

出國報告（出國類別：研習）

赴以色列研習吳郭魚遺傳育種

服務機關：行政院農業委員會水產試驗所淡水繁養殖研究中心

職 稱：聘用助理研究員

姓 名：張格銓

派赴國家：以色列

出國期間：101年5月13日至101年5月25日

報告日期：101年7月23日

目次

壹、摘要	2
貳、目的	3
參、過程	
一、研習參訪行程表	4
二、行程概要	5
肆、研習心得	
一、以色列水產養殖發展	6
二、吳郭魚養殖	9
三、吳郭魚的遺傳育種	10
四、台以吳郭魚之性別研究合作	11
五、分子生物操作之研習心得	13
伍、結論與建議	17
陸、誌謝	18

壹、摘要

在以色列的農業發展策略中，水產養殖的產業開發是很重要的工作項目。以國淡水資源不足，少量的降雨使其國內超過一半的面積是沙漠，不少地區需仰賴抽取地下水，才得以發展農業與內陸養殖。然而，該國漁業受限於地理環境等資源限制，內陸養殖之比重佔漁業的77.1%，遠大於漁撈(13.9%)與海水養殖(9.0%)，吳郭魚為最主要的養殖種類，產量也是以國第一，故以色列對吳郭魚的遺傳育種有深入的研究，包括建立遺傳連鎖圖譜、功能性基因研究與圖譜改良(fine map)等研究。本次行程主要的目的為前往農業研究機構(Agricultural Research Organization, ARO) 的 Gideon Hulata 教授實驗室進行吳郭魚性別相關遺傳標誌之研究與交流，並多次與 Cnaani 博士、Hulata 教授會談，交換彼此的研究經驗與成果，以方亦給與我方在遺傳育種上的建議，也期許雙邊的合作能持續進行。此外，本次行程也安排分子生物技術操作與訓練，地點在希伯來大學 Rehovot 校區的分子生物實驗室，由 Shirak 博士指導吳郭魚性別標誌試驗與未知鮭魚鑑定試驗，在實驗細節部分也分享了許多經驗，以方的試驗設計構想與操作方法值得我方作為研究參考。

貳、目的

品種是人類養殖動物的基礎，品系的選擇與培育對產業的發展影響極大。吳郭魚是台灣水產養殖界中，領先採用育種方式來生產魚苗的產業；但近年來，傳統育種開始遭遇瓶頸，亟待研發分子育種方法，以強化產業發展。以色列在水產動物遺傳育種上的發展經驗，值得台灣在吳郭魚保種和育種方面的參考借鏡。因此，本計畫係基於台以雙邊合作，促進雙方人員在吳郭魚遺傳育種的經驗與學術交流，並評估共同合作執行研究計畫或種原交換的可行性。

民國99年我方曾邀請以方專家來台交流，並提供吳郭魚遺傳育種之相關意見與看法，並參與淡水繁養殖研究中心的吳郭魚性別相關之遺傳標誌研究。由於影響吳郭魚性別之因子複雜，若找到具高度性別相關的遺傳標誌，則有助於性別相關之遺傳研究，或縮短育種的期程。淡水中心已參考以方專家的建議，進行多組配種工作且得已將其子代進分析研究。另外，雙方並達成種原交換的共識，目前已開始進行遺傳資源之交換。

參、過程

一、研習參訪行程表

日期	地點	預定行程
5/13(日)	台北-香港- 特拉維夫	桃園機場經香港轉機至特拉維夫機場
5/14(一)	Dor	參觀地區性試驗研究站 Dor aquaculture station
5/15(二)	Bet-Dagan	參觀農業研究組織(ARO)的 Bet Dagan 養殖部門
5/16(三)	特拉維夫	參觀農業技術大展 AgriTech exhibition
5/17(四)	Rehovot	參觀 ARO 在希伯來大學 Rehovot 校區之遺傳育種研究室
5/18(五)	耶路撒冷	參觀希伯來大學耶路撒冷校區
5/19(六)	Rehovot	資料整理
5/20(日)	Rehovot	於 ARO 在希伯來大學 Rehovot 校區之遺傳育種研究室進行研習工作
5/21(一)		
5/22(二)		
5/23(三)	Bet-Dagan	前往 ARO 的 Bet Dagan 養殖部門，討論未來的合作方式
5/24(四)	Bet-Dagan , 特拉維夫- 曼谷	資料整理與提問、回程
5/25(五)	曼谷-台北	經曼谷轉機回台

