

以全同胞近親育種選育高度近親紅色吳郭魚品系

曾福生* · 周賢鏘 · 盧民益 · 李憶如 · 朱惠真 · 林瑩祝 · 林金榮

行政院農委會水產試驗所水產養殖組

摘 要

本試驗之目的在應用近親配種的方法，選育高度近親之紅色吳郭魚 (*Oreochromis mossambica* × *O. nilotica*) 品系，以提供紅色吳郭魚進行商業化生產時之遺傳種原。以雌雄 1 比 1，黑白配，共 8 對，有 5 對產下 F₁ 仔代，黑色魚的比例為 3.17 ~ 11.72% (n = 5)。其中以編號 3 產下的 F₁ 仔代黑色魚最少 (3.17%)，選留為本試驗之基礎族群，自交建立 F₂。F₂ 共有 14 個家系，仔魚於三月齡時，體色可分為：全黑 (BB) 0 ~ 6 尾、紅底大斑 (RB) 5 ~ 16 尾、紅底散斑 (RsB) 13 ~ 39 尾、紅底散點 (RsP) 18 ~ 58 尾、淺紅稀點 (OrP) 19 ~ 51 尾、白底橙斑 (Wr) 3 ~ 20 尾及全白 (WW) 0 ~ 5 尾等 7 種類型，有 13 個家系體色類比率經卡方適合度檢定，卡方值 ($X^2_{6,0.05}$) 介於 1.45 ~ 10.80 之間，符合三對對偶基因遺傳型式 ($p > 0.05$)。從 F₂ 的各家系中選留全黑仔魚建立 TsB 家族、體色全白、鱗片透明的 TsR 家族以及白底橙斑或紅斑、局部鱗片透明的 TsR-1 家族，再經三代全同胞之近親選育固定品系，其近親配種係數之估值為 0.6718。

關鍵詞：紅色吳郭魚、部分顯性、全同胞配種、近親品系

前 言

尼羅吳郭魚 (*Oreochromis nilotica*) 與歐利亞吳郭魚 (*O. aureus*) 的雜交單雄性魚苗及紅色吳郭魚是台灣目前的主要養殖品種。由於吳郭魚的經濟性狀主要是以其雜種優勢 (heterosis) 及品種互補 (breeding complement) 為特點，所以繁養殖業者大都知道如何利用這樣的技術。雜種優勢及品種互補，是建立在品種的純度，愈純的品種，雜種優勢愈佳。這在尼羅吳郭魚與歐利亞吳郭魚的雜交單雄性魚苗就有很明顯的效果。惟雜種優勢及品種互補的特性是無法遺傳的，亦即雜交的種魚不能將其特性遺傳給後代。因此，若只知道引種雜交卻未進行配種管理，雜種優勢及品種互補的特性將逐代下降，而這也是導致目前吳郭魚種質混雜的主要因素。

臺灣的紅色吳郭魚 (*O. mossambica* × *O. nilotica*) 首先係由 Kuo (1969) 利用 1968 年發現

的白變種莫三鼻克吳郭魚 (*O. mossambica*) 和尼羅魚雜交而來。之後經過一系列的雜交、回交及選拔育種 (Huang *et al.*, 1988; Kuo, 1984, 1985, 1986, 1987, 1988)，其紅色比例由 30% 逐漸改良，目前雖已幾乎可達 100%，但仍然是雜交魚。

Huang *et al.* (1988) 認為臺灣的紅色吳郭魚中，桃紅體色的個體基因型是純合型，可與紅色吳郭魚配對產下全紅苗；但 Wohlfarth *et al.* (1990) 則認為臺灣的紅色吳郭魚並不是純系，無法純系繁殖，若要生產全紅苗，需要了解該體色的遺傳特性。本研究以家系選拔近親育種方式，以一對黑白親魚的極端體色性狀，先了解體色類型的總變異範圍，再從中選拔所要的體色類型個體，將體色表現型及基因型儘可能單純化，使體色表現型及基因型可以合理的配對，進而建立較準確的基因型的分子標誌。過程中所建立的吳郭魚品系有紅有黑，連續數代，各品系的魚均源自開始的一對黑白親魚，其中桃紅或白色，應已趨近純合基因型，而且已純系繁殖數代，可作為生產紅色吳郭魚苗的候選親本。

