

用遺傳標記推測種苗放流成效： 現狀與應用上的注意事項

圖、文 / 臺灣海洋大學水產養殖系退休教授 郭金泉

日本東京海洋大學北田修一教授於 2014 年 7 月在日本水產學會誌 (Nippon Suisan Gakkaishi) 撰寫回顧綜述文：遺傳標識による種苗放流効果の推測：現状と適用上の留意点。此主要探討如何利用 DNA 技術評估水產放流的成效與影響。此文也提出利用遺傳標識 (Genetic marking) 來評估水產種苗放流效果的現況與實際應用上的注意事項。這篇文章詳細列舉日本與全球水產放流先進國在「增殖放流 (Stock Enhancement)」計畫中，利用遺傳標記技術評估成效的現況與技術挑戰。

摘要

近年來，日本的增殖放流計畫已展開多項遺傳標記研究，主要以日本對蝦 (*Marsupenaeus japonicus*，又稱斑節蝦，車海老) 為對象，藉此評估放流成效。為了獲得有效的評估結果，深入理解實驗設計與統計推論方法至關重要。本研究綜述了全球增殖放流計畫中遺傳標記研究的現狀，並探討了評估稚蝦放流效能及其影響時的實際問題。

1. DNA 親子鑑定的準確性與限制：精確的 DNA 親子鑑定 (Parentage Assignment) 需要對親代進行完整的取樣。以日本對蝦為例，由於在大多數情況下無法獲得父本資訊，其親子鑑定的準確度最高僅能達到 50%。在這種情況下，於進行大規模實驗之前，必須先對子代進行基因型鑑定，或利用外部標記 (External Markers) 識別放流的後代，以證實遺傳標記的有效性。

2. 世代間效應的評估：研究中利用 DNA 親子鑑定、歸屬分析法 (Assignment Methods) 以及遺傳族群鑑定 (Genetic Stock Identification)，來評估放流對世代間所產生的影響。本回顧綜述強調，若要釐清日本增殖放流計畫的實際成效，研究人員必須對實驗設計與估算方法具備基礎理解，這對於確保放流事業的有效性及其對自然族群的影響至關重要。

專業術語解析：

- **Stock Enhancement (增殖放流)：**指透過人工繁殖並將幼體放流至自然水域，以增加漁業資源量的行為。
- **Genetic Marking (遺傳標記)：**利用生物體 DNA 序列的差異作為標誌，追蹤放流個體及其後代。
- **Parentage Assignment (親子鑑定 / 親權歸屬)：**透過基因比對，確定捕獲到的個體是否為人工放流親代的後代。
- **Genetic Stock Identification (遺傳族群鑑定)：**辨識混合漁獲中不同遺傳來源 (如野生族群與人工放流族群) 比例的技術。

背景：過去主要依靠外部標記 (如剪鰭、掛牌) 追蹤放流效果，但隨著生物技術進步，遺傳標記 (Genetic Marking) 成為評估放流成效、追蹤後代存活及對野生族群影響的重要工具。本文回顧全球利用遺傳標記評估放流效果的現狀，並提出在實驗設計與統計推論上應注意的實務問題。

一、遺傳標識的應用背景與目的

- 標識放流對於定量掌握種苗放流的生產效果（直接效果）與野生族群的影響（再生產效果）至關重要。
- 甲殼類（如斑節蝦、梭子蟹）因脫殼會導致傳統的外部標識脫落，因此近年來日本開始採用遺傳標識來評估放流效果。
- 傳統外部標識或化學標識主要用於評估當代的「直接效果」。
- 遺傳標識在基本定位上，是作為推測跨世代「再生產效果」的工具。

二、評估放流效果的三大遺傳分析手法

• DNA 親子判定 (DNA Parentage Assignment)

- 必須對種苗生產所使用的所有親魚進行完整的基因型調查，才能獲得高精確度的結果。
- 以斑節蝦為例，因種苗生產通常僅有母蝦資訊（父蝦未知），使得親子判定的解析度最高僅約 50%。
- 推測母集體中放流個體比例的精確度，會隨著親代數量減少、樣本數減少、或是放流比例偏低而大幅下降。

• 群體歸屬分析 (Assignment Methods)

- 此方法透過基因型計算，判定個體是歸屬於野生群體或是放流親代群體。
- 其判斷精確度主要取決於群體間的遺傳分化程度（如 F_{ST} 值的大小）以及使用的基因標記數量。
- 多數海洋水產動物的遺傳分化極小，因此需要極大量的基因標記才能達到高精確度，可能不符成本效益。

• 遺傳系群識別 (Genetic Stock Identification, GSI)

- 透過混合群體與基準群體的基因型資訊，推測各群體的混合率。
- 若放流群體可以明確作為「基準群」，GSI 是一個非常符合統計模型的現實選擇。
- 此方法能夠將放流群體的基因滲透程度（即再生產效果）作為混合率來進行定量推測。

