

國立嘉義大學生命科學院 105 年度 學生學術研究成果優良海報評選獲獎名單

時間：105 年 6 月 1 日

大學部

食品科學系					
第二名	吳峻瑋、謝鈞任	第三名	施凱瀨、張嘉瑄		
生物資源學系					
第一名	李孟榛	第二名	廖凱鎰	第三名	張家豪
微生物免疫與生物藥學系					
第一名	張立展	第二名	王仁軒	第三名	王翔昱



碩士班

食品科學系					
第一名	Nguyen Xuan Hoang	第二名	林姿廷	第三名	鄭冠威
水生生物科學系					
第一名	徐正翰	第二名	蘇意婷	第三名	劉偌凡
生物資源學系					
第一名	張凱荃	第二名	涂翔議	第三名	黃毓淨
生化科技學系					
第一名	吳玉萍	第二名	王泰景	第三名	蔡泓岳
微生物免疫與生物藥學系					
第一名	王守琮	第二名	林鴻志	第三名	張家源

水生生物科學系



以分子標記加速歐利亞吳郭魚新雌品系之建立

國立嘉義大學水生生物科學系 徐正翰
指導老師:郭建賢老師

一、前言

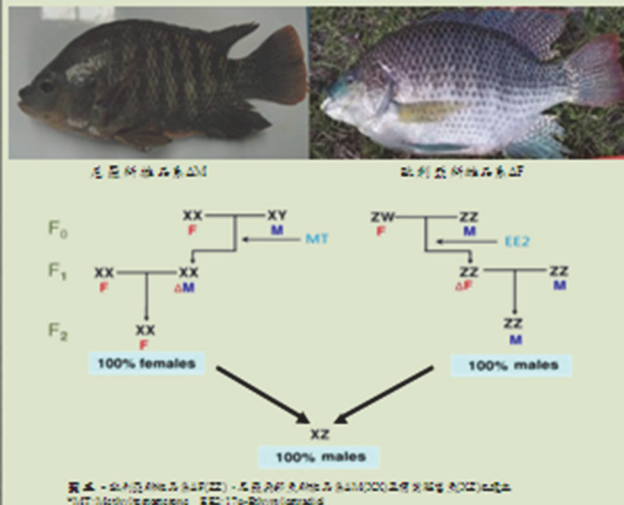
吳郭魚原產於非洲，發展至今已成為全球重要之淡水養殖魚，其中尼羅吳郭魚(*Oreochromis niloticus*)及歐利亞吳郭魚(*O. aureus*)為養殖大宗，且皆為口孵魚，繁殖期間雌魚會以口、身體、尾鰭抱出一盆地凹坑，再引誘雄魚來此產卵，雄魚立即射精，雌魚再將受精卵吸入口中孵化，此時期雌魚完全不進食，影響成長；而雄魚成長較快，成熟體型較大，考慮到繁殖成效，養殖者一般以雌魚為主要繁殖對象，因此單性繁殖成為吳郭魚繁殖的主要追求目標。

若以歐利亞吳郭魚及尼羅吳郭魚進行雜交，因其所代性別決定機制不同，使其子代皆為雌性魚，因此單性雜交廣泛利用及普及，但雌雄別是以外部型進行辨識，容易受到個體差異及人為主觀因素的影響造成失誤，導致有歐利亞吳郭魚或尼羅吳郭魚混入，而得不到100%雌性比。



歐利亞新雌品系及尼羅吳郭魚新雌品系的建立，因尼羅新雌品系(ΔM)與正常基因型雄魚交配可得純系全雌子代(XX)；歐利亞新雌品系(ΔF)與正常基因型雄魚交配可得純系全雌子代(ZZ)(圖三)，其F₂子代也不必再進行雌雄辨識，只要雜交，不需用藥即可得到全雌性吳郭魚(XZ)，無須自繁雜留問題，也無法從所販售之全雌性吳郭魚(XZ)以自交的方式來獲得親代。

若能以分子標記來辨別魚隻之性別基因型，在歐利亞新雌品系及尼羅吳郭魚新雌品系的建立過程中可以不需經過子代試驗即可判別雌雄的基因型，降低研習成本，也能減少繁殖空間，因此以分子標記辨別性別基因型之方法為重要。