二、行程概要

我方研究人員早期在與以色列學者交流的過程中, ARO的Hulata教授提出了吳郭魚種原交換的合作要求, 之後經多次電子郵件書信往返, 台灣方面於99年促成邀請Hulata教授來台參訪。在此期間Hulata教授除了前往水產試驗所進行遺傳育種的演講, 也在淡水中心與吳郭魚相關的研究人員交換心得, 並達成三項共識: 種原交換、與淡水中心合作研究吳郭魚性別相關標誌的以及派員前往以色列農業機構研習。

本研習行程在101年3月確定細節, 主要的研習項目為討論前述之99年的吳郭魚性別標誌之試驗結果與分子生物試驗之操作訓練。性別標誌試驗的討論在Hulata教授實驗室進行, 同時也與吳郭魚性別研究專家Cnaani博士會面, 深入的討論吳郭魚性別標誌之應用層次; 實驗室的研習工作主要在希伯來大學Rehovot校區的農學院進行, 由Hulata教授、Ron教授及Shirak博士協助。在其他的參訪行程方面, 由Harpaz教授帶領參訪一處有機養殖場, 另Hulata教授也陪同參觀在台拉維夫舉辦的國際農業大展。在研習工作和參訪行程之外, 亦多次與以色列的學者專家晤談, 交換彼此的研究經驗與成果, 對於以色列在吳郭魚的遺傳育種歷史、發展策略及現今的研究方向有進一步的了解。

肆、研習心得

一、以色列水產養殖發展

以色列擁有多樣的地型和氣候，大部分的國土為半乾燥區，每年都有短暫的冬季(潮溼氣候)與較長的夏季(乾燥氣候)，平均降雨量為500毫米。以色列的氣候大致可分為兩區域：(1)南部的乾燥區與半乾燥區，包含Negev Desert 和Arava Valley 每年只有極少的降雨量(<100 毫米)，此區往東延伸至Jordan Valley，年降雨量仍低於300毫米。(2)中北部區域，該區有較宜人的溫度，因具地中海型氣候，使得年降雨量可大於600毫米。所以，水資源不足是以色列長年的困擾，若遇氣候特別乾旱，則農業用水將面臨匱乏的危險。以色列農業部門有鑑於此，除了要使水得到最有效的利用，更要兼顧農業與水產養殖業的經營，有計畫的配給水與有效的利用水是當地農業發展的一大特色。



圖1. 以色列行政區劃地圖(資料來源: <http://big5.17u.com>)



圖2. 以色列中南區多為乾燥的土地

在水產養殖方面，主要有四個方法來克服水資源的不足：(1)收集雨水並做到最大的利用，此種做法也經常整合水產養殖與農業，例如將養殖廢水做為農業灌溉使用；(2)利用循環水，可用於室外養殖

池，將水排放至沉澱池，以便移除固型的碎屑；(3)以高集約或超高集約的循環水系統進行養殖，該系統多為室內裝置，包括各式之過濾系統、生物濾床、蛋白質除沫系統和增氧裝置等；(4)建構溫室進行管理，此方法也應用在蔬菜和花朵的栽培，溫室環境可管理濕度、溫度、光照及輻射，故以色列乾燥地區之農業發展上，溫室的利用極為重要。



