良好，眼呈紅色，喉部呈淺黃褐色，亦有呈淡紅褐色者，背鰭及臀鰭之軟條具有許多褐色條紋，尾鰭尚有 10 - 15 條之垂直條紋。相較於 2002 年從泰國引進的尼羅吳

郭魚 (經選育後定義為 N₂ 品系)，N₂ 品系的體色較 N₁ 品系暗深，而且有體型大、生長快速等優點，是近年來的吳郭魚育種研究之重點。

吳郭魚的養殖通常是以單性養殖 (全雄性) 的方式，主要是為避免雌魚發生早熟與繁殖，以免影響放養魚隻之成長。目前臺灣坊間販售的全雄性魚苗，雄性比率大約只有 8 至 9 成，未能達到完全是雄性養殖，因此，吳郭魚苗在雄性的操控及研究上仍有很大的進步空間。水產試驗所淡水繁養殖研究中心 (以下簡稱淡水中心) 近年來先完成尼羅吳郭魚 (N₂) 的選育後，再研發快速成長品系 (*O. niloticus* × *O. aureus*, N₂A)。N₂A 結合成長佳和高比例雄性率等特色，是適合推廣的品系 (陳等, 2008)。最新育種成功的品系為遺傳雄性尼羅吳郭魚 (或稱 YY 超雄性吳郭魚)，該品系主要是操控尼羅吳郭魚的雄性決定染色體，經過投餵變性飼料與數次的子代試驗，最終獲得雄性的 YY 尼羅吳郭魚，若該種魚與正常的雌性種魚交配，理論上可生產全雄性 (XY) 的子代 (陳等, 2013)。

在吳郭魚性別系統的研究上，染色體在性別決定上之影響最大，但一些未知的遺傳因子與環境因素也會影響性別 (Baroiller *et al.*, 2009)。國外

*通訊作者彰化縣鹿港鎮海埔里 106 號, TEL: (04) 777-2175; FAX: (04) 777-5424; E-mail: glenn@mail.fwlk.tfrin.gov.tw

的報告也指出不同種系吳郭魚之性別決定會受到多個遺傳連鎖群 (linkage group, LG) 上基因的影響，其中 Cnaani *et al.* (2008) 指出吳郭魚的性別遺傳主要取決於 Lee *et al.* (2005) 所繪製之吳郭魚連鎖圖譜的 LG1 與 LG3，其中尼羅吳郭魚和莫三比克吳郭魚 (*O. mossambicus*) 的性別決定主要受到 LG1 影響，歐利亞吳郭魚則與 LG3 有關。此外 Eshel *et al.* (2011) 則發現 LG23 對尼羅吳郭魚的雄性決定有顯著的影響力。另外，Zhu *et al.* (2016) 發現賀諾奴吳郭魚 (*O. hornorum*) 的雌性決定與 LG3 的 UNH168 相關。近年來，淡水中心的研究人員也利用微衛星等分子標誌，確認歐利亞吳郭魚 (*O. aureus*) 的性別決定區位於 LG3 (張等, 2014)。

臺灣最早於 1946 年從南洋引進莫三鼻克吳郭魚，之後陸續引進多個品種，其中尼羅吳郭魚是成長最快速，在育種上是首要的選擇。雜交品系是臺灣目前的主要養殖種類，但在成長上的比較上，尼羅吳郭魚明顯的優於雜交品系 (陳等, 2008)。近來育種成功的遺傳雄性尼羅吳郭魚有可能逐漸取代雜交品系，因此進一步研究尼羅吳郭魚的雄性遺傳是有必要的。淡水繁養殖研究中心近年已成功利用微衛星方法進行五種品系吳郭魚之鑑別 (張等, 2010) 與性別決定研究 (張等, 2014, 2016)。由於保存的尼羅吳郭魚 (N_1 品系與 N_2 品系) 的品系純度較穩定，皆可做為研究性別之試驗魚種。若確認尼羅吳郭魚的性別系統與遺傳模式，則能嘗試以分子標誌進行輔助育種，對未來吳郭魚之改良研究將有很大的助益。因此本研究進行尼羅吳郭魚一對一自交，再將魚苗培育至適當體型以便由生殖孔判斷性別，另參考遺傳連鎖圖譜 (Lee *et al.*, 2005)，進行微衛星標誌分析尼羅吳郭魚性別決定相關區域 (LG1, LG3 與 LG23)，以瞭解其性別系統。