二、目的

- 以分子標記來辨別歐利亞吳郭魚之性別基因型
- 建立全雌歐利亞吳郭魚子代

三、材料與方法

以分子標記來辨別歐利亞吳郭魚之性別基因型

(一、) 樣本來源 魚種:本實驗室保留

之純系歐利亞吳郭魚

(二、) 材料與方法

- 1)從純系歐利亞吳郭魚剪取魚鱗(雌魚61尾、雄魚69尾)並抽取其DNA。
- 2)使用Oasfl488以及微衛星UNH131、UNH168、GM271、GM354作為標記來辨別歐利亞吳郭魚之性別基因型。

Marker	primer sequence (5'-3')	Amplified (bp)	Linkage group
GM271	F: GCGGCTGGATGCGGCTGCTG R: TGGGAACTGGTTCATCAAG	51	1
GM354	F: GGGGCGGCGCGGGGCGG R: CAGCTCAGGTTACTGGT	51	1
UNH131	F: TCGACATGACATGCTTGGG R: GTGATTTTAAATAGAGTTCTACTA	51	1
UNH168	F: TAAAGGCGGTTAGGCGGCGG R: TGGGAACTGGTTCATCAAG	51	1

3)以PCR來放大目標片段

4)使用電泳膠進行檢測

歐利亞新雌品系建立

(一、) 樣本來源 魚種:本實驗室保留

之純系歐利亞吳郭魚 藥品:17 α -

Ethinylestradiol

(二、) 實驗方法與步驟 使用歐利亞吳郭魚孵化三天內之的魚，將其浸池在含有高劑

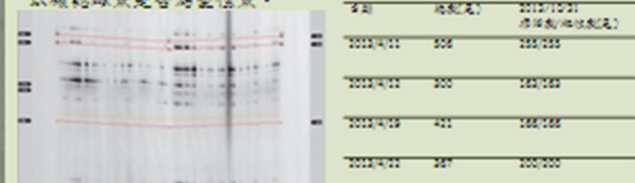
量雌性素(17 α -Ethinylestradiol)的魚缸中，且魚隻每星期上升至540L的玻璃缸中，並且密集投餵飼料，使的魚能夠成長至成熟可以繁殖的成魚，挑選6隻實驗魚與純品系正常歐利亞吳郭魚之雄魚(基因型ZZ)進行子代試驗，再分析其子代之性別。

四、結果

- 1)UNH131分子標記有辨別親代魚隻之基因型的能力，雌魚(320/324)，雄魚(320/320)(圖三)。
- 2)以高劑量雌性素處理新生仔魚，已建立四批雌性率100%之歐利亞吳郭魚(表一)。
- 3)從全雌品系歐利亞吳郭魚中挑選5尾雌魚與2尾正常歐利亞吳郭魚進行子代試驗以判別雌魚的基因型，目前已產生6批子代(表二)。

五、未來工作

- 以親代交配出無用藥子代，再以分子標記去辨別其子代，來確定分子標記的辨別力及穩定性。
- 辨別F₁性腺魚隻基因型，再辨別其F₂子代之性別是否為全性，以確認雌魚是否為變性魚。



表一、全雌品系建立的四批雌性雌魚

日期	親代雌魚	雌魚(尾)	雄魚(尾)	性別比(雌雄比)
2015/3/2	F * XZ	515	111/152 (99%)	
2015/3/25	F * XZ	517	25/28 (100%)	
2015/4/22	F * XZ	525	170/202 (99%)	
2015/5/11	F * XZ	529	72/71 (97%)	
2015/7/1	F * XZ	710	0/0 (0%)	
2015/7/19	F * XZ	720	0/0 (0%)	

圖二、全雌品系子代雌雄別判定，僅需數日即可判定性別，不需用藥



EFFECT OF PHYTIC ACID ON IRON-CATALYZED LIPID PEROXIDATION IN FISH SARCOPLASMIC RETICULUM

Yi-Ting Su*, Chen-Huei Huang

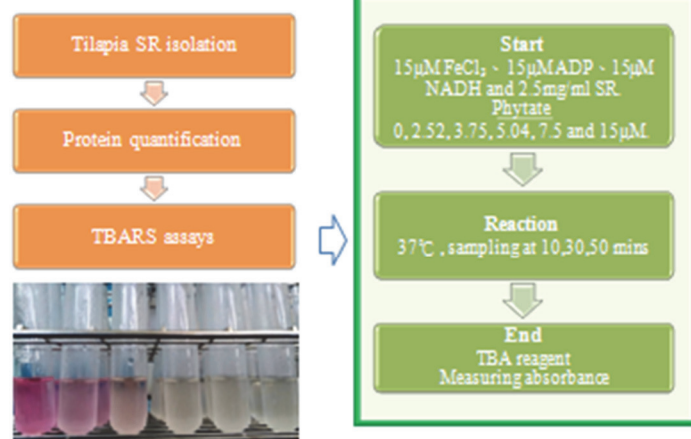
Department of Aquatic Biosciences, National Chiayi University, Taiwan

Introduction

Phytic acid can chelate ferric ion and occupy all the coordination sites in iron; hence, totally inactivate ferric-catalyzed lipid peroxidation. The purpose of this study was to investigate the optimal inhibitory concentration of phytic acid in enzymic iron-catalyzed lipid peroxidation system of tilapia, *Oreochromis niloticus* × *O. aureus* sarcoplasmic reticulum (SR).