*通訊作者 / 基隆市和一路 199 號; TEL: (02) 2463-3101; FAX: (02) 2462-8138; E-mail: fstseng@mail.tfrin.gov.tw

材料與方法

一、吳郭魚來源

自屏東紅色吳郭魚繁殖場收集體型正常、鱗片透明的白變吳郭魚 8 尾，共 5♂ 和 3♀。將這 8 尾白變吳郭魚，以黑白配及白白配兩種方式，一對一配對，分別置於 FRP 水槽 (120 × 60 × 60 cm) 繁殖，建立 F₁ 全同胞家系。

二、配種方式

(一) F₁ 家系選拔

以一白配一黑的方式，置於 FRP 水槽配對繁殖，水溫為 25 ~ 30°C。以全同胞家系為篩選單位，排除體色偏離紅白黑相間的家系，留下個體全為紅白黑相間的 F₁ 家系。

(二) 建立 F₂ 家系

選留下的 F₁ 家系，每個家系內自交，選出的種魚經標識後，以♂:♀ = 1:3 的比例配對，置於 FRP 水槽，當雄魚有築巢行為後，即每日觀察雌魚是否有口孵動作。當口孵第五天時，小心的撈起雌魚，將口中的魚苗洗出，並更換另一尾雌魚，以維持♂:♀ = 1:3 的比例。洗出的魚苗計算尾數後，放養於水族缸 (60 × 35 × 30 cm)。

(三) 體色表現型

洗出的魚苗放養於水族缸一週後，以家系為單位，計算一週齡黑色苗及非黑色苗的尾數。逢機選取 60 尾飼育於水族缸中，每日以揉為團狀的鰻粉投餵兩次，記錄死亡情形並觀察體色變化。三月齡時以水族缸為單位，計算黑色苗及各類型紅色苗的尾數。將魚苗依體色分為：全黑 (BB)、紅底大斑 (RB)、紅底散斑 (RsB)、紅底散點 (RsP)、淺紅稀點 (OrP)、白底橙斑 (Wr) 及全白 (WW) 等七種類型 (Fig. 1)。

三、F₂ 以後的選拔標準

近親品系的建立流程如 Fig. 2 所示。依 F₂ 個體的體色類型，選留 BB、OrP、Wr 與 WW 四個族群。將 BB 個體集中，訂為 TsB 家族，WW 為 TsR 家族，OrP 與 Wr 個體合併為一群，為 TsR-1

家族。自 F₂ 以後，TsB、TsR 及 TsR-1 三個家族全同胞自交，每個世代雌雄分開選拔，選留體型正常、成長快的種魚。

近親係數參照 Falconer (1981) 之公式 $F_t = 1/4 (1 + 2F_{t-1} + F_{t-2})$ 計算，t = 近親代數，並假設所收集之原始親魚沒有親緣關係，即 F₀ = 0。

四、統計分析

實驗數據以卡方適合度檢定 (Chi-square goodness of fit) 分析，差異顯著水準 P = 0.05。

結果與討論

八尾白變的吳郭魚和體色全黑的親魚以一對一配對的結果，家系編號 1、3、6、7、8 等五對產下 F₁ 家系，而編號 2、4、5 等三對沒有後代產生 (Table 1)。五個 F₁ 家系的魚苗數分別為 197、189、197、239 及 202 尾。各家系 (編號 1 ~ 8) 在一週齡時魚苗尾數及體色的組成如 Table 1 所示。各家系中，黑色苗所佔的比例從 3.17 ~ 11.72%，無白色苗產生，其餘的個體並不是全紅色，而是紅底黑點相間的模式。魚苗成長至三月齡以後，黑色苗的體色未曾再改變，其尾數和一週齡時相同；紅黑相間者的體色則隨著成長與成熟，黑色斑紋會有變化，有些紅黑分明，有些則黑色斑顏色不深且又混雜紅色，呈現鐵銹色，但都屬於紅黑相間的模式。

