

吳郭魚性別決定之相關微隨體 DNA 標誌探討

朱惠真、曾福生、林金榮 摘譯

水產試驗所水產養殖組

動物的性別決定機制 (sex determination mechanism) 是多樣化的，很多物種的性別決定主要是受遺傳控制，只有少數物種是受到環境因子影響。目前已知的基因中，有許多是與性別演化相關的調控基因。在 20 世紀就已經證明人類的性別是由染色體所控制，就像其他的哺乳動物，人類有一種雄性異型配子之性別決定系統 (heterogametic males system)，即在人類的 Y 染色體上，具有雄性的性別決定基因 SRY。研究發現，SRY 基因屬於 XX-XY (heterogametic males XX-XY system) 系統的一員，同時也被認定是哺乳動物性別分化的起始基因之一，雖然不是決定性別的單一因子，卻在哺乳動物的性別扮演重要的角色。有些物種如鳥類，已知因不具 SRY 基因，有別於哺乳動物的 XY 性別決定系統，而是受體染色體 (autosome) 上的 WZ 母系遺傳系統 (heterogametic females WZ-ZZ system) 之影響來決定性別。有趣的是，銜接哺乳動物及鳥類之遺傳演化系統是存在的。例如鴨嘴獸 (duck-billed) 係屬於單孔有袋類之生物，其染色體是由 5 個 X 染色體及 5 個 Y 染色體所組成，X 染色體中有一個和人類的 X 染色體雷同，而另一個則和鳥類的 Z 染色體類似。母系遺傳系統除了鳥

類，也見於魚類和昆蟲 (如蝴蝶、蛾) 的性別分化上，在此系統雄性的表示方法為 ZZ，雌性的表示法為 WZ。染色觀察的結果，Z 染色體通常比其他染色體大。

硬骨魚類在性別演化上表現非常多樣 (Devlin et al., 2002)，其大部分是雌雄異體 (gonochorism)，也有一些是雌雄同體 (hermaphroditism)。若是先發育為雄性而後再發育成雌性者稱為先雄後雌型 (protandrous hermaphroditism)，絕大多數鱸形目 (Perciformes) 魚種屬於此型，如黑鯛、小丑魚；另一種是先發育為雌性再發育成為雄性，稱為先雌後雄型 (protogynous hermaphroditism)，如石斑魚 (Yamamoto et al., 1969)。魚類性別轉換除了是由於基因或環境因素而造成 (Devlin and Nagahama, 2002)，亦可能是為了獲得更有利的生殖策略，如黑鯛研究中發現其性轉變的原因是為了避免近親交配。黑鯛成長到第 3 年，約有 30—50% 雄性個體會自然轉變為雌性，其他性別未轉變者仍具有成熟精巢，少部分個體是精巢、卵巢共存，與雌魚交配的往往是出生 1 年及 2 年齡的不同親代產生的雄魚，如此可避免近親交配的情況產生 (杜，2004)。對大多數的魚種而言，是由性染色體決定性別

(Arkhipchuk, 1995)，性別的分化在魚苗早期就已經確立，不論是 XY 或 WZ 系統在演化上都具有很高的再現性。1964 年即有學者於魚類的體染色體基因座上找到了性別決定的基因 (Kosswing, 1964)，日本稻田魚 (Medaka) 的第一性別決定基因 (primary sex determination gene) 已完全被定序確立 (Matsuda et al., 2002; Nanda et al., 2001)。近年來，硬骨魚類其他性別決定之相關基因陸續被研究發現，例如 Dax-1、Dmrt-1、Sox 9 與 SF-1 等 (Manfred, 2004)，其中的 Dmrt-1 已確定和性腺及精巢的發育有關。

在吳郭魚的研究上，Tilapiine 族群有超過 70 種以上的品種，這些品種皆屬於鱸形目 (Perciformes)、慈鯛科 (Cichlidae)，主要來自於非洲和中東地區。根據 FAO 的統計資料，2007 年吳郭魚全球總產量將近 180 萬噸，顯見此魚種的重要性。因吳郭魚的成熟只需要數個月，為避免生殖影響成長，再加上雄魚的體型較大，因此於商業上的養殖主要以單雄性養殖為主。吳郭魚的性別決定基因之遺傳多型性分析研究雖然已長達 40 年之久 (Beardmore et al., 2001)，但因其性別容易受到環境因子 (如溫度) 影響而改變，目前只有少數幾種吳郭魚之性別決定機制被完全確立。

吳郭魚的性別決定系統有 XX-XY 系統以及 WZ-ZZ 系統 (Cnaani et al., 2008)。分析來自 Ghana、Egypt 及 Israel (Lee et al., 2003) 等地之 *Oreochromis niloticus*、*O. aureus*、*O. mossambicus*、*O. karongae*、*Tilapia mariae* 和 *T. zillii* 等 6 種不同品種之吳郭魚純系。結果發現，有許多 DNA 微隨體標誌如

UNH995、UNH104、UNH148、GM139 和 UNH168 等皆和性別決定密切相關 ($p < 0.001$) (表 1)，其中基因座 UNH995、UNH104、UNH148 和雄性表現相關，而 GM139 和 UNH168 這 2 個基因座則和雌性表現相關。又，*T. zillii* 和 *O. niloticus* 是屬於 XX-XY 的性別遺傳體系，而 *T. mariae* 及 *O. karongae* 則屬於 WZ-ZZ 的性別遺傳體系，比較特別的是 *O. aureus* 和 *O. mossambicus*。