圖3. 利用溫室進行觀賞魚的繁殖

以色列自1979年起開始在沙漠發展水產養殖，當時在Arava Vally 附近的一個村落發現了地下溫泉，於是政府利用地下所抽取的熱泉進行養殖，因飼養成效良好進而發展成商業化養殖。1980至1990年間，陸續發展出5種養殖方式。至今，在半乾燥區Bet Shean、Jordan Valleys 和 Gilboa 等區為重要的養殖區，這些區域主要生產吳郭魚類（佔以色列生產的82%）、鯉科魚類（60%）及烏魚(78%)，平均 73%的魚貨出口外銷。另外在Negev區發展以微鹹水養殖金目鱸 (*Lates calcarifer*) 和地中海鯛魚(*Sparus aurata*)，此外也養殖不少的雜交條紋鱸(*Morone chrysops* × *M. saxatilis*)，但僅不到3 %出口外

銷。

二、吳郭魚養殖

吳郭魚是以色列最重要的養殖魚種，近年來其產量已超越鯉科魚類勇奪第一名(圖4)。以色列境內的吳郭魚共有四種，分別為歐利亞種(*Oreochromis aureus*)、吉利種(*Tilapia zillii*)、尼羅種(*O. niloticus*)及加利利種(*Sarotherodon galilaeus*)，其中以歐利亞種和尼羅種較具經濟價值。由於本地的尼羅吳郭魚純度不良，曾先後引進烏干達、肯亞、埃及、象牙海岸與迦納等品系，其中以迦納品系的養殖情況較佳。Hulata教授指出，以色列的吳郭魚養殖戶有幾樣放苗的選擇：(1) 魚苗在性別未定時期，使用藥物變性的方式，飼養全雄性的尼羅吳郭魚；(2) 以雌性的尼羅吳郭魚雜交雄性的歐利亞吳郭魚，直接獲得高比例的雄性魚苗；(3) 進口其他地區之吳郭魚魚苗進行養殖，例如GIFT (Genetic Improvement of Farmed Tilapia)或遺傳性雄尼羅吳郭魚(genetically male tilapia, GMT)等。



圖4. 2008年以色列食用魚類的養殖量統計(單位：噸/年)，吳郭魚類為最主要的養殖魚種

雄性吳郭魚的體型一般為雌性魚的2倍，在魚苗性別未分化時使用雄性激素是一個有效的全雄性養殖辦法，但近年來健康意識抬頭，被激素處理過的吳郭魚在食用安全上是有疑慮的，因此生產天然的單雄性雜交魚苗是個相當好的選擇。然而，據Shirak博士轉述，以色列常見的尼羅吳郭魚與歐利亞吳郭魚通常都是有雜交過，以致一般雜交繁殖場的魚苗雄性比率約為90%，因此，提高雜交魚苗的雄性比例是以色列吳郭魚研究上目前的課題。

三、吳郭魚的遺傳育種

根據FAO在2007年的統計資料，全世界每年約生產180萬噸的吳郭魚，佔全球水產品之供應量的4%，主要的生產國為大陸地區(約90萬噸)、埃及(約20萬噸)、菲律賓(約14.5萬噸)、印尼(約14萬噸)、泰國(約10萬噸)、台灣(約9萬噸)及巴西(約7萬噸)，由此可見，發展吳郭魚的遺傳育種是世界的趨勢。

傳統的遺傳育種大致可分為雜交育種與選擇育種二大類，雜交育種一般是指雌尼羅吳郭魚與雄歐利亞吳郭魚交配生產高比例雄性子代，在台灣也有雜交莫三比克吳郭魚和賀諾奴吳郭魚等紀錄。選擇育種則是以成長最佳的尼羅吳郭魚為研究主體，過去國外育成的GIFT品系就是選拔多種尼羅品系的試驗，另外遺傳雄性吳郭魚(GMT)也是一大研究方向，國外過去曾育成遺傳雄性尼羅吳郭魚(YG-GMT)，並自1995年起，由菲律賓、泰國等地推廣至大陸地區、斐濟、越南、美國與中美洲等國家養殖。以色列過去曾以類似的方法培育全雄性歐利亞吳郭魚(ZZ)。