材料與方法

一、試驗魚種

尼羅吳郭魚之種原 N_1 品系與 N_2 品系皆長期妥善保存在淡水繁養殖研究中心，本研究係自保種池隨機挑選成熟的尼羅吳郭魚，以一對一的配對方式使其分別自交繁殖，繁殖期間水溫為 26 - 30°C，本試驗計有二對 N_1 品系尼羅吳郭魚與三對

N_2 品系尼羅吳郭魚產出子代，分別標記為 N_{1-1} 、 N_{1-2} 、 N_{2-1} 、 N_{2-2} 與 N_{2-3} 等家系。對於產出子代的親魚，立即採樣少許之臀鰭組織，子代則以商業性飼料飼養至性成熟，以人工方式由生殖孔判斷性別後，同樣採取少許的臀鰭組織，以利後續試驗進行。

二、試驗方法

(一) DNA 全液萃取

將臀鰭組織以 MasterPure DNA Purification Kit (Epicentre, USA) 萃取 DNA 後，以 NanoDrop 2000 核酸分析儀 (Thermo, USA) 測定濃度後保存於 -20°C 冰箱備用。

(二) 微衛星 DNA 之增幅

主要選取 6 個微衛星基因座 (Table 1) 作為分子標記，將各個引子對 (primer pairs) 分別與親魚樣本之 genomic DNA 進行 PCR 反應，forward primers 用 FAM 或 HEX 螢光作標記 (Table 1)。PCR 反應試液包含：genomic DNA (25 ng/ μ l) 1 μ l，10 μ M forward-primer 1 μ l，10 μ M reverse-primer 1 μ l，Thermo Hot Starr PCR Mastermix (2X) 12.5 μ l 及無菌水 9.5 μ l，總體積 25 μ l，置於 MyCycler thermal cycler (BIO-RAD, USA) 進行增幅；增幅條件為：denature (94 °C, 30 sec)，annealing (不同引子對之適當溫度, 30 sec)，extension (72 °C, 30 sec)，經過 30 次循環後，降至 4 °C 終止反應。反應結束後取 10 μ l 進行 DNA 洋菜電泳來檢驗 DNA 產物是否存在。

(三) 基因型分析 (Genotyping)

將在電泳膠片上有反應之微衛星 DNA 產物，委託定序公司實施基因型分析。使用 GeneMapper 4.0 分析各基因座之對偶基因型，以人工校對方法彙整各基因座之多型性資訊，再分別將各基因座之對偶基因型由小至大排列，分別用 A - G 等符號表示。

三、統計分析

初步評估各子代遺傳型是否符合分配率，再檢查是否與性別遺傳相關，而後將對偶基因型與

Table 1 Characteristics of the six microsatellite DNA loci

Locus	Primer sequence(5'-3')	Anneal(°C)	Fluorescent dyes labeling on the forward primer	Linkage group
UNH995	F: CCAGCCCTCTGCATAAAGAC R: GCAGCACAACCACAGTGCTA	55	FAM	1
GM258	F: CCTTCACCTCCACCACTTTCT R: AGATCGAACGTCGTCCTCTG	54	HEX	1
UNH168	F: TAAGAAGGTTAGAAAGAAAGTG R: TATATAATAATTTCTAAACGGC	47	FAM	3
GM354	F: CGGGAGAGCAGGTCAG R: CACGTTCAAGGTTACTGTGTT	52	HEX	3
UNH216	F: GGGAAACTAAAGCTGAAATA R: TGCAAGGAATATCAGCA	44	FAM	23
UNH898	F: GATGTCCCCACAAGGTATGAA R: TAATCCACTCACCCCGTTTC	52	FAM	23

Table 2 Reproduction results of the N₁-1 family. Four loci were selected to analyze genotyping and its relationship with the sex of the offspring

Locus	LG	Maternal haplotype	Paternal haplotype	Haplotypes in offspring	Number of female offspring	Number of male offspring	Chi square test
GM354	3	C / D	C / D	C / C	5	7	$p > 0.05$
				C / D	7	15	
				D / D	6	7	
UNH168	3	D / E	D / E	D / D	5	7	$p > 0.05$
				D / E	8	15	
				E / E	5	7	
UNH216	23	A / A	A / D	A / A	18	9	$p < 0.001$
				A / D	0	20	
UNH898	23	G / G	E / G	E / G	0	20	$p < 0.001$
				G / G	18	9	

