

出國報告(出國類別:考察)

考察東海產紅甘鮨之族群遺傳結構

服務機關及出國人員：行政院農業委員會水產試驗所海洋漁業組

職 稱：聘用助理研究員

姓 名：蕭聖代

出國地區：東京

出國期間：107年10月15日至11月10日

報告日期：108年1月28日

目 次

目次	1
摘要	2
計畫緣起	3
目的	4
考察期程	5
考察紀要	6
心得與建議	8
參考文獻	9
附圖及附錄	10

摘要

本次出國前往日本參訪東京海洋大學海洋科學系坂本崇教授研究室，主要就日本產紅甘鯨的漁業現況及日本產紅甘鯨的族群遺傳結構及分子遺傳技術開發現況進行討論，並與其研究團隊學習 ABI3100 全自動遺傳分析系統進行微衛星基因點位分析。期間也就目前水產試驗所與東京海洋大學所進行的合作計畫再次進行討論，計畫為釐清日本、東海與臺灣周邊海域的紅甘鯨其族群遷徙動態及基因交流情形，並將目前採得的樣本在該實驗室進行初步的試驗分析。最後，順道前往豐洲魚市場參訪，從各項的建築設計到冷鏈物流規劃等，感受到日本對於各項細節的用心規劃。

計畫緣起

紅甘鰺 (*Seriola dumerili*) 為鱸形目 (Perciformes)、鰺科 (Carangidae)、甘鰺屬 (*Seriola*) 魚類，在世界海洋物種目錄 (World Register of Marine Species, WoRMS) 中甘鰺屬共有 9 種，其中臺灣有 3 種，分別為紅甘鰺、長鰭甘鰺 (*Seriola rivoliana*) 及青甘鰺 (*Seriola quinqueradiata*)。紅甘鰺廣泛分布於全世界熱帶及亞熱帶海域，臺灣沿近海均有分布，是亞洲重要的經濟魚種之一，也是近年新興的甘鰺屬養殖魚種。臺灣曾經利用箱網進行紅甘鰺的養殖，然而受寄生蟲感染嚴重，導致養殖成效不彰。紅甘鰺的相關研究並不多，多半零星見於漁獲組成或漁場分布等研究。目前已知臺灣養殖的紅甘鰺苗大部份來自中國海南島，另在臺灣的澎湖沿海也可發現體長小於 5 公分的紅甘鰺魚苗，因此推測澎湖周邊海域應為其產卵場之一。

日本是甘鰺屬 (*Seriola* spp.) 魚類最大的生產國，而甘鰺屬魚類也是日本重要的漁撈及養殖魚種。2016 年日本養殖魚類的總產量約 25 萬公噸，甘鰺屬魚類便達 14 萬公噸 (約佔 56%)，其中又以青甘鰺為大宗。紅甘鰺則為近年新興的甘鰺屬養殖魚種，養殖年產量平均為 4 萬 7 千公噸 (產值約 400 億日幣)，每公斤單價高達 1200 日幣 (青甘鰺 800 日幣/公斤)。日本對於青甘鰺的產卵場、產卵期及族群結構均有深入的研究，但紅甘鰺的相關研究則仍在起步。

水產試驗所於 2015 年開始與日本長崎大學及東京海洋大學合作研究紅甘鰺的初期生活史，發現在稚魚階段前的仔魚會集中於鋒區 (frontal zone)，並依稚魚耳石的日齡分析，推測孵化時間約在 4 月至 6 月，顯示其產卵場 (spawning ground) 可能在臺灣周邊海域，而孵化後的紅甘鰺會順著洋流往北漂到東海南部 (Hasegawa *et al.*, 2017)。因此，本所將針對日本、東海與臺灣周邊海域的紅甘鰺粒線體 D-loop 片段與微衛星等資料，來究明其族群遷徙動態及基因交流情形。

日本東京海洋大學坂本崇教授專精於魚類分子遺傳育種技術及分子病理學研究，透過魚類的遺傳圖譜，利用分子遺傳標識資料中的數量性狀基因座，用以輔助傳統的選拔育種或遺傳工程以加速達成性狀的改良。坂本崇教授已經獲聘為該校的終身教授，學術發表及專書超過 85 篇，在學術研究及應用上都有優異的成績。本次參訪坂本崇教授研究室，對於了解日本魚類族群遺傳結構的試驗研究現況及臺日相關議題的研究合作推動將有相當的助益。