Huang *et al.* (1988) 認為臺灣的紅色吳郭魚中，體色為桃紅或黑色個體的基因型是純合型 (RR, rr)。他們以該兩種體色類型的個體進行正反交試驗，結果雜交的 7 個 F₁ 家系中沒有黑色仔魚出現，全為紅色個體基因型 (Rr)，與本研究有全黑色仔魚產生的結果不盡相同。Huang *et al.* (1988) 係觀察兩週齡仔魚的體色，此時黑色苗已可明顯判別，應不至有誤差；然而紅色或桃紅體色者就不易明確區別，而且該研究只將體色區分為黑、紅及桃紅，忽略黑點或黑斑，有失簡化。另外，其結果顯示桃紅色對黑色是部分顯性效應，因此，從基因型判斷，Huang *et al.* (1988) 指的桃紅體色應與本文定義的白體色同屬於純合型。



Fig. 1 Seven phenotypic patterns of body color in F₂ progeny, including black (BB), strips and patches (RB), spotted (RsB), blotches (RsP), pepper (OrP), orange patches (Wr) and pearl white (WW).

Table 1 Proportion of black and non-black body color of one week-old progenies from crossing between one black and one white parents

Pair	WW	No. of black	No. of non-black	Total progeny	Proportion of black (%)
1	♂	13	184	197	6.60
2	♂	—	—	—	—
3	♂	6	183	189	3.17
4	♂	—	—	—	—
5	♂	—	—	—	—
6	♀	21	176	197	10.65
7	♀	28	211	239	11.72
8	♀	9	193	202	4.46
11	7♀×3♂	1	130	131	0.76
12	7♀×3♂	0	96	96	0
13	8♀×3♂	1	80	81	1.23