性別之相關性進行卡方分析 (Pearson Chi square test), 並以 p 值大小表示顯著程度, 用以區別各不同基因座與性別相關性之差異。

結 果

在基因座選擇方面, 係參考 Cnaani *et al.* (2008) 與 Eshel *et al.* (2011) 的試驗, 在 LG1 選擇了 UNH995、GM201、UNH148、GM258、UNH104 與 UNH868 等六個基因座標誌, LG3 則選 GM354、UNH168、GM204、GM271、GM180、UNH131 及 CLCN5 等七個基因座標誌, 另外於 LG23 選了 UNH898 和 UNH216 等二個基因座標誌。再根據

各家系親魚之基因型進行初步篩選, 簡化成以 5 - 7 個基因座來進行試驗分析, 但結果顯示仍有少數基因座不適合進一步分析, 例如 UNH995 在 N₁ 的二個家系的親代遺傳型皆為同型合子, 其他如 UNH216 在 N₂-3 的親代遺傳型也是同型合子, 皆不宜進行子代基因型分析。在綜合考量下, 試驗共篩選六個較具多型性的基因座標誌 (UNH995、GM258、UNH168、GM354、UNH216 及 UNH898) 進行子代基因型分析 (Table 1)。經試驗分析, 每個基因座皆有 5 - 7 型對偶基因 (Table 2 - 6), 顯示這些基因座在尼羅吳郭魚都具有遺傳多樣性。

二對 N₁ 品系尼羅吳郭魚分別產生子代 49 尾與 147 尾, 三對 N₂ 品系尼羅吳郭魚皆產出超過千

Table 3 Reproduction results of the N₁-2 family. Five loci were selected to analyze genotyping and its relationship with the sex of the offspring

Locus	LG	Maternal haplotype	Paternal haplotype	Haplotypes in offspring	Number of female offspring	Number of male offspring	Chi square test
GM258	1	E / E	A / E	A / E	20	16	$p > 0.05$
				E / E	22	27	
GM354	3	C / D	C / D	C / C	21	14	$p > 0.05$
				C / D	15	22	
				D / D	7	6	
UNH168	3	B / E	B / E	B / B	7	6	$p > 0.05$
				B / E	15	23	
				E / E	20	14	
UNH216	23	A / A	A / D	A / A	35	3	$p < 0.001$
				A / D	7	40	
UNH898	23	G / G	E / G	E / G	5	41	$p < 0.001$
				G / G	37	2	

Table 4 Reproduction results of the N₂-1 family. Six loci were selected to analyze genotyping and its relationship with the sex of the offspring

Locus	LG	Maternal haplotype	Paternal haplotype	Haplotypes in offspring	Number of female offspring	Number of male offspring	Chi square test
UNH995	1	B / C	C / E	B / C	17	2	$p > 0.05$
				B / E	16	4	
				C / C	21	4	
				C / E	23	1	
GM258	1	C / D	C / F	C / C	18	3	$p > 0.05$
				C / D	19	2	
				C / F	22	2	
				D / F	18	4	
GM354	3	A / E	B / E	A / B	27	2	$p > 0.05$
				A / E	10	2	
				B / E	19	3	
				E / E	21	4	
UNH168	3	C / G	C / G	C / C	25	2	$p > 0.05$
				C / G	30	4	
				G / G	22	5	
UNH216	23	C / C	B / E	B / C	41	6	$p > 0.05$
				C / E	36	5	
UNH898	23	A / B	B / C	A / B	17	6	$p < 0.05$
				A / C	24	5	
				B / B	19	0	
				B / C	17	0	

尾子代，採樣則依外觀之生殖孔可判斷為原則，各組隨機採取 47 - 95 個樣本。試驗起初選擇前段所述的 15 組微衛星引子進行親魚的初步分析，之後篩選結果較好的 6 組微衛星引子進行子代試驗分析，再以卡方分析判斷各基因座與性別之相關性