Experimental Conditions



Results

Table 1. TBARS (nmole MDA/mg protein) in sarcoplasmic reticulum.

Phytate(μM)	Incubation Time(mins)		
	10	30	50
0.00	13.2±0.8 ^a	25.0±0.1 ^a	29.4±0.7 ^a
2.52	6.6±0.2 ^b	11.8±0.8 ^b	16.8±1.0 ^b
3.75	3.1±0.5 ^c	8.0±0.5 ^c	11.1±0.2 ^c
5.04	1.5±0.0 ^d	6.5±0.1 ^d	9.1±0.1 ^d
7.50	1.3±0.3 ^d	6.3±0.2 ^d	8.9±0.3 ^d
15.0	0.6±0.1 ^d	5.5±0.1 ^d	8.7±0.1 ^d

*** Within each row, the Means±SE with different superscript letter are significantly different (n=3, p<0.05).

Figure 1. Lipid oxidation activity of sarcoplasmic reticulum.

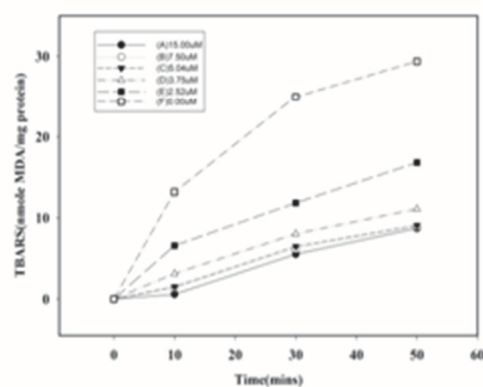
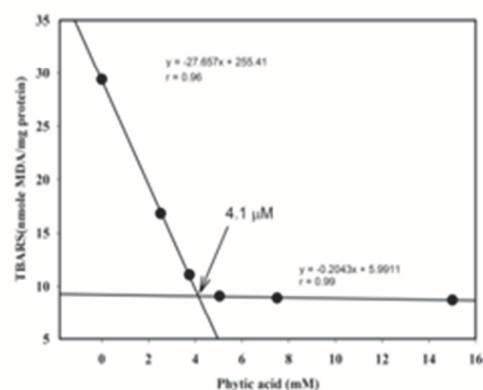


Figure 2. The regression line that fit the optimum phytic acid concentration (Incubation time at 50 mins)



Conclusion

The optimum phytic acid to ferric ion ratio that inhibits the lipid peroxidation in this system is apparently 1 : 3.5.

References

Huang, S.-L., Weng, Y.-M., Huang, C.-H., 2004. Lipid peroxidation in sarcoplasmic reticulum and muscle of tilapia is inhibited by dietary vitamin E supplementation. *J. Food Biochem.* 28:101-111.

提皮

以分子標記鑑定吳郭魚品系

劉備凡 嘉義大學水生生物系 指導老師：郭建賢老師

前言

吳郭魚被稱為臺灣鯛，原產自非洲，外觀類似海水鯛類，全世界共有約20種，且由於其抗病力及適應力強，易飼養，所以不但是臺灣主要的養殖魚類，也是世界水產重要魚種，且被譽為未來動物性蛋白質之主要來源之一。

黑腳仔 (*Oreochromis mossambicus*): 1946年由吳振輝及郭敬彰兩位先生引入，俗稱「在來種」或「黑腳仔」。

改良種 (*O. mossambicus* × *O. niloticus*): 俗稱「改良種吳郭魚」，1969年引入，但成長較尼羅吳郭魚慢。

紅尾吳郭魚 (*Oreochromis spp.*): 俗稱紅尾吳郭魚，泛指體色為紅色、桃紅色、橘色吳郭魚，為1968年選種雜交成功，深受日本人喜愛。

吉富吳郭魚 (*Oreochromis niloticus*): 1963年自非洲引進，但生性好鬥且肉質差，現已絕跡。

黑頭吳郭魚 (*Oreochromis hornorum*): 1981年自哥斯大黎加引進，型態及繁殖習性與黑腳仔相似，不耐寒且生長極慢，但可用於生產雄性魚苗之繁殖。