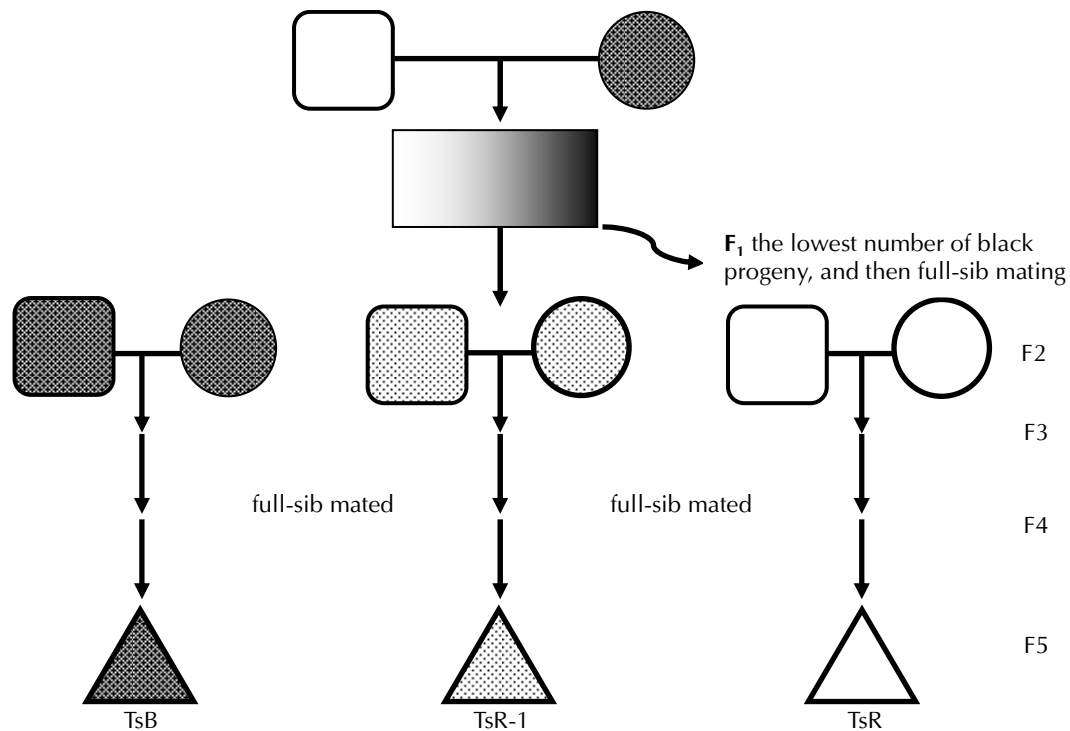


Fig. 2 A scheme of full-sib inbred process of TsB, TsR and TsR-1 lines. □ male; ○ female; △ pure line; ■ black; ▨ red or orange; □ white.

在白♂配白♀的組合中，3尾♀和2尾♂親魚配對後，只有7♀×3♂及8♀×3♂組有F₁仔代，其他組合沒有後代產生。其中7♀×3♂者，分別產下131尾（家系編號11）及96尾（家系編號12）魚苗；8♀×3♂者則產下81尾（家系編號13）（Table 1），黑色苗產生的比例為0~1.23%。此一結果顯示，即使是純合型自交還是會出現全黑色苗，但其基因型已趨近於純合型。

本研究以一黑一白的親魚配對結果顯示，F₁仔代不是全部黑色或全部白色，而是全黑及黑紅白相間，顯示體色遺傳沒有完全顯性效應 (dominance)，而是只有部分顯性效應 (partial dominance)。這點和 Wohlfarth *et al.* (1990) 的結果一致；彼等認為體色的區分僅止於黑色的 wild-type 和非黑色的 non-wild-type（即紅色或白色）兩類。台灣的紅色吳郭魚為尼羅吳郭魚及莫三鼻吳郭魚的雜交，因此推論台灣紅色吳郭魚的體色遺傳效應為部分顯性效應，所以影響體色的對偶基因應該不只一對；而莫三鼻克的黑色遺傳效應較強，即黑色基因為顯性 (RR)，紅色為隱性 (rr)。

Wohlfarth *et al.* (1990) 檢視 Huang *et al.* (1988) 所提之紅配紅仔代的分離現象，在兩週齡時，仔代的黑紅比為1:3，此可能是因為紅色及桃紅色在兩週齡時不易判別，因此皆被歸為紅色類型；迄兩月齡時，即可逐漸區分出紅色及桃紅色，因此認為台灣紅色吳郭魚體色的控制在一個基因座上有2個部分顯性對偶基因。

由於體色遺傳極為複雜，為簡化選拔流程，選出家系編號3的F₁全同胞家系，該組產出的仔魚共計189尾，體色全黑者6尾，是所有試驗組中黑色苗最少者，亦即是最趨近於雜合型的家系；其餘的183尾的體色類型為紅黑斑或點狀相間的花斑魚。排除體色全黑的6尾，從183尾紅色帶有黑斑的群體中，逢機挑選雌雄比=1:3的種魚，配對繁殖F₂，共收集14對全同胞家系，各家系產出的仔魚數在67~184尾之間，差距114尾，變異很大；但每一家系都有全黑苗，比例為5.54~9.19% (Table 2)。至三月齡體色發育穩定後，F₂各家系中，BB、RB、RsB、RsP、OrP、Wr及WW等七種體色表現類型所佔的比率如Table 3所示。經卡方適合度檢定，體色表現類型符合1:6:

Table 2 Proportion of black and white of F₂, three-month-old progenies from inbred F₁ (No. 3) family