目的

為瞭解紅甘鯪在西太平洋(中國海南島、臺灣澎湖及日本)之族群遺傳結構，本計畫擬赴日本拜訪坂本崇教授，討論紅甘鯪的族群遺傳研究現況、分子標誌開發及未來合作等相關議題。因此本次拜會日本研究單位的目的是包括：

- (一) 瞭解日本對於紅甘鯪的相關研究進展。
- (二) 進行紅甘鯪族群遺傳結構的試驗研究，以了解紅甘鯪在東海的族群遺傳結構，並進一步推估族群洄游路徑。
- (三) 瞭解日本對於紅甘鯪漁業之發展方向及最新趨勢。

另一方面，本次參訪及試驗研究之餘，預計至鄰近的豐洲魚市場，實地訪視市場漁獲情形及經營模式，瞭解臺日兩地魚市場經營之異同及借鏡之處。

考察期程

日期	住宿地	預定行程	備註
10月15日	日本東京	出國(臺灣→東京)	去程
10月16日	日本東京	參訪東京海洋大學海洋科學系	
10月17日	日本東京	研討魚類 DNA 遺傳圖譜之建構及分子遺傳技術之開發	
10月18日	日本東京	研究室團隊介紹實驗室儀器設備及操作流程	
10月19日	日本東京	研討日本產紅甘鯨的族群遺傳結構及分子遺傳技術開發現況	
10月20日 至 10月21日	日本東京	紅甘鯨樣本 DNA 萃取及 DNA 濃度調整	
10月22日	日本東京	利用開發之分子遺傳標識測試臺灣產紅甘鯨樣本	
10月23日	日本東京	電泳確認及上機前樣本準備	
10月24日 至 10月25日	日本東京	操作 ABI 3100 全自動遺傳分析系統	
10月26日 至 11月2日	日本東京	學習利用 GeneMapper 分析軟體判讀微衛星基因點位	
11月3日	日本東京	討論實驗情形及挑選後續實驗用樣本	
11月4日 至 11月7日	日本東京	合作計畫-進行臺灣及日本產紅甘鯨樣本族群遺傳標誌試驗研究	
11月8日	日本東京	討論試驗後之初步結果及後續合作事宜	
11月9日	日本東京	參觀豐洲魚市場	
11月10日	日本東京	返國(東京→臺灣)	返程

考察紀要

本次行程主要參訪日本東京海洋大學海洋科學系坂本崇教授研究室，首先就日本產紅甘鯨的漁業現況及日本產紅甘鯨的族群遺傳結構及分子遺傳技術開發現況進行討論。目前坂本崇教授研究室是以微衛星進行魚類族群結構的研究。由於利用 ABI3100 全自動遺傳分析系統進行微衛星基因點位分析需要有一定水準以上的分子生物操作技術。另一方面，同一批研究材料必須以同一台儀器進行分析。再加上由於所要分析的樣本數相當多，無法在短暫的出訪時間內完成。因此在經過討論之後，決定先以帶來的部分臺灣樣本於實驗室中操作一次，確保臺日的技術方法同步。

在後續的幾天之中，經由坂本崇教授及其實驗室團隊的協助，將所帶去的臺灣紅甘鯨肌肉樣本選取其中 16 個，進行 DNA 萃取。萃取後的 DNA 進行濃度檢測，經由計算將所有樣本稀釋至相同的適當濃度。將調整好的 DNA 樣本以 3 組 multiple microsatellite markers sets (K11, K20, K34-D) 進行多重 PCR (multiplex PCR)，共得到 48 個 PCR 產物。這 3 組 multiple microsatellite markers sets (K11, K20, K34-D) 是由坂本教授的研究團隊先從研究報告 (Renshaw et al., 2006, 2007) 中所發表的引子進行測試，最後將挑選出的 12 組微衛星引子整併成 3 大組 (附錄一)，並測試出最佳的 PCR 條件。PCR 產物以 ABI3100 全自動遺傳分析系統進行微衛星基因點位分析，再將結果利用 GeneMapper 分析軟體判讀微衛星基因點位 (microsatellite loci)。微衛星基因點位判讀時需由單一且固定的研究人員判讀，且需集中專注力並建立個人的準則，否則在判讀時，即使僅有些微的誤差，就會造成整個實驗結果的差異。因此，本次另一個學習重點就是準確的判讀微衛星基因點位。依據不同螢光呈色，分別判讀各個樣本的 12 組微衛星基因點位。實驗所得到的分析圖譜皆相當清晰可讀，表示臺灣帶去的樣本品質良好，操作的技術能力也達到標準，因此決定將這部分的實驗在臺灣的實驗室進行。