遺傳標記的主要應用方法

1. 親子鑑定法 (Parentage Assignment): 透過分析放流種苗及其父母的 DNA，追蹤放流魚隻在自然環境中的存活率與繁殖貢獻。限制：需要完整的父母樣本。若缺乏雄魚資訊（如斑節蝦的例子），鑑定準確度最高僅約 50%。
2. 混合族群分析 (Mixed Stock Analysis, MSA): 利用基因頻率的差異，推估漁獲物中來自不同源頭（放流 vs. 野生）的比例。
3. 遺傳組成監測：評估放流是否導致野生族群的遺傳多樣性降低或產生遺傳污染（雜交）。

三、實務應用上的留意點與結論

- 考量到精確度與調查成本，評估「直接效果」仍以自然標識或化學標識較為妥當。
- 若要追蹤魚類的「移動與洄游」，建議優先使用傳統的外部標識。
- 進行特定基因標記的大規模放流實驗時，具有改變野生群體遺傳組成的風險，因此實施前應謹慎評估。
- 隨著次世代定序 (NGS) 技術的普及，未來基因標記數量的飛躍性增加將有望大幅提升群體解析的精確度。

若將內容圖像化為三個部分：標識工具對照、三大遺傳分析手法比較，以及決策路徑圖。

1. 標識工具的「守備範圍」不同的標識方式，解決的問題不同：

標識類型	傳統標識（外部 / 化學）	遺傳標識（DNA）
對象	當代放流個體	放流個體及其後代
主要功能	直接效果（活存率、移動）	再生產效果（基因滲透、子代比例）
缺點	脫殼即消失（如蝦蟹類）	分析成本較高、需要基準數據

2. 三大遺傳分析手法：原理可以想像成三種不同的「認親」邏輯：

A. DNA 親子判定 (Parentage Assignment)

- **邏輯**：比對「父母」與「子女」的指紋。
- **限制**：如果沒抓到爸爸（如斑節蝦），精確度直接砍半（只有 50%）。
- **關鍵圖示**：[親魚資料庫] <-----> [捕獲個體] (1:1 對照)

B. 群體歸屬分析 (Assignment Methods)

- **邏輯**：根據「口音」判斷你是哪裡人（放流種苗 vs 野生群體）。
- **限制**：如果兩群人住太近、基因太像（FST 值低），就分不出來。
- **關鍵圖示**：[野生群體 A] / [放流群體 B] -----> [判定歸屬]

C. 遺傳系群識別 (GSI)

- **邏輯**：算出這一池水裡，有多少比例是「加糖」的。
- **優點**：不需要每隻都認親，是用統計模型算「混合比例」。
- **關鍵圖示**：[混合採樣] -----> [估算：30% 來自放流後代 / 70% 來自原生種]

核心總結 這篇回顧文獻其實在提醒我們：「遺傳標識不是萬靈丹」。

如果只是想看這批蝦子放下去活多少，用傳統標識（如果不會脫掉的話）更省錢精準。如果要看放下去的蝦子有沒有「生小蝦」並融入族群，才需要用到 DNA 技術。

結語：遺傳標記於增殖放流成效評估之應用

1. 放流種苗的檢測與推定精度

目前主要利用 **DNA 親子鑑定** 來檢測樣本中的放流種苗。若要精確判定放流個體，前提是必須對所有用於種苗生產的親代進行完整的基因型調查（全數取樣）。

在推定母群體中放流個體比例 (Ph) 時，若親代數量愈多、放流比例 Ph 愈小、或子代樣本數愈少，推定的精確度就會隨之下降。若要根據 Ph 推估整體的放流效果，必須像現有方法一樣，採用考量了抽樣方式的總數推定法。

2. 再生產效果（遺傳貢獻）的評估方法

評估種苗放流的再生產效果（即放流魚對下一代的遺傳貢獻）時，常用的方法包括 **DNA 親子鑑定**、基於基因型的 **個體歸屬分析 (Assignment)** 及 **遺傳族群鑑定 (GSI)**：

- **DNA 親子鑑定**：用於推定繁殖成功率 (RS)。然而，這需要對親代與子代進行全數基因型調查（完全抽樣），這在海產魚介類的研究中往往並不現實。
- **個體歸屬分析法**：其精度取決於放流群體與野生群體之間的遺傳分化程度 (Genetic differentiation) 以及標記數量的多寡。對於遺傳上與野生群體極為接近的人工種苗，為了提升歸屬精度而分析大量標記的成本，往往不具備經濟效益。

- 遺傳族群鑑定 (GSI)：在放流群體基因型為已知 (基準群) 的情況下，GSI 是較符合統計模型的選擇。它能將放流群體的遺傳滲透 (再生產效果) 視為「混合率 (Mixing rate)」來進行推定，是目前較為務實的选择。