F ₂ family	Total	No. of black 3-month-old	No. of white 3-month-old
1	124	2 (1.61%)	1 (0.81%)
2	87	2 (2.30%)	0 (0%)
3	166	3 (1.81%)	3 (1.81%)
4	118	3 (2.54%)	0 (0%)
5	67	3 (4.48%)	5 (7.46%)
6	184	2 (1.09%)	4 (2.17%)
7	121	6 (4.96%)	2 (1.65%)
8	182	6 (3.30%)	4 (2.20%)
9	107	5 (4.67%)	3 (2.80%)
10	139	2 (1.44%)	2 (1.44%)
11	115	3 (2.61%)	2 (1.74%)
12	173	4 (2.31%)	0 (0%)
13	96	0 (0%)	0 (0%)
14	157	2 (1.27%)	1 (0.64%)

Table 3 Categorized body color of F₂ progeny

family	progeny	BB	RR					WW	X ²
			RB	RsB	RsP	OrP	Wr		
1	124	2	10	29	39	33	10	1	1.45
2	87	2	7	22	26	19	11	0	3.09
3	166	3	17	40	56	35	12	3	1.83
4	118	3	13	24	39	29	10	0	3.68
5	67	3	5	13	18	20	3	5	22.6
6	184	2	16	46	53	51	12	4	4.38
7	121	6	9	24	41	26	13	2	10.80
8	182	6	14	39	58	41	20	4	5.43
9	107	5	12	23	37	19	8	3	10.50
10	139	2	13	29	39	39	15	2	2.44
11	115	3	12	24	37	30	7	2	2.99
12	173	4	14	38	57	42	18	0	4.20
13	96	0	8	23	30	24	11	0	3.67
14	157	2	16	34	52	32	18	1	2.80
Total	1836	43	166	408	582	440	168	27	9.05
mean	131.1429	3.07	11.86	29.14	41.57	31.43	12.00	1.93	

BB: black; RB: strips and patches; RsB: spotted; RsP: blotches; OrP: pepper; Wr: orange patches; WW: pearl white

X²_{6,0.05} = 12.592

15 : 20 : 15 : 6 : 1 分離比 ($p > 0.05$)，符合三對對偶基因遺傳型式。依多基因假說，F₂ 極端體色，即 BB 和 WW 的外表比率約 $\approx 1/64 = (1/4)^3$ 。Behrends *et al.* (1982) 指出，有 2 ~ 3 對的基因會影響紅色吳郭魚的體色變異；但根據 Rajae *et al.* (2010) 研究顯示，英國 Stirling stock 的紅色尼羅魚，只有一對對偶基因控制紅色變異；Huang *et al.*

(1988) 和 Wohlfarth *et al.* (1990) 也都認為在二月齡之前不容易判別體色，尤其是紅色和桃紅色在幼苗階段更不容易區別，因此幼苗期僅能判別全黑苗和紅色苗兩種類型。

本研究對 F₂ 群體的體色判別計量，並非一月齡以內的魚苗，而是三月齡成熟以後。此時，全黑苗已不會隨著月齡的增加而改變體色，但是紅

Table 4 Deformity and mortality rate from one-week-old to three-month-old of TsB, TsR, and TsR-1 lines

Lines	Generation	No. of one-week-old progenies	No. of three-month-old progenies	Mortality rate	Deformity (%)
TsB	F ₃	504	483	21 (4.17%)	57 (11.31%)
	F ₄	416	401	15 (3.66%)	51 (12.26%)
	F ₅	483	473	10 (2.07%)	56 (11.59%)
TsR	F ₃	381	336	45 (11.81%)	116 (30.45%)
	F ₄	427	386	41 (9.60%)	93 (21.78%)
	F ₅	292	246	46 (15.75%)	69 (23.63%)
TsR-1	F ₃	337	313	24 (7.12%)	61 (18.10%)
	F ₄	369	351	18 (4.88%)	59 (15.99%)
	F ₅	305	276	29 (9.51%)	76 (24.92%)