另外，本所與東京海洋大學正進行合作，計畫釐清日本、東海與臺灣周邊海域的紅甘鯨其族群遷徙動態及基因交流情形。合作採得的 144 隻紅甘鯨樣本依上述實驗流程進行 DNA 萃取、DNA 濃度調整、PCR 及電泳確認等步驟後，利用保冷袋將 PCR 產物攜回臺灣進行後續的微衛星定位分析，分析後的初步結果將再與坂本教授進行進一步的討論。

在參訪完坂本崇教授研究室後，順道前往參觀搬遷開幕不久的豐洲魚市場，豐洲市場目前分為青果棟、水產批發棟(水產仲卸壳場)、及管理設施棟+水產拍賣棟(水產卸壳場)等 3 區。交通從東京市區搭地鐵到豐洲站，再轉百合海鷗號到市場前站，出站後沿著天橋指標走就可以到達。

水產批發棟的商家來自以前築地市場著名的弧形建築物，販賣各種水產品給魚販或

餐廳，一般遊客禁止進入。現在豐洲魚市場完全將遊客和批發買賣分開，遊客僅可以從玻璃窗觀看交易進行。在遊客多的尖峰時間，遊客入口進場時需要配戴遊客識別證，出場時繳回。建築物內遊客走道旁邊布置許多水產介紹，像是四季各種旬魚，還有築地著名的三輪搬運車。以前築地場內市場那些有名的餐廳現在分散在豐洲魚市場各棟的飲食區域，零售道具及其他食材店則集中在批發棟樓上。人氣餐廳依然大排長龍，好處是現在不用日曬雨淋。批發棟頂樓做成綠建築草皮屋頂，視野相當不錯。

管理設施棟內有郵局和銀行，並且有夜間金庫，方便魚販使用。銀鱗文庫有許多水產相關藏書，並販賣一些明信片等紀念品。文庫旁邊是築地市場回顧展廳，介紹東京的市場及築地市場的歷史，還有豐洲市場的未來。現在十分重視食安和品質，從產地到拍賣市場再到零售市場，所有的冷鏈系統都要建構完全，還要有效率的物流及多樣化符合客戶需求的處理和包裝。

從管理設施棟可以通往水產拍賣棟。水產拍賣棟就是以前築地凌晨就得去排見學參觀的鮪魚拍賣，目前只開放從樓上隔著玻璃看。除了鮪魚，其實還有各種水產品的拍賣，共分為包括活魚、鮮魚、蝦類、海膽、鹽乾品、加工品、特種品(螺類等)及大物(包含鮪魚)等拍賣區。由於拍賣是在夜間進行，白天只看到拍賣完空蕩蕩的場地。此時地面保持乾燥清潔，使用完的棧板用具和堆高機也擺放整齊，的確是世界一流的拍賣市場。拍賣棟有一個介紹鮪魚的空間，擺放大型等身鮪魚模型，及各種鮪魚及漁業的資訊。走廊上介紹各種拍賣的小知識，例如拍賣時手勢的數字含意等等。

參觀完豐洲市場後，下午去築地市場了解搬遷後的變化。場內市場的區域已經完全用圍籬包圍施工。場外市場中午後漸漸打烊，但仍然看得出有相當多的遊客人氣。場外市場近年新蓋的一棟築地魚河岸商場，有別於場外路邊攤販的形式，魚河岸商場像豐洲市場一樣將魚攤和餐廳設置在室內，其中也有原本場內市場的名店進駐。