3. 未來展望與微衛星標記 (Msat) 的精度

隨著次世代定序 (NGS) 的普及，遺傳標記數量預計將迅速增加，這將大幅改變進化生態與保育遺傳的研究面貌，並提升族群分析 (包括歸屬法與 GSI) 的精度。

然而，針對親子鑑定，現有的微衛星標記 (Msat) 數量已能提供足夠的精度。若假設單一座位將非親代誤判為親代的機率為 0.3，使用 8 個 Msat 座位時，誤判率僅為 $1-0.38=0.9999344$ ，意即正確判定親代的機率高達 0.9999344。因此，利用親子鑑定評估放流成效的關鍵，本質上不在於標記數量，而在於是否能對所有親代進行基因型調查以及對子代進行適當的抽樣。

實務上的關鍵問題與注意事項

- a. 實驗設計的嚴謹性：在進行大規模放流前，應先進行小規模測試，並結合外部標記驗證遺傳標記的有效性。需考慮「樣本數」是否足以在統計上產生顯著意義。
- b. 基線數據的建立：必須在放流前對該海域的野生族群進行詳細的遺傳背景調查 (Baseline)，否則難以區分放流個體與原生個體。
- c. 遺傳多樣性的維護：放流群體的有效種群大小 (N_e) 若過小，可能導致近親交配，進而影響野生族群的適應力。

4. 遺傳標記的長處與風險

遺傳標記的優點在於它能伴隨魚體一生，且不會造成標識死亡。但由於放流可能改變天然族群的遺傳組成，進行大規模實驗時必須保持審慎。

綜合評估後的建議：

- 直接效果 (存活率)：建議使用自然標記或化學標記進行推定，較具成本效益。
- 移動與洄游：建議使用外部標記。針對甲殼類，則期待能開發出克服脫殼脫落問題的新型外部標記。
- 再生產效果：遺傳標記基本上是推算再生產效果的工具。

研究者應根據目的選擇最合適的方法，以提供科學證據支持增殖放流的成效評估。

海洋遺傳資源的精準管理：群體歸屬與 GSI 詳細解構

群體歸屬分析 (Assignment Methods): 個體層面追蹤

- 個體採樣**
A. 個體名
B. 個體多座 SNP 型號
C. 個體歸屬分析 (Individual Assignment)
計算個體與各基準群的尤度比 (Likelihood Ratio) 或 LOD 得分，執行統計歸屬
- 個體多座 SNP 型號**
分析多座單核苷酸多態性 (SNP) 標記，建立個體獨特型號
SNP01 A/A, A, T/G, T/G...
SNP02 A/A, A, T/G, T/G...
SNP03 A/A, A, T/G, T/G...
SNP04 A/A, A, T/G, T/G...
SNP05 A/A, A, T/G, T/G...
SNP06 A/A, A, T/G, T/G...
SNP07 A/A, A, T/G, T/G...
- 個體歸屬模型**
CERVUS or structure 軟件
Baseline
Likelihood = $\frac{LIM\ stnds\ (F1)}{Log-odds\ score}$

採樣漁場混合群 (Mixed Sample)

採集商業漁獲物中的混合樣本，分析所有個體 DNA

漁場

- 分配結果卡片**
個體 A → 放流群體 (機率 0.98)
個體 B → 野生區 A (機率 0.95)
個體 C → 野生區 B (機率 0.90)
判定每個個體的最可能源群體及機率

統計混合模型 (Statistical Mixture Model)

輸入基準群數據和混合樣本數據，使用複雜統計模型 (如貝氏法) 估計各來源的最可能貢獻比例

貝氏統計混合模型 (Bayesian Statistical) 使用複雜統計模型 (如貝氏法) 估計各來源的最可能貢獻比例

資源造成與再生產效果 (Reproductive Success)

家譜
放流親代 (F0) → 野生環境交配 → 子代 (F1) 家譜與雜交監測
F0: 30% 放流後代 (F1), 20% 野生 B, 50% 野生 A
F1: 30%, 20%, 20%

放流親代 (F0) → 野生環境交配子代 (F1) 在漁獲物中的比例 (定量評估放流再生產貢獻)

綜合結果應用與深化

資源造成效果定量

再生產貢獻評估
30% | 20%

雜交監測成果 (詳解)

未來：次世代定序 (NGS) 和多座 SNP 標記讓精準度飛躍

基於《日本水產學會誌》研究

大海裡的遺傳導航系統：起源群推測

歸屬法 (個體): 『核對身分證』

『放流生』

• 遺傳分化 (F_{ST}) 大 → 準確
• 基因座多 → 準確

判定歸屬: 繁養殖場

繁養殖場 | A野生區 | B野生區

遺傳系群識別 (GSI): 『分析成分比例』

30% 放流後代, 20% 野生 B, 50% 野生 A

繁養殖場基準 | A野生區基準 | B野生區基準

• 統計推算
• 評估再生產效果
• 資源管理

未來：次世代定序 (NGS) 讓精準度飛躍

基於《日本水產學會誌》研究