隨著生物科技的快速發展，在吳郭魚的研究上也進行了DNA 標誌的研究與利用，衛星(minisatellite)與 RAPD (random amplified polymorphic DNA)等方法是最早被應用的技術。以色列目前是以微衛星方法應用於吳郭魚的遺傳育種，該方法起初由Lee與Kocher(1996)起初開發了140個微衛星標誌，Carleton等人(2002)陸續開發了165個微衛星標誌，挪威的一家私人企業也開發了1,319個尼羅吳郭魚微衛星標誌。在遺傳標誌連鎖圖譜方面，第一代的連鎖圖譜是由 AFLP (amplified fragment length polymorphism) 標誌與微衛星標誌所繪製而成，遺傳標誌約有200多個。第二代連鎖圖譜是以色列現今研究吳郭魚遺傳育種的主要參考圖，內容包含了525個微衛星標誌和21個功能性基因之遺傳標誌)，主要分為24個連鎖群(22個大連鎖與2個小連鎖)，迄今仍不斷地在強化功能性基因等資訊，該圖譜目前的貢獻為性別分化、耐鹽能力、抗寒性、免疫與基因調控等研究。

四、台以吳郭魚之性別研究合作

本次行程的主要目的是前往Bet-Dagan的ARO吳郭魚遺傳育種研

究室，與研究室主持人Hulata教授與助手Cnaani博士討論台灣吳郭魚性別研究之試驗結果。



圖5. Hulata教授在Bet-Dagan的ARO主持之吳郭魚遺傳育種研究室，牆上的淡水魚類海報為99年Hulata教授訪台時淡水中心所贈。

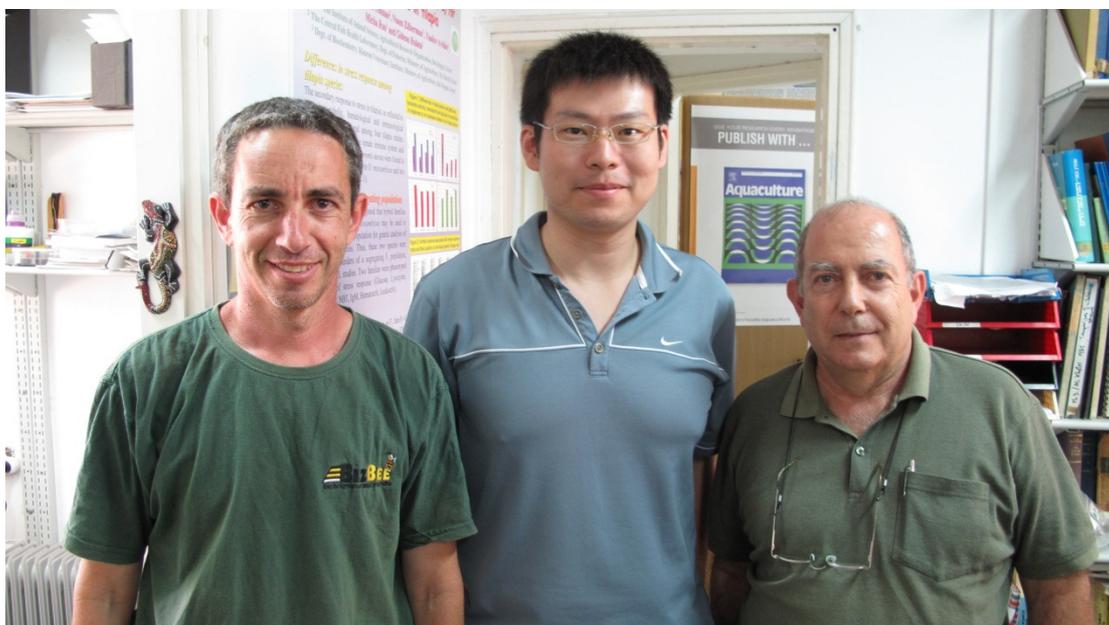


圖6. 與Hulata教授(右)、Cnaani博士(左)之合影。

以色列近年在吳郭魚之性別研究上發展迅速，Hulata教授與其合作團隊以第二代圖譜為藍本，積極地研究尼羅吳郭魚的性別系統，目前已發現迦納品系和埃及品系主要的性別決定區域為第一條連鎖群