心得與建議

水產試驗所與日本長崎大學及東京海洋大學正在進行合作研究「高度迴游性魚類的幼生生活史-以東海甘鮫屬為例」，合作計畫中包含利用粒線體 DNA 及微衛星基因座等分子遺傳標誌，探討臺灣澎湖、東部與日本長崎附近海域產紅甘鮫族群遺傳結構。

筆者為該計畫中參與族群遺傳研究之主要執行人員，本次除前往討論目前日本對於紅甘鮫的相關研究、參訪東京海洋大學之相關研究設備外，也把在臺灣收集到的紅甘鮫樣本於東京海洋大學進行分子生物試驗研究。在東京海洋大學研究室進行操作時，從樣本濃度的調校到資料分析，都感受到日本精確及一絲不苟的個性。這次筆者在研究室的實驗能力表現有獲得坂本崇教授研究室的肯定，有助於未來進行合作及討論。研究結果將併同日本的紅甘鮫樣本進行族群遺傳結構的分析，以了解紅甘鮫在東海的族群遺傳結構，並進一步推估族群洄游路徑。

在本次參訪過程中與坂本教授討論到，在樣本採集過程有發現到兩種不同外部形態的紅甘鮫，一種為表皮較黑且眼睛瞳孔較大，另一種則為表皮較光亮但眼睛瞳孔較小的個體。在討論過程中，坂本教授提出推測認為表皮較黑而眼睛瞳孔較大的個體有可能是紅甘鮫與長鰭甘鮫雜交後的個體，為了證實這樣的推測，坂本教授建議應先採集更多長鰭甘鮫樣本再以分子生物學來釐清這樣的推測是否正確。

本次藉由親訪坂本崇教授研究室，除了確定實驗的方向，也將台日兩方的實驗方法和規格同步。同時藉由在實驗室的討論互動，未來在洽談研究的過程細節，也比較能夠具體直接。另一方面除研究成果之發表外，亦可同時瞭解日本對於紅甘鮫漁業之發展方向及最新趨勢，對本所後續進行相關研究有所助益。

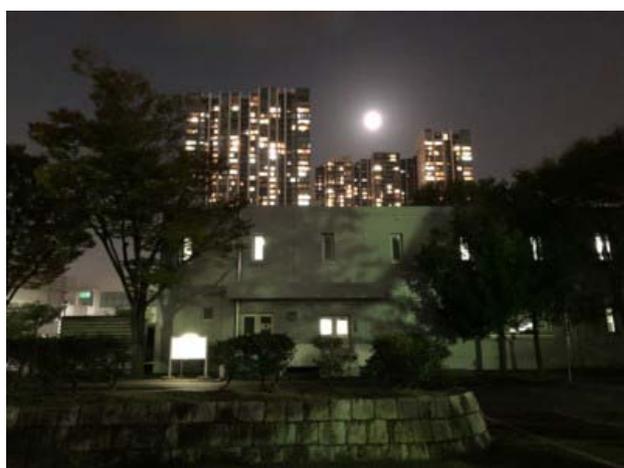
在參訪坂本崇教授研究室期間，碰巧遇到研究室舉辦 SABA(鯖)日，研究室成員收集各種有關鯖的食材，除了常見各國不同口味的鯖魚罐頭之外，甚至還有叫做 SABA 的清酒，生鮮鯖魚則在研究室做成各種料理。對於這些研究室成員能夠這樣將水產品融入生活，令人印象深刻。

豐洲魚市場的搬遷雖然有所延宕，參訪當天的遊客人潮依然絡繹不絕。看了新建築物的各種設計，像是工作人員與遊客的隔離、冷鏈物流規劃，甚至是建築物本身的綠建築設計，都值得我們參考。築地在場內市場搬遷之後，場外市場依然充滿活力。除了因為場外市場多年來已經建立起自己的商圈個性，便捷的大眾交通讓遊客方便來也是很大的因素。