(Table 2 - 6)。結果顯示三個家系 (N₁-1、N₁-2 與 N₂-2) 之性別決定與 LG23 的基因座標誌有顯著的相關性 ($p < 0.05$)，其中 N₁-1 和 N₁-2 家系之結果相似，在 UNH216 和 UNH898 的統計結果都非常顯著 ($p < 0.001$) (Table 2, 3)，N₂-2 在 UNH216 和

Table 5 Reproduction results of the N₂-2 family. Six loci were selected to analyze genotyping and its relationship with the sex of the offspring

Locus	LG	Maternal haplotype	Paternal haplotype	Haplotypes in offspring	Number of female offspring	Number of male offspring	Chi square test
UNH995	1	B / B	A / C	A / B	25	20	$p > 0.05$
				B / C	24	26	
GM258	1	C / C	B / G	B / C	28	19	$p > 0.05$
				C / G	21	27	
UNH168	3	C / F	A / C	A / C	9	9	$p > 0.05$
				A / F	17	13	
				C / C	10	14	
				C / F	13	10	
GM354	3	B / C	A / B	A / B	10	15	$p > 0.05$
				A / C	13	9	
				B / B	8	9	
UNH216	23	C / C	B / C	B / C	28	14	$p < 0.01$
				C / C	21	32	
				A / A	9	14	
UNH898	23	A / F	A / C	A / C	17	11	$p < 0.05$
				A / F	9	17	
				C / F	14	4	

UNH898 則有不同的顯著程度 (分別為 $p < 0.01$ 與 $p < 0.05$) (Table 5)。而在 N₂-1 家系則只有在 UNH898 表現顯著 ($p < 0.05$) (Table 4)，N₂-3 的結果無顯著差異 (Table 6)。此外，五個家系之性別決定皆與 LG1 和 LG3 無關 (Table 2 - 6)。

討 論

根據 Table 2 與 Table 3 之結果顯示，N₁ 二個家系子代之性別在 UNH216 與 UNH898 之對偶基因有相當明顯的相關性 ($p < 0.001$)，這個結果與 Eshel *et al.* (2011) 在 Swansan 品系尼羅吳郭魚的雄性遺傳研究相同，該篇報告認為 LG23 之 UNH898 微衛星標誌正好位於雄性相關對偶基因 (male-associated allele) *SOX14* 和 *AMH* 兩個基因附近。相較於 Swansan 品系的結果，本研究在 LG23 之 UNH216 的對偶基因型 D 與 UNH898 之對偶基

因型 E 同樣是雄性相關之遺傳標誌，在 N₁-2 的結果與 Swansan 品系的結果相似度較高。但在 N₁-1 的結果可以發現 (Table 2)，UNH216 與 UNH898 中不具有雄性遺傳標誌之對偶型 (UNH216 的 A/A 與 UNH898 的 G/G) 約有三分之一的子代仍是雄性，相較於 Eshel *et al.* (2011) 在 Swansan 品系的數據，不具雄性遺傳標誌的 N₁-1 子代之雄性比例較高，推測在 N₁-1 除 LG23 的 UNH216 與 UNH898 是主要的雄性遺傳標誌，應該還有其他的雄性決定因子存在。

Cnaani *et al.* (2008) 發現迦納品系與埃及品系的尼羅吳郭魚性別主要受到 LG1 之影響。本中心之 N₁ 品系尼羅吳郭魚源自於日本，雖然與迦納品系及埃及品系同樣是尼羅吳郭魚，但在性別決定的遺傳則受 LG23 影響，與前述二品系完全不同。相較於其他品種吳郭魚，例如歐利亞吳郭魚，其性別決定之遺傳連鎖群主要為 LG3 (Cnaani *et al.*,

Table 6 Reproduction results of the N₂-3 family. Four loci were selected to analyze genotyping and its relationship with the sex of the offspring

Locus	LG	Maternal haplotype	Paternal haplotype	Haplotypes in offspring	Number of female offspring	Number of male offspring	Chi square test
UNH995	1	C/D	C/F	C/C	14	12	$p > 0.05$
				C/D	9	10	
				C/F	6	20	
				D/F	11	13	
UNH168	3	A/D	C/F	A/C	12	11	$p > 0.05$
				A/F	8	12	
				C/D	14	16	
				D/F	13	9	
GM354	3	B/D	A/C	A/B	13	11	$p > 0.05$
				A/D	11	18	
				B/C	8	11	
				B/D	9	14	
UNH898	23	C/D	A/C	A/C	6	11	$p > 0.05$
				A/D	16	13	
				C/C	8	15	
				C/D	10	15	