來自不同區域的 *O. aureus* 有不同的性別決定機制。Israel 的 *O. aureus* 是屬於 WZ-ZZ 的性別遺傳體系，Egypt 則是屬於 XX-XY。*O. aureus* 的 *O. aureus*，其基因座 UNH995 及 UNH104 和雄性表現呈現高度相關性，同時發現基因座 UNH995、UNH104 和 UNH868 是和致死基因有緊密的聯結，而導致少數魚隻在未孵化或孵化後死亡 (Cnaani et al., 2008)。另一種較為複雜的魚種為 *O. mossambicus*，不同來源的 *O. mossambicus* 有不同的性別決定機制，同時也發現基因座 UNH995、UNH104 和 UNH868 和致死基因有緊密的聯結。

控制吳郭魚性別的意義包括：(1) 實行單性養殖，提高群體的成長率及單位面積生產量，可降低成本進而提高經濟效益；(2) 成熟期短易繁殖，在養殖池中易造成繁殖過剩，若養殖密度過高，易影響整個群體的生長，降低商品價值。根據上述研究結果，將微隨體 DNA 標誌運用在選種育種上，例如利用雄性 *O. aureus* 和雌性的 *O. niloticus* 配種，可預測得到高比例的雄性子代 (表 1)。這種利用微隨體 DNA 標誌及簡易的 PCR 擴增篩選，比傳統雌核養殖或是其他選育單性魚種

的方式，更可簡易的操作而達到相同的目的 (Lee et al., 2004)，而且不需用藥，惟此研究需要 3 代以上的純系，初期研究的人力及時間耗費較多是唯一的缺點。此外利用微隨體 DNA 標誌也可研究不同個體、品系或品種間之 X 染色體和 Y 染色體上的對偶基因表現的強弱，可以運用於標誌輔助育種 (Marker-assisted selection, MAS)，藉由篩選適當的基因型，可達到高比例的單性吳郭魚。因此，若能有效的運用吳郭魚性別決定之相關微隨體 DNA 標誌，對選種與育種將有很大的助益。

註：本文主要的參考資料

1. Cnaani, A., B. Y. Lee, N. Zilberman, O.C. 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 tilapia species. *Sex. Dev.*, 2: 43-54.
2. Cnaani, A. and T. D. Kocher (2008) Sex-linked markers and microsatellite locus duplication in the cichlid species *Oreochromis tanganyicae*. *Biol. Lett.*, 4: 700-703.
3. Ezaz, T., R. Stiglec and F. Veyrunes (2006) Relationship between vertebrate ZW and XY sex chromosome system. *Curr. Biol.*, 16: 736-743.
4. Charlesworth, D., B. Charlesworth and G. Marais (2005) Steps in the evolution of heteromorphic sex chromosomes. *Heredity*, 95: 118-128.
5. Lee, B. Y., G. Hulata and T. D. Kocher (2004) Two unlinked loci controlling the sex of blue tilapia (*Oreochromis aureus*). *Heredity*, 92: 543-549.

表 1 利用 LG1 和 LG3 上和性別相關之基因標誌篩選不同吳郭魚品種的結果

品 種	N ^a	LG1									LG3								
		GM633	GM148	UNH995	GM201	UNH148	UNH995	UNH104	UNH868	GM258	GM354	GM204	UNH168	GM271	GM180	GM139	UNH131	UNH115	CLCN5
<i>O. niloticus</i> (Ghana)	92				*	***	-	***	-		n/s	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>O. niloticus</i> (Egypt)	96				***	-	***	-			n/s	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>O. niloticus</i> (Egypt)	56	n/s	***	***	***	***	***	***	-	***	n/s	n/s		n/s					
<i>O. niloticus</i> (Egypt)	49	n/s	***	***	***	***	***	***	-	**	-	-		n/s					
<i>O. aureus</i> (Egypt)	86				-	-	***	-	-		-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>O. aureus</i> (Egypt)	88				-	-	***	***	***		-	*	-	*	-	-	-	-	-
<i>O. aureus</i> (Israel)	169				***	-	***	**	**	**	***	-	***	-	***	***	***	***	***
<i>O. aureus</i> (Israel)	96				-	-	-	n/s	-	n/s	-	-	***	**	-	***	***	-	***
<i>O. aureus</i> (Israel)	22				-	-	-	n/s	-	-	***	-	-	-	-	***	-	-	*
<i>O. aureus</i> (Israel)	26				-	-	-	n/s	-	-	***	-	-	-	-	**	-	-	*
<i>O. mossambicus</i>	89			**	**	-	-	-	-	***	-	-	***	-	-	-	-	-	n/s
<i>O. mossambicus</i>	95			-	-	-	-	-	-	-	*	-	-	**	-	-	-	-	-
<i>O. mossambicus</i>	91			***	***	***				n/s									
<i>O. karongae</i>	98				-	-	n/s	n/s	n/s		***	-	***	-	-	***	-	-	***
<i>T. mariae</i>	36				-	-	-	-	-		***	***	-	-	-	-	-	-	-
<i>T. zillii</i>	94	***	-	-	-	***	-	-	-	-	n/s	-	-	-	-	-	-	-	-

N^a: Number of fish in the family ; *: p < 0.05 ; **: p < 0.0 ; ***: p < 0.001 ; n/s: 完全不相關 ; -: PCR 後並無條帶產生
表中的 LG (Linkage Group) 定義為在一染色體上一對或是一組以上的基因，這些基因在細胞分裂的過程中會有一起被移動而遺傳至下一代的特性。