參考文獻

1. Hasegawa T., Yeh, H.-M., Chen, J.-R. , Kuo C.-L., Kawabe, R, Sakakura, Y. (2017). Collection and aging of greater amberjack *Seriola dumerili* larvae and juveniles around the Penghu Islands, Taiwan. Ichthyological research, 64 (1): 145-150.
2. Hasegawa, T., Takatsuki, N., Kawabata, Y., Kawabe, R., Nishihara, G. N., Ishimatsu, A., Soyano, K., Okamura, K., Furukawa, S., Yamada, M., Shimoda, M., Kinoshita, T., Yamawaki, N., Morii, Y., Sakakura, Y. (2017). Continuous behavioral observation reveals the function of drifting seaweeds for *Seriola* spp. juveniles. Marine Ecology Progress Series, 573: 101-115.
3. Renshaw, M. A., Patton, J. C., Rexroad C. E. III, Gold, J. R. (2006) PCR primers for trinucleotide and tetranucleotide microsatellites in greater amberjack, *seriola dumerili*. Molecular Ecology Notes, 6: 1162-1164.
4. Renshaw, M. A, Patton, J. C, Rexroad, C. E. III, & Gold, J. R. (2007). Isolation and characterization of dinucleotide microsatellites in greater amberjack, *Seriola dumerili*. Conservation genetics, 8: 1009. doi: 10.1007/s10592-006-9221-y.

