

水產種苗研究團隊－吳郭魚品系保存

張格銓、張湧泉、陳榮華、張素容、劉富光
淡水繁養殖研究中心

本試驗應用聚合酶連鎖反應－限制酶切割片段多型性 (PCR-RFLP) 技術鑑別淡水繁養殖研究中心保存的尼羅吳郭魚 (*Oreochromis niloticus niloticus* Linnaeus, 1758)、莫三比克吳郭魚 (*O. mossambicus* Peters, 1852)、歐利亞吳郭魚 (*O. aureus* Steindachner, 1864)、賀諾奴吳郭魚 (*O. urolepis hornorum* Trewavas, 1966) 以及斯皮路勒吳郭魚 (*O. spilurus spilurus* Günther, 1894) 等。

分別剪取各組試驗魚 (每組 32 尾) 之少許臀鰭組織，萃取基因組 DNA，以引子組 LN20 與 HN20 針對粒線體 D-loop 區進行 PCR 反應，將 PCR 產物進行定序後，登錄於 NCBI (美國國家生物技術資訊中心) 的 GenBank 資料庫

(表 1)。另外，各組 D-loop 序列以 DNASTAR Lasergene 軟體分析，得到完整的限制酶切割位置、片段多寡及長度。在經過人工比較後，選擇區別性高的三種內切限制酶 (*AcuI*, *BbsI* 及 *MspI*) 作為研究工具，根據這些內切限制酶對其切割位或切割片段長度的相異之處，鑑別五種吳郭魚 (表 2)。

本試驗利用 PCR-RFLP 技術，在短時間內透過 PCR 及限制酶切割反應，鑑別試驗物種。此方法一經確立後，可省去定序的操作，相當簡便，是研究粒線體遺傳的良好工具。未來可藉此技術判定雜交種母系，對種原庫吳郭魚的保種育種研究助益良多。

表 1 五種吳郭魚粒線體 D-loop 之序列資料 (不含引子部分)

魚 種	長 度	鹼基所佔比例(%)				A + T(%)	NCBI 索引號
		T	C	A	G		
<i>O. aureus</i>	968	32.9	21.3	32.1	13.7	65.0	EU430994
<i>O. u. hornorum</i>	961	33.4	20.4	31.6	14.6	65.0	EU308500
<i>O. mossambicus</i>	958	33.0	21.2	31.3	14.5	64.3	EU430997
<i>O. n. niloticus</i>	961	33.6	20.5	31.9	13.9	65.5	EU430996
<i>O. s. spilurus</i>	962	34.1	20.6	31.2	14.1	65.3	EU431000

表 2 以限制酶切割五種吳郭魚粒線體 D-loop 序列之片段數量與型式

限制酶	<i>O. aureus</i>	<i>O. u. hornorum</i>	<i>O. mossambicus</i>	<i>O. n. niloticus</i>	<i>O. s. spilurus</i>
<i>AcuI</i>	2 (429)	1	1	1	2 (741)
<i>BbsI</i>	1	1	1	2 (674)	1
<i>MspI</i>	2 (835)	2 (830)	3 (531, 827)	3 (534, 830)	3 (533, 831)