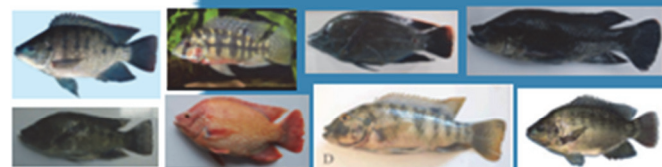
紅眼吳郭魚 (*Oreochromis rendalli*): 1981年自南非引進，與吉富吳郭魚生態習性相似，生長極慢，不適合推廣繁殖。

黃斑吳郭魚 (*Oreochromis niloticus*): 1966年由水產試驗所自日本引進，為吳郭魚的一種，體色黃棕色，體側有橫條紋，頭部、背部外廓略呈圓形，繁殖力強，眼睛呈紅色，雌雄體型差異小，肥滿度高，呈橢圓形，深受消費者喜愛，此外，雌雄比相近且耐寒、成長快速。

藍斑吳郭魚 (*Oreochromis aurea*): 1974年自以色列引進，體色呈暗棕色，眼睛呈深紫色，鱗蓋有暗紫色斑，吻至眼間呈淺藍色，於尾鰭有藍斑，又稱藍色吳郭魚，此品系雌雄體型差異大，但耐寒，繁殖力強，利亞吳郭魚主要是作為種魚的用途，生產單性魚子代。

改良種 (*O. niloticus* × *O. mossambicus*): 1975年雜交成功後推廣繁殖，此品系主要是為了解決吳郭魚繁殖上早熟的問題，及雌魚口孵期間不長，促使台灣吳郭魚繁殖進入商業化繁殖時代，開始大量繁殖，具有快速、易飼養、具有歐洲吳郭魚耐寒的優勢，深具前景，為未來吳郭魚發展的重心。

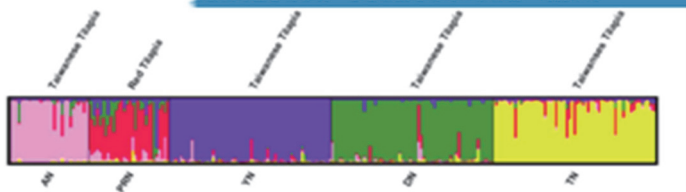
目前，上述由左至右分別為黑腳仔、黑頭、黃斑、改良種、紅眼、紅尾、藍斑、藍尾吳郭魚。



目前，上述由左至右分別為黑腳仔、黑頭、黃斑、改良種、紅眼、紅尾、藍斑、藍尾吳郭魚。

目前，上述由左至右分別為黑腳仔、黑頭、黃斑、改良種、紅眼、紅尾、藍斑、藍尾吳郭魚。

目前，上述由左至右分別為黑腳仔、黑頭、黃斑、改良種、紅眼、紅尾、藍斑、藍尾吳郭魚。



目前，上述由左至右分別為黑腳仔、黑頭、黃斑、改良種、紅眼、紅尾、藍斑、藍尾吳郭魚。

目前，上述由左至右分別為黑腳仔、黑頭、黃斑、改良種、紅眼、紅尾、藍斑、藍尾吳郭魚。

目前，上述由左至右分別為黑腳仔、黑頭、黃斑、改良種、紅眼、紅尾、藍斑、藍尾吳郭魚。

目前，上述由左至右分別為黑腳仔、黑頭、黃斑、改良種、紅眼、紅尾、藍斑、藍尾吳郭魚。

目前，上述由左至右分別為黑腳仔、黑頭、黃斑、改良種、紅眼、紅尾、藍斑、藍尾吳郭魚。

微衛星(microsatellite)簡介

真核生物的基因組中存在著大量且連續重複的序列，約每隔 10-550 Kb 就存在一個此一重複序列。這些連續重複的序列被稱為衛星DNA(satellite DNA)。按重複序列單位的長短，可將其分為重複序列單位的長度大於100 bp的衛星DNA(satellite DNA)、重複序列單位介於10 bp至100 bp之間的迷你微衛星DNA(minisatellites DNA)與重複序列單位小於10 bp的微衛星DNA(microsatellites DNA)(如圖3)。