色苗則會產生變化，其中有些個體在性成熟前是紅色沒黑點，成熟後反而有黑點產生；有的會出現橙色斑，或者由橙色轉成紅色，顯示性成熟和成長還是會影響紅色吳郭魚的體色。由此可知，影響體色的三對對偶基因中，應有兩對是間接影響，最明顯的是性成熟的雄魚，其紅色、橙色體色加深，在鰓蓋下方和胸鰭之間有黑斑出現，即產生所謂的婚姻色，但體色類型並沒有改變。這些現象或許可從卡方適合度檢定的分析值看出，在所有家系中，有 13 個家系的卡方值 ($X^2_{6,0.05} = 12.592$) 介於 1.45 ~ 10.80 之間，僅有編號 5 之家系的卡方值超出，為 22.6。變異越大，代表紅色吳郭魚內在環境及外在環境交互影響體色的變化。

因此，F₂ 群體的選拔方式係將 14 家系中，體色全黑的魚選拔出來成為 TsB 群，全白者歸為 TsR，紅色及橙色者歸為 TsR-1。F₂ 以後，由 TsB、TsR 及 TsR-1 連續各自群內自交三個世代 (F₃、F₄、F₅)，固定體色性狀。各世代繁殖之魚群的近親係數分別為 F₀ = 0、F₁ = 0.250、F₂ = 0.375、F₃ = 0.500、F₄ = 0.5937 及 F₅ = 0.6718。建立近交紅色吳郭魚品系 (inbred strains) 的近親係數值為 0.6718，各世代的死亡率及畸型率如 Table 4 所示。TsB 從 F₃ 以後，體色表現即已固定，發生脊椎畸形的比例為 11.31 ~ 12.26%，多半出現在尾柄部分；TsR-1 為紅色及橙色斑品系，F₅ 以後，超過三月齡的雌魚體還是會有細微的點狀斑出現，脊椎畸形率 15.99 ~ 24.92%，也以尾柄部分的發生率較高；TsR 在 F₄ 以後，三月齡之前的體色全白且

鱗片呈透明狀，之後仍有局部鱗片為透明狀，脊椎畸形率 21.78 ~ 30.45%，多集中在鰓蓋至尾柄之間，偶而會出現沒有尾鰭的畸形魚。

三個近交系中，TsR 家族的體色近乎白色，有些個體即使體型正常，但活動力仍然不佳。推測此現象可能是由於體色基因的多效性效應 (pleiotropic effect)，亦即與淡體色的品系有關 (Huang *et al.*, 1988; Wohlfarth *et al.*, 1990)，且品系體色愈淡，退化現象愈為明顯，在鯉魚也可觀察到類似的情況 (Katasonov, 1973)。另外，成長和性別也有基因多效性的表現，例如雄性吳郭魚的成長明顯較雌魚為佳。當這些相對有害的基因，隨著近親繁殖、純合率的增加而累積，有害的外表型也會隨之提高，進而影響近親品系的存續。將不能存活的品系淘汰，留下可延續的品系進行繁殖，擴大其族群數量，作為體色育種的種原，同時利用這些品系作為模型，評估有害基因累積的外表型與近親係數間的相關遺傳效應，以平衡近親選拔所造成的退化現象，進而作為種魚管理的參考。

結 論

全同胞近親方式配合紅色吳郭魚體色選拔，可以有效的固定體色性能之遺傳組成的品系。在選育的 3 個近親品系中，TsB 體色為黑色品系；TsR-1 為紅色及橙色斑品系，過了三月齡以上的雌魚，體表還是會有細微的點狀斑出現；TsR 為體色全白品系，鱗片在三月齡之前呈透明狀，之後局

