

台灣現生塘蝨魚種原之專一性隨機擴增片段 多形性 DNA (RAPD)研究

黃家富·彭弘光

竹北分所

台灣地處亞熱帶，島內多山，造成河川流短而急促；台灣擁有 70 餘種原生淡水魚，是世界單位面積裡淡水魚種類最高的區域之一。台灣淡水魚類之研究，多偏重於淡水食用魚種之繁、養殖及生態適應性等，且著眼於促進農業經濟發展，對種原的維護因缺乏認知與共識而被忽略，再加上人為的濫捕與經濟利益發展的心態驅使，引進大型同屬地外來種進行雜交，並在水資源缺乏保護與管理及河川水質的污染下，使原生種日趨滅絕。近年來，由於生物多樣性、生態保育及環境保護日益受到重視，種原之保育與研究日顯重要；有鑑於此，乃研擬一本土原生種淡水魚的長期種原保存計畫，首先針對台灣塘蝨魚 (*Clarias fuscus*, Lacepede 1803) 進行復育。

台灣塘蝨魚為本省經濟魚種之一，其後引進泰國塘蝨魚 (*C. batrachus*) 與非洲塘蝨魚 (*C. mossambicus*)，因非洲塘蝨魚與泰國塘蝨魚成長快、易飼養，故先後與台灣塘蝨魚進行雜交育種，希望獲得成長快、肉質佳的新魚種，尤其在 1978 年雌非洲塘蝨魚與雄台灣塘蝨魚在本所鹿港分所雜交培育成功後 (未發表)，即予廣泛地推廣，成為當時重要的養殖魚種，並在台灣

生根繁衍。台灣塘蝨魚之相關研究欠缺，除人工繁養殖之推廣資料外，在分類上形態形質之文獻資料均有差異，此乃研究者之主觀意識所致，故期能開發具專一性之隨機擴增片段多形性 DNA (random amplified polymorphics DNA, RAPD) 標記，找出客觀、適當且快速的方法，以進行現生塘蝨魚種原之快速鑑定，作為種原庫資訊與參考之用。

RAPD 技術是 Williams 和 Welsh 領導的 2 個科研小組，在 1990 年幾乎同時創立的一種 DNA 多形性的檢測技術，其原理係利用不同隨機排列的 10 個鹼基寡核苷酸單鏈為引子(primer)，以研究生物的 DNA 為模板(template)進行 PCR 擴增反應，依 PCR 產物的多形性進行遺傳分析。本研究以 John B. H. 設計之 RAPD primer oligonucleotide set no. 101~300 為引子進行試驗，結果有 49 組產生良好集中程度的 RAPD 模式，其中有 16 組引子具重複再現的模式，以此做種內族群分析，分別產生具專一性之 RAPD 模式，可作為台灣塘蝨魚、非洲塘蝨魚及泰國塘蝨魚之種原鑑定指標，亦可作為不同來源族群差異之依據。

表 1 16 組隨機擴增 DNA 片段引子 (RAPD primer) 之核苷酸序列與聚合酶連鎖反應條件

Primer no.	Primer sequence (5' → 3')	G+C (%)	Annealing temperature (°C)	MgCl ₂ conc. (mM)	DNA conc. (ng/L)
105	CTC GGG TGG G	80	58	1.5	5
106	CGT CTG CCC G	80	60	1.0	5
115	TTC CGC GGG C	80	58	1.5	5
149	AGC AGC GTG G	70	58	1.0	5
157	CGT GGG CAG G	80	58	1.0	5
158	TAG CCG TGG C	70	56	1.5	5
173	CAG GCG GCG T	80	58	1.0	5
174	AAC GGG CAG C	70	54	1.5	5
190	AGA ATC CGC C	60	56	1.5	5
196	CTC CTC CCC C	80	58	1.5	5
198	GCA GGA CTG C	70	56	1.5	5
210	GCA CCG AGA G	70	56	1.5	5
211	GAA GCG CGA T	60	56	1.5	5
218	CTC AGC CCA G	70	56	1.0	5
245	CGC GTG CCA G	80	56	1.0	5
287	CGA ACG GCG G	80	58	1.5	5