2008; 張等, 2014), 另外還有莫三比克吳郭魚, 其性別決定與 LG1 相關 (Cnaani *et al.*, 2008)。在這些品種之中, 只有尼羅吳郭魚的性別決定可能受到 LG1 或 LG23 等影響, Eshel *et al.* (2011) 的研究指出, LG1 和 LG23 能共同影響尼羅吳郭魚的性別決定。本篇分析 5 個尼羅吳郭魚家系, 雖然其中 4 個家系之性別決定與 LG23 有不同的相關性 ($p < 0.05$), 但 N₂ 品系的結果較 N₁ 品系複雜且更難判斷, 顯示尼羅吳郭魚的性別決定的機制可能較歐利亞吳郭魚和莫三比克吳郭魚複雜。以 N₂-2 家系來說, 在 LG23 之性別決定有統計上的意義 (Table 5), 其中 UNH216 的顯著程度較大 ($p < 0.01$), 其子代之異型對偶遺傳 B/C 共計有 28 尾雌性子代與 14 尾雄性子代, 同型的對偶遺傳 C/C 則有 21 尾雌性子代與 32 尾雄性子代, 二型均有為數不少的雄性與雌性子代, 雖然統計上有一定的顯著性, 但推測 LG23 並不是影響該家系性別的主要因素, 應有其他未知的因子同時影響性別決定。

Table 4 為 N₂-1 在六個基因座的分析結果, 只有在 LG23 的基因座 UNH898 有發現在統計上有

顯著性 ($p < 0.05$), 但該家系在雌性與雄性子代的比例不均, 絕大多數的子代為雌性 (87.5%)。特別的是, UNH898 在子代之 B/B 與 B/C 二型完全沒有雄性, 換言之, 這些子代的 UNH898 基因型若有來自於母系的對偶基因型 B, 其性別必定為雌性, 因此可以推測 N₂-1 家系應存在雌性決定遺傳因子, 該遺傳特性有進一步的研究價值。因此, 將 N₂-1 子代進行簡單的數量性狀分析, 連鎖 UNH216 與 UNH898 並繪出簡單的遺傳連鎖族譜 (Fig. 1), 則可將雌性決定的遺傳連鎖特性獨立鑑別 (UNH216C-UNH898B)。

Table 6 則顯示三個遺傳連鎖群上的四個基因座在統計上沒有任何顯著性, 可推論該家系的性別決定並沒有與 LG1, LG3 或 LG23 相關, 其性別決定仍有更進一步的研究空間。

Baroiller *et al.* (2009) 認為吳郭魚性別會受到性染色體、親代因素或環境因子影響最終的性別決定, 以本試驗來說, N₁ 品系的兩個家系之性別決定主要受到性染色體 (LG23) 影響, 少部分的子代決定則不受 LG23 的約束。會造成這種結果的原因, 推測可能與品系差異、親代遺傳特性、環境