部鱗片維持透明。在應用雜交優勢，進行遺傳性能之改進時，在紅體色方面，TsR 及 TsR-1 二個近親品系可以提供很好的遺傳種原。

謝 辭

本研究承畜產試驗所遺傳育種組研究員黃鈺嘉博士在研究期間提供寶貴建議以及對本文的斧正，特此誌謝。

參考文獻

- Behrends, L. L., R. G. Nelson, R. Q. Smitherman and N. M. Stone (1982) Breeding and culture of the red-gold color phase in tilapia. *J. World Maricult. Soc.* 13:210-220.
- Falconer, D. S. (1981) *Introduction to Quantitative Genetics* (2nd ed.). Longman, London and New York, 84: 245-246.
- Huang, C. M., S. L. Chang, H. J. Cheng and I. C. Liao (1988). Single gene inheritance of red body coloration in Taiwanese red tilapia. *Aquaculture*, 74: 227-232.
- Katasonov, V. Y. (1973) A study of pigmentation in hybrids between the common and the decorative Japanese carp: I. A study of the dominant pigmentation types. *Genetika*, 9: 59-69.
- Kuo, H. (1969) Notes on the hybridization of tilapia. *JVRR Fish. Ser.*, No. 8, pp. 116-117.
- Kuo, H. and T. T. Tsay (1984) Study on the genetic improvement of red tilapia cross breeding and its growth. *Bull. Taiwan. Fish. Res. Inst.*, 36: 69-92.
- Kuo, H. and T. T. Tsay (1985) Study on the genetic improvement of red tilapia cross breeding and its growth. *Bull. Taiwan. Fish. Res. Inst.*, 39: 1-14.
- Kuo, H. and T. T. Tsay (1986) Study on the genetic improvement of red tilapia cross breeding and its growth. *Bull. Taiwan. Fish. Res. Inst.*, 40: 173-185.
- Kuo, H. and T. T. Tsay (1987) Study on the genetic improvement of red tilapia cross breeding and its growth. *Bull. Taiwan. Fish. Res. Inst.*, 42: 243-257.
- Kuo, H. and T. T. Tsay (1988) Study on the genetic improvement of red tilapia cross breeding and its growth. *Bull. Taiwan. Fish. Res. Inst.*, 44: 151-165.
- Rajaei, A. H., F. A. Huntingford, K. J. Ranson, B. J. McAndrew and D. J. Penman (2010) The effect of male colouration on reproductive success in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Aquaculture*, 308: 119-123.
- Wohlfarth, G. W., S. Rothbard, G. Hulata and D. Szweigman (1990) Inheritance of red body coloration in Taiwanese tilapias and in *Oreochromis mossambicus*. *Aquaculture*, 84: 219-234.

Breeding of Inbred Lines in Taiwanese Red Tilapia - Effects of Inbreeding under Full-sib Mating

Fu-Seng Tseng^{*}, Shiarn-Chiang Chou, Min-Yih Lu, Huei-Jen Chu, Yi-Ju Lee,
Ying-Chu Lin and King-Jung Lin

Aquaculture Division, Fisheries Research Institute

ABSTRACT

The objective of this study was to develop inbred lines of Taiwanese red tilapia (*Oreochromis mossambicus* × *O. niloticus*) that could provide genetic resources for commercial production. Using one black mating one white, five out of a total 8 pairs produced F₁ progenies. The rate of black occurred from 3.17% to 11.72% in 5 progenies. The progenies from no. 3 that had the lowest number of black tilapia were selected to generate inbred F₂. In F₂, the body color of progenies was examined at the age of three months. Based on the phenotypic pattern, the body color of 13 progenies were grouped into 7 types as black (BB), strips and patches (RB), spotted (RsB), blotches (RsP), pepper (OrP), orange patches (Wr) and pearl white (WW). The goodness of fit by Chi-square showed that the color pattern was fitted as three pairs of gene genetic mode ($p > 0.05$). Three inbred lines were then selected as TsB (black), TsR (white) and TsR-1 (white patched with red or orange). After three full-sib mating, the inbreeding coefficient of F₅ was 0.6718.

Key words: Taiwanese red Tilapia, partial dominant, Full-sib mating, Inbred line

*Correspondence: Aquaculture Division, Fisheries Research Institute, 199 Hou-lh Rd, Keelung 202, Taiwan. TEL: (02) 2463-3101; FAX: (02) 2462-8138; E-mail: fstseng@mail.tfrin.gov.tw