附圖及附錄



圖一、日本東京海洋大學校園。



圖二、坂本教授研究團隊研究室。



圖三、筆者與日本東京海洋大學海洋科學系坂本崇教授及其研究團隊合影。



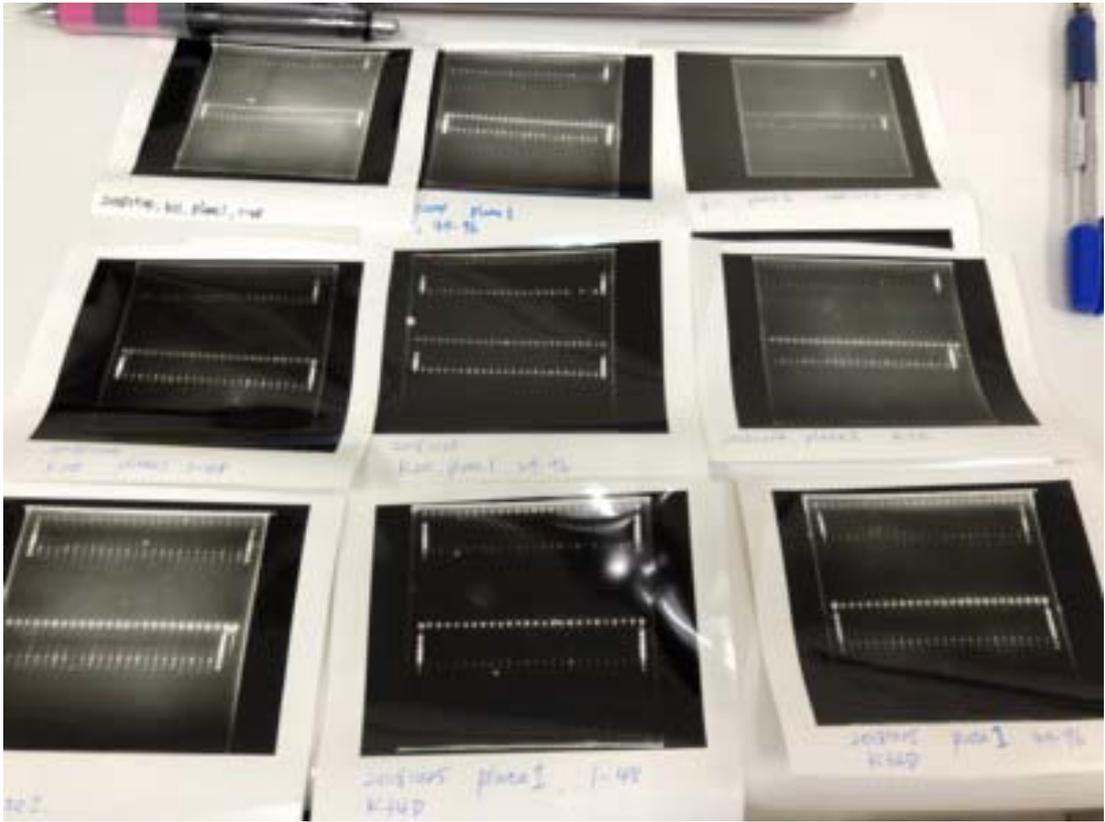
圖四、坂本崇教授實驗室。



圖五、PCR 設備。



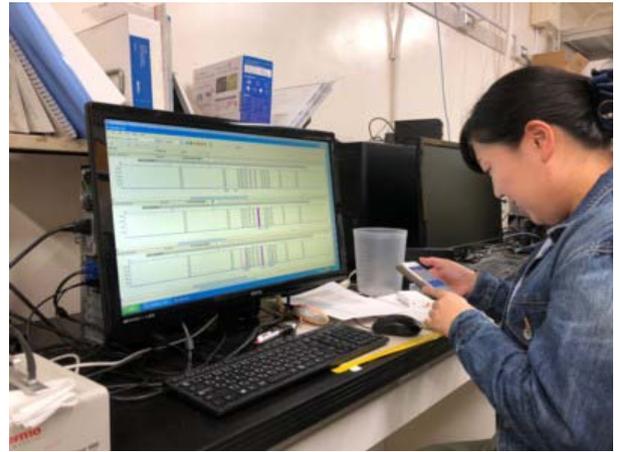
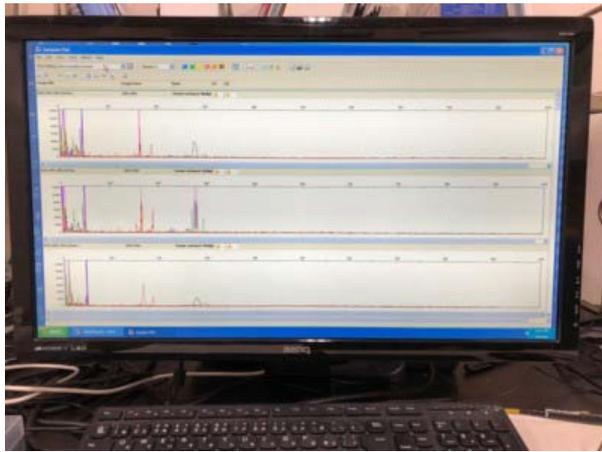
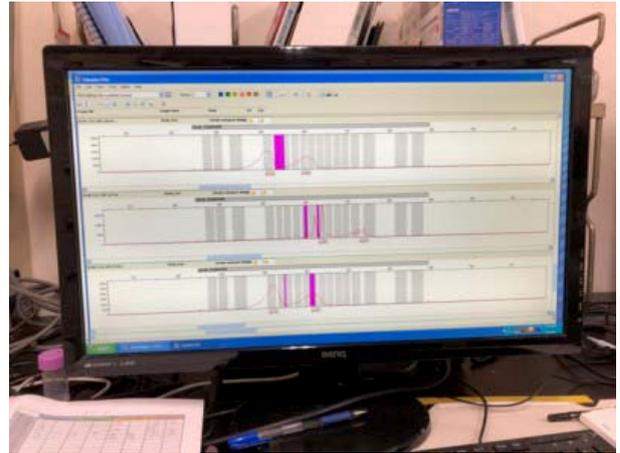
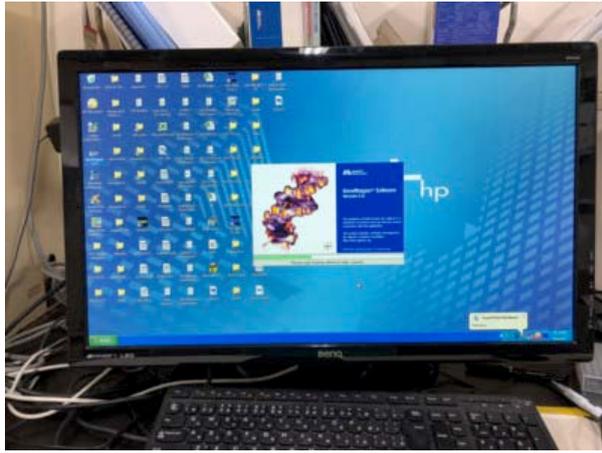
圖六、電泳及影像設備。