(Linkage group 1 , LG1) , 第三條連鎖群(LG3)也對埃及品系之性別有些許關聯。歐利亞吳郭魚方面，發現LG3是性別的主要連鎖區，LG1的影響力較小。最新的研究顯示，Swansea品系的尼羅吳郭魚的主要性別決定區域為第二十三條連鎖群(LG23) , 並且發現一些具性別功能性基因的位於LG23。因此，我們參考以色列的吳郭魚性別研究結果，將LG1、LG3和LG23設定為台灣吳郭魚性別研究之目標。

民國99年淡水中心繁殖3對尼羅吳郭魚與2對的歐利亞吳郭魚(1對1的方式交配) , 再以微衛星標誌進行試驗研究，結果顯示淡水中心所保存的尼羅吳郭魚之性別決定區與LG23相關，歐利亞吳郭魚之性別與LG3相關。Cnaani博士指出，台灣的歐利亞吳郭魚與以色列的歐利亞吳郭魚機制類似，性別區域同為LG3，但互換程度因親代個體的不同而稍有差異。整體而言，台灣的歐利亞吳郭魚性別基因座具有相當好的鑑定力，2個家系性別區域的遺傳都相當穩定，換言之，以方肯定淡水中心歐利亞吳郭魚的純度。尼羅吳郭魚的結果則顯示，淡水中心試驗的品系過去可能有發生過同種雜交，以致性別之遺傳區域LG23的顯著性較歐利亞吳郭魚差。在希伯來大學(Rehovot校區)由Ron教授主持的分子生物實驗室的Shirak博士也表示，根據我方提供之實驗數據，台灣的尼羅吳郭魚部分家系之LG23可能含有致死遺傳等複雜因子。整體而言，本次試驗之尼羅吳郭魚的性別決定區較具複雜性，以方建議我方選擇純度更好(或不同品系)的尼羅吳郭魚進行性別相關標誌研究，以利後續的遺傳育種工作。

五、分子生物操作之研習心得

此次行程請以方安排分子生物技術的操作與訓練，Hulata教授不僅樂意協助安排且建議研習天數最短至少要14-21天。然而，本計劃

預定赴以的行程為12天，研習地點為ARO在希伯來大學(Rehovot校區)之遺傳育種研究室，Hulata教授與Shirak博士共同指導2個試驗。對淡水中心來說，此次研習目的為瞭解以色列遺傳育種實驗室的運作及各種試驗之操作技巧，作為未來試驗之參考，兩個試驗分別為吳郭魚的性別標誌檢測及未知鮭魚的鑑定。

(1) 吳郭魚性別標誌檢測

在一般市場隨機取得吳郭魚32尾(依外型分別雌尼羅吳郭魚、雄尼羅吳郭魚、雌歐利亞吳郭魚及雄歐利亞吳郭魚各8尾)，經過DNA的萃取後，用4組微衛星引子進行PCR實驗(該試驗為Shirak博士最新的研究之一，故未提供引子序列)，再將PCR產物進行基因型分析，以軟體(GeneMapper 4.0)進行最終校正。

為尊重Shirak博士尚未發表的實驗數據，故簡述本試驗結果。微衛星數據顯示4組微衛星引子中的1組引子(位於LG3)可鑑別不同性別的歐利亞吳郭魚，另1組微衛星引子(位於LG23)可鑑別不同性別的尼羅吳郭魚。其他2組引子雖不具性別的鑑別力，但Shirak博士提出研究資料，說明這些引子可用來判別吳郭魚是否為雜交種。



圖7. Shirak博士(左)詳盡的解說吳郭魚性別鑑定試驗的流程。

(2) 未知鮪魚的鑑定

因Hulata教授知悉淡水中心曾多次進行吳郭魚與鰻魚的鑑別試驗，恰Shirak博士最近也在進行鮪魚及地中海(Mediterranean sea)魚類分析試驗，故安排此研習項目。