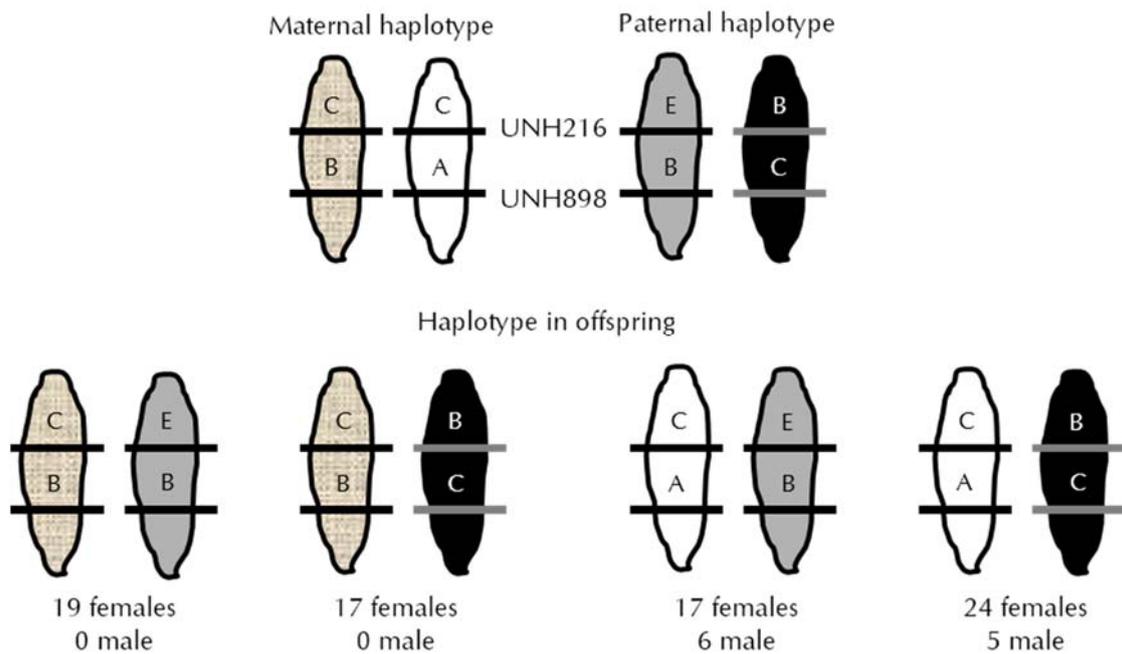


Fig. 1 Chromosomal combinations in the N_2-1 family. The inheritance pattern of two marker haplotypes (UNH216 and UNH898) on LG23 was examined. Alleles are marked by genotype.

因子或試驗挑選的基因座有關。以性別遺傳系統來看， N_1 品系應屬於雄性異型合子 $XX-XY$ 系統，UNH216 的基因型 D 與 UNH898 的基因型 E 可代表雄性決定的性染色體 Y。張等 (2016) 的研究發現 YY 尼羅吳郭魚雄性決定遺傳標誌，其試驗方法最終以群體交配來確認其雄性子代比例，而本篇只進行一對一的交配試驗，未來或可應用 N_1 品系之雄性決定遺傳標誌 (UNH216D-UNH898E)，嘗試進行群體交配，直接確認子代之雄性比例。

N_2 品系的結果發現，該品系的性別決定並不仰賴性染色體， N_2-1 很明顯的受到親代的遺傳特性影響，造成高比例的雌性子代； N_2-2 雖在 LG23 有統計上的意義，但對性別決定影響有限，顯示仍有其他的因子影響性別； N_2-3 則完全沒有統計上的差異，其性別決定機制可能更複雜。 N_2 的三個家系在性別決定的結果皆很特別，目前並沒有相關的文獻可以參考比較，但可以合理推測，因為該品系成長快，在引進前可能曾經過種間雜交育種之改良，使該品系混著多種不同的性別決定因子，增加了試驗分析的困難。

本試驗係針對淡水繁養殖研究中心所保存的

二個尼羅吳郭魚品系，以第二代遺傳連鎖圖譜進行微衛星基因座與其基因型的分析，結果顯示 N_1 尼羅吳郭魚的性別決定與遺傳連鎖群 LG23 有高度的相關性 ($p < 0.001$)，顯示二個家系的尼羅吳郭魚之性別主要仰賴染色體來決定，其中，初步確認一個雄性決定之遺傳標誌，未來可應用於全雄性尼羅吳郭魚之研究發展。另外， N_2 品系在尼羅吳郭魚性別決定較複雜， N_2-1 與 N_2-2 之性別決定在遺傳連鎖群 LG23 有統計上的相關性 ($p < 0.05$)，另初步發現 N_2-1 可能存在一個雌性決定之遺傳標誌，未來將進一步證實其遺傳特性。本研究未來可應用分子標誌輔助選育種 (marker-assisted selection) 協助品種改良工作之進行，試驗方法亦可應用在篩選成長、抗寒及耐鹽性等品系之研究。