圖七、以熱感紙輸出之電泳圖。



圖八、ABI3100 全自動遺傳分析系統。



圖九、利用 GeneMapper 分析軟體判讀微衛星基因點位。



圖十、(a)豐洲市場；(b)與百合海鷗輕軌站連結的聯通道；(c), (d)批發棟頂樓做成綠建築草皮屋頂。



圖十一、(a)豐洲市場的建築模型; (b) 豐洲市場吉祥物; (c)-(f)豐洲市場小型資料館。



圖十二、(a)拍賣時的手勢動作說明; (b)「ターレット」是市場內運送魚貨的重要交通工具; (c)、(e)從參觀通道可見水產拍賣棟市場內部; (d)筆者與這條曾在築地市場成交過，最大的黑鮪魚一比一模型合影; (f)豐洲市場水產拍賣棟餐廳區。

附錄一、研究中使用的 12 組微衛星引子

primer mix name	Primer ID	fluorescence or non-fluorescence	The sequences of the primers
K11	sdu21_DQ468095(universal)	[6-FAM]RV3	AGCAAAATAGGCTGTCCCCTCAGGACAATGTTGGTAG
	sdu21_DQ468095(aA)	non-fluorescence	GTTTCTTGCTAACAAGTTCACGACAT
	sdu7_DQ468087(universal)	[VIC]pVP16	GCCGACTTCGAGTTTGAGCACTTTCAACTGGAACACC
	sdu7_DQ468087(aA)	non-fluorescence	GTTTCTTGGTTCTGCTGGCTCATG
	sdu1_DQ468081(universal)	[NED]PQE-E	TTGAGAGGATCGCATCCACGTTTCCATCGCACTTT
	sdu1_DQ468081(aA)	non-fluorescence	GTTTCTTGCTAACACTCACTGGTG
	sdu32_DQ883570(universal)	[PET]M13	TGTA AACGACGGCCAGTCTGTGAGAGCATTGGTAT
sdu32_DQ883570(aA)	non-fluorescence	GTTTCTTGTGCTTGTCTCTTCTGTCTAT	
K20	sdu36_DQ883573(universal)	[6-FAM]RV3	AGCAAAATAGGCTGTCCCCTGTTATGAAGCAGTGAAGAGG
	sdu36_DQ883573(aA)	non-fluorescence	GTTTCTTGGACCATCTGCTCTGACA
	sdu23_DQ468097(universal)	[VIC]pVP16	GCCGACTTCGAGTTTGAGGCAGTGTGTGGCTATAAG
	sdu23_DQ468097(aA)	non-fluorescence	GTTTCTTGGTTGTTTCCTCCTTAC
	sdu27_DQ468098(universal)	[NED]PQE-E	TTGAGAGGATCGCATCCACCTTCTGTCTTGACTCTGC
	sdu27_DQ468098(aA)	non-fluorescence	CGATTCATCCAGCTTTAGG
	sdu39_DQ883575(universal)	[PET]M13	TGTA AACGACGGCCAGTAGTGGCTTCTGCTGCTGT
sdu39_DQ883575(aA)	non-fluorescence	GTTTCTTCGTGTGCGTGCTTGTAAA	
K34-D	sdu8_DQ468088(universal)	[6-FAM]RV3	AGCAAAATAGGCTGTCCCCAGTCTATGAAACACAACC
	sdu8_DQ468088(aA)	non-fluorescence	GTTTCTTCCTGAAGCGATGAAGCGT
	sdu41_DQ883577(universal)	[VIC]pVP16	GCCGACTTCGAGTTTGAGAGCGTGGACAGTTTATGG
	sdu41_DQ883577(aA)	non-fluorescence	GTTTCTTGTCTGTTTACTGGTCGCA
	sdu19_DQ468094(universal)	[NED]PQE-E	TTGAGAGGATCGCATCCAGCATTCTGGCATTAGCAT
	sdu19_DQ468094(aA)	non-fluorescence	GTTTCTTGGTACTCTAGTTAGCCCTAC
	sdu46_DQ883580(universal)	[PET]M13	TGTA AACGACGGCCAGTGCAGTGTGAGCCATACATTAC
sdu46_DQ883580(aA)	non-fluorescence	GTTTCTTCTACAGGACAAAAGCCATT	