鮪魚是龐大的系群，部分品種的鮪魚價格不菲，以色列在此方面也著手進行鑑種研究。本實驗的目的為嘗試鑑定經烹煮後的鮪魚罐頭，流程為將食品加工場未烹煮的2種魚塊與4件罐頭魚肉之DNA分別進行粒線體COI之PCR反應(罐頭魚肉在PCR進行前需經過DNA修復的操作)，再將PCR產物進行電泳分析純化，定序後進行序列分析(分別以生命條碼資料庫BOLD和NCBI網站比對)。

試驗結果顯示，未烹煮的魚塊分別為圓花鰹(*Auxis rochei*) 和正鰹(*Katsuwonus pelamis*)，兩種魚皆為罐頭鮪魚的常見魚種。另外，4件罐頭魚肉皆因PCR失敗而沒有結果，Shirak博士推論，由於烹

煮魚肉之DNA已遭受相當程度的破壞，本次DNA修復試驗結果不佳，或許在此部分能進一步的改良。



圖8. 食品加工場之未烹煮的冷凍鮭魚塊

伍、結論與建議

- 一、向Harpaz教授詢問農場或養殖區的產量時，他的回答都是每年該區之生產總金額。言下之意，以色列對於經濟效益的評估皆會換算為實際的產值，而非強調產量的多寡。因此，建議未來研提策略與計畫時，能更加重視產值或毛利。
- 二、在吳郭魚品種方面，最常見的以色列吳郭魚為尼羅吳郭魚(埃及品系與迦納品系)與歐利亞吳郭魚，其中迦納品系的育種成效較好；台灣常見的吳郭魚也是尼羅吳郭魚(台灣品系)和歐利亞吳郭魚，但台灣過去曾大力發展福壽魚(♀莫三比克×♂尼羅)養殖，現今坊間也常看到一些莫三比克吳郭魚或其混種。雙方的歐利亞吳郭魚是同一來源，但台灣過去並未引進中東地區的尼羅吳郭魚，故在種原保存上與以色列不同。因此建議引進不同品系的尼羅吳郭魚(尤其是成長表現較好的迦納品系)，以強化我國吳郭魚之遺傳育種。
- 三、99年與Hulata教授合作的吳郭魚性別實驗，經討論後確定4個在LG3上的微衛星標誌可鑑定台灣歐利亞吳郭魚2個家系之性別($p < 0.001$)，該結果類似於以色列歐利亞吳郭魚的性別機制，淡水中心已保存家系，未來可進行更多的性別研究試驗。在尼羅吳郭魚部分，發現1~2個在LG23上的微衛星標誌可鑑別淡水中心新育種成功的尼羅吳郭魚之性別，類似Swansea品系尼羅吳郭魚之機制，但標誌與性別的相關性較弱($p < 0.05$)。以方建議我方分析台灣品系的尼羅吳郭魚，若有不錯的性別標誌的相關性(假設 $p < 0.001$)，就很適合進行新的性別相關之遺傳育種試驗。
- 四、Shirak博士指導的吳郭魚性別實驗，1個微衛星標誌可鑑別歐利亞吳郭魚的性別，另1微衛星標誌可鑑別尼羅吳郭魚的性別。本

試驗的進行方法與淡水中心的方法相同，目前我們以4個微衛星標誌有效的鑑定歐利亞吳郭魚性別，未來可鎖定性別控制區，進行功能性基因等研究。

五、就以國吳郭魚遺傳育種的研究現況與歷史文化而言，猶太民族相當團結，研究人員之間有強大的合作與信賴，並願意共同分享成果，近代的第三次中東戰爭，以色列就是靠著全民的團結而取得戰爭勝利，由此可見一斑。台灣在設備資源、技術與人才並不亞於以國，若能在研究發展上真心的進行團隊合作，成就定然不斐。

陸、誌謝

感謝Hulata教授、Harpaz教授、Cnaani博士、Shirak博士及其同僚的協助，在以的行程Hulata教授與Harpaz教授不僅全程親自開車接送，並且詳細的解說各試驗細節與筆者的提問，使此行收穫甚豐。另外，水試所劉副所長富光給予筆者出國研習的機會，淡水中心楊主任順德也以電子郵件主動聯繫以國教授及協助機票訂購等事務，在此特別感謝。