微衛星的平均長度在100-300bp，具有高度的多態性和遺傳穩定性，適合作為遺傳學DNA分子標記。

利用微衛星DNA可以在幼齡階段進行非侵入性採樣，用於鑑定養殖品系間的遺傳關係，比較品系間基因相關位置進而了解基因的演化機制，有益於分子標記輔助育種，進一步挑選優良基因進行新品系的開發。

實驗目的

本篇研究之目的為利用微衛星DNA作為分子標記鑑定吳郭魚品系親代之基因型以建立完整的管理制度，此方法可有效的改進品系純度的問題，保留各品系的優良性狀，增加繁殖品系的基因多樣性，減少因近親交配所造成的基因劣化現象，並可促進水產品的「品牌化」；進一步經由產業改良生產技術應用於優良品系開發、育種及認證。

實驗方法

從各個民間繁殖場收集不同品系的吳郭魚，接著萃取魚體中的DNA，再以微衛星DNA基因引子系統進行聚合酶鏈鎖反應，接著以Li-cor4300進行膠體電泳分析，確定片段大小的正確性及反應的穩定性，分析樣品各個基因座上所具不同的等位基因之頻率來達到品系鑑定的目的。

收集的吳郭魚品系

目前蒐集到的品系有1966年由日本引進之純品系尼羅種吳郭魚、2011年取自花蓮水培所贈自Fishgen之純品系尼羅種吳郭魚、2006年取自Y吳郭魚繁殖場之尼羅種吳郭魚、U繁殖場的尼羅種吳郭魚，以及本實驗室自行繁殖的吉富品系(Genetic Improvement of Farmed)與歐利亞吳郭魚和2015年取自嘉義L繁殖場的吉富吳郭魚、G繁殖場的吉富吳郭魚、S繁殖場的短鰭性吳郭魚。

結果與討論

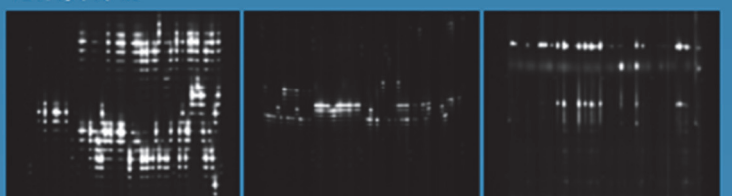


圖5▲不同品系之尼羅吳郭魚在13P-2-MS03微衛星基因座的表現

圖6▲不同品系之尼羅吳郭魚在13P-MS01微衛星基因座的表現

圖7▲不同品系之尼羅吳郭魚在UN2188微衛星基因座的表現

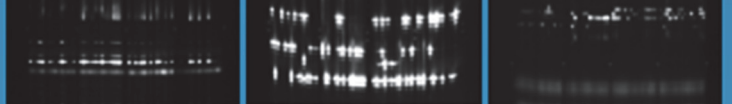


圖8▲不同品系之尼羅吳郭魚在UN2178微衛星基因座的表現

圖9▲不同品系之尼羅吳郭魚在UN2130微衛星基因座的表現

圖10▲不同品系之尼羅吳郭魚在UN2216微衛星基因座的表現

Strain	MS03	MS01	MS03	MS01
UN2112	100	100	100	100
13P-MS01	100	100	100	100
UN2117	100	100	100	100
UN2118	100	100	100	100
UN2119	100	100	100	100
13P-2-MS03	100	100	100	100
UN2122	100	100	100	100

Table 1. ▲ 視角為微衛星基因座，表格內為不同品系的魚在各基因座上的等位基因數，括弧內為各品系在基因座上特有的等位基因數。

未來展望

建立基因品系鑑定系統將有助於了解各繁殖場所販售的魚隻間的差異，得知各繁殖場魚隻的特色，並加強業者將產品「品牌化」，打破消費者對吳郭魚的傳統認知，提高臺灣鯛的品質層次，並證明產品來源，降低消費者認知風險，提高商品價值，強化臺灣鯛在國際市場上的競爭力，還可提供各繁殖場作為育種改良的依據，將這些遺傳與育種的資訊數據化，不再是依靠主觀的繁殖經驗，進一步保護臺灣鯛的優良品系。

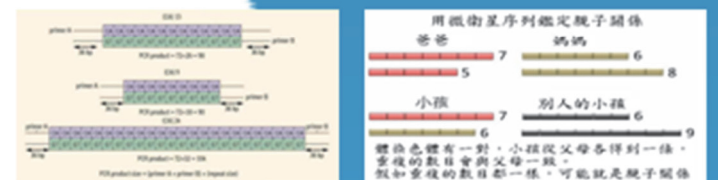


圖4▲利用微衛星DNA鑑定親子關係