謝 辭

本研究得以順利完成，承以色列吳郭魚專家 Gideon Hulata 博士在試驗設計上給予建議，特此表示謝意。

參考文獻

- 陳榮華, 蔡添財, 劉富光 (2013) 超雄性 (YY) 尼羅吳郭魚之選育及單雄性魚苗量產的應用. 水產研究, 21(2): 69-82.
- 陳榮華, 張湧泉, 張格銓, 劉富光 (2008) 吳郭魚雜交與自交系的成長比較—快速成長品系之研發. 水產研究, 16(2): 41-47.
- 張格銓, 張湧泉, 陳榮華, 劉富光 (2010) 利用粒線體 DNA D-loop 之 PCR-RFLP 分析鑑別吳郭魚雜交子代之母系遺傳研究. 水產研究, 18(2): 89-94.
- 張格銓, 張湧泉, 陳榮華, 劉富光 (2014) 歐利亞吳郭魚性別決定之研究. 水產研究, 22(2): 45-52.
- 張格銓, 黃瀛生, 張芸溶, 劉富光 (2016) YY 尼羅吳郭魚 (*Oreochromis niloticus*) 性別決定之研究. 104 年度臺灣水產學會會員大會暨學術論文發表會會議手冊, 359.
- Baroiller, J. F., H. D'Cotta, E. Bezault, S. Wessels and G. Hoerstgen-Schwark (2009) Tilapia sex determination: Where temperature and genetics meet. *Comp. Biochem. Physiol. A: Physiol.*, 153: 30-38.
- Cnaani, A., B. Y. Lee, N. Zilberman, C. Ozouf-Costaz, G. Hulata, M. Ron, A. D'Hont, J. F. Baroiller, H. D'Cotta, D. J. Penman, E. Tomasino, J. P. Coutanceau, E. Pepey, A. Shirak and T. D. Kocher (2008) Genetics of sex determination in Tilapiine species. *Sex. Dev.*, 2: 43-54.
- Eshel O., A. Shirak, J. I. Weller, T. Slossman, G. Hulata, A. Cnaani and M. Ron (2011) Fine-mapping of a locus on linkage group 23 for sex determination in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Animal Genetics*, 42: 222-224.
- FAO (2017) Fishery Statistical Collections - Global Aquaculture production (<http://www.fao.org/fishery/statistics/global-aquaculture-production/en>).
- Lee, B. Y., W. J. Lee, J. T. Streelman, K. L. Carleton, A. E. Howe, G. Hulata, A. Slettan, J. E. Stern, Y. Terai and T. D. Kocher (2005) A second-generation genetic linkage map of tilapia (*Oreochromis* spp.). *Genetics*, 170: 237-244.
- Trewavas, E. (1983) Tilapiine fishes of the genera *Sarotherodon*, *Oreochromis* and *Dankilla*. British Museum, London.
- Zhu, H., Z. Liu, M. Lu, F. Gao, X. Ke, D. MA, Z. Huang, J. Cao and M. Wang (2016) Screening and identification of a microsatellite marker associated with sex in Wami tilapia, *Oreochromis urolepis hornorum*. *J. Genetic*, 95(2): 283-289.

Sex Determination of the Nile Tilapia, *Oreochromis niloticus*

Ke-Chuan Chang^{1*}, Rong-Hwa Chen¹, Ying-Sheng Huang¹, Yun-Jung Chang¹
and Fu-Guang Liu²

¹Freshwater Aquaculture Research Center, Fisheries Research Institute

²Fisheries Research Institute

ABSTRACT

In this study, we applied genetic linkage mapping to analyze linkage groups (LG) related to sex determination in five Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) families and their offspring. Six microsatellite loci (UNH995 and GM258 on LG1; UNH168 and GM354 on LG3; UNH216 and UNH898 on LG23) were used for genotyping. The results showed that two microsatellite loci on LG23 (UNH216 and UNH898) were associated with sex determination ($p < 0.05$) in three Nile tilapia (N_1-1 , N_1-2 , and N_2-2 family), indicating that the sex determination in Nile tilapia might be influenced by LG23. Furthermore, the empirical results showed that the sex determination system in the N_1-1 and N_1-2 families was XX-XY. Analysis of the N_1 offspring for LG23 indicated that allele D on UNH216 and allele E on UNH898 were associated with male determination. Thus, this study preliminarily confirmed that the genetic markers associated with male determination could be useful for genetic selection and improvement of genetic male Nile tilapia.

Key words: *Oreochromis niloticus*, linkage map, microsatellite loci, sex determination

*Correspondence: Freshwater Aquaculture Research Center, Fisheries Research Institute, 106 Hai-Pu, Lukang 50562, Changhua, Taiwan. TEL: (04)7772175; FAX: (04)7775424; E-mail: glenn@mail.fwtk.frin.gov.tw