



RRPG92020515 (31..P)

台灣櫻花鉤吻鮭
(*Oncorhynchus masou formosanus*)
種內基因多樣性之研究(二)

Studies on the intraspecific gene diversity of
Formosan landlocked salmon
(*Oncorhynchus masou formosanus*)(II)

內政部營建署雪霸國家公園管理處委託研究報告

092-301020500G-009

台灣櫻花鉤吻鮭
(*Oncorhynchus masou formosanus*)
種內基因多樣性之研究(二)

Studies on the intraspecific gene diversity of
Formosan landlocked salmon
(*Oncorhynchus masou formosanus*)(II)

受委託者：國立台灣海洋大學水產養殖系

研 究 員：郭孟杰

內政部營建署雪霸國家公園管理處委託研究報告

中華民國九十二年十二月

目次

表次	II
圖次	III
摘要	IV
第一章 緒論	1
第二章 材料與方法	3
第三章 結果與討論	7
誌謝	10
參考書目	11

表次

表一、實驗中所使用的引子資料表	12
表二、聚炳烯凝膠配製表	13

圖次

圖一、微衛星 DNA 解說圖	14
圖二、微衛星 DNA 的共顯性	15
圖三、微衛星 DNA 的重複片段	16
圖四、PCR 反應溫度與時間關係圖	17
圖五、實驗步驟流程圖	18
圖六、台灣櫻花鉤吻鮭 PCR 產物電泳圖(1)	19
圖七、台灣櫻花鉤吻鮭 PCR 產物電泳圖(2)	20
圖八、虹鱒 PCR 產物電泳圖(1)	21
圖九、虹鱒 PCR 產物電泳圖(2)	22
圖十、虹鱒 PCR 產物電泳圖(3)	23
圖十一、虹鱒 PCR 產物電泳圖(4)	24

摘 要

關鍵詞：台灣櫻花鉤吻鮭、微衛星 DNA、引子、基因多型性

一、研究緣起

為了評估及監測人工復育台灣櫻花鉤吻鮭放流之成效，同時能持續監控整個族群遺傳結構的經時演變，建立台灣櫻花鉤吻鮭親子鑑定之技術，可以廣泛應用於每年的保育工作及各項後續的復育研究。

二、研究方法及過程

本研究利用 91 年度從台灣櫻花鉤吻鮭微量樣本抽取基因組 DNA 所建立的技術，並根據微衛星 DNA 種原相似性的原理，選取在種原相近魚種(虹鱒、褐鱒、大西洋鮭、紅鮭)已發表的 13 對引子，嘗試攫取台灣櫻花鉤吻鮭的微衛星 DNA，並輔以虹鱒為對照。分析微衛星 DNA 時，使用解析能力比水平電泳更強的垂直電泳方式。

三、重要發現

實驗結果發現，13 對引子之中有 4 對可以顯示虹鱒的基因多型性，進而區別出不同的虹鱒個體，但是在台灣櫻花鉤吻鮭方面，此 13 對引子都不能區分個體的差異。

四、主要建議事項

立即可行建議：基於櫻花鉤吻鮭人工養殖族群的基因多樣性考量，建議每年在進行人工繁殖期間，盡量採集不同河段的親魚來進行人工受精，以增加人工養殖族群的基因豐富度。

主辦機關：雪霸國家公園管理處保育課

協辦機關：雪霸國家公園管理處武陵管理站

第一章 緒論

行政院農業委員會於2000年4月10-13日在台中縣集集鎮行政院農委會特有生物研究保育中心召集台灣、美、加、日等專家學者及政府相關部門人員共五到六十人舉辦台灣櫻花鉤吻鮭保育研究國際研討會。當年經由腦力激盪，群策群力，而擬出有具體時間表、踏實、可資評鑑的行動策略，堪稱是台灣保育歷史（淡水魚類）的一個里程碑。茲摘錄部分決議之行動策略重點於下：『本研討會研議的「保育行動策略」，是結合國外鮭鱒魚類專家及國內真正關心台灣櫻花鉤吻鮭、真正希望解決台灣櫻花鉤吻鮭困境的專家學者集思廣益產生的結晶。研討會的結束絕不是一場學術大拜拜的休止符，而是台灣櫻花鉤吻鮭魚保育工作全新的開始，台灣保育史的另一個新里程碑。政策委員會及技術委員會在台灣櫻花鉤吻鮭的保育工作上將扮演相當吃重的角色，我們亟待主管機關儘速成立，未來能透過前揭二委員會發揮跨部會整合有限資源的功能，逐步落實與充實保育工作，徹底解決台灣櫻花鉤吻鮭的生存困境，為國寶魚打造永續生存的美麗未來。

為了達成上述總目標及工作目標，櫻花鉤吻鮭的復育策略和工作項目如下：一、復育策略：為了台灣櫻花鉤吻鮭族群的復原並預防其絕種，復育策略有三，包括：保育養殖場之建立、棲地之復原、衛星族群之建立，其工作項目如下：冷凍精液保存(Semen cryopreservation)：為保存遺傳特性並預防族群滅絕，現階段應建立冷凍精液保存設備，未來更應發展魚卵或胚體的凍結保存技術。養殖方法：於保育養殖場內維持能完成生活史的櫻花鉤吻鮭人工族

群，在台灣仍在試驗階段。養殖技術與試驗研究需要密切結合，若欲吸取鮭鱒魚類人工繁殖經驗與技術，可向美、日等國參觀與學習，或請國內、外專家學者協助。放流與監測：七家灣溪櫻花鉤吻鮭放流已有 10 年之久，但卻無監測放流後仔魚之存活率及評估對野生族群之貢獻。在此建議保育養殖場開始運作前五年繁殖之仔魚不予放流，先作為建立人工養殖族群之用(第一優先)。人工養殖族群建立後能產生大量仔魚時才開始進行人工放流。放流魚類須進行標誌，俾利監測放流後在自然溪流中之生存率及死亡率，以判定對野生族群之貢獻，避免盲目放流。另亦同時研究放流仔魚最適大小、時間及位置，以提高放流生存率。』。

本計畫即依據櫻花鉤吻鮭保育研究國際研討會的決議和共識，在雪霸國家公園境內的大甲河流域七家灣溪進行建立櫻花鉤吻鮭(*Oncorhynchus masou formosanus*)的分子遺傳標記調查。研究內容包括(1)尋找櫻花鉤吻鮭特有的分子標記—微衛星 DNA；(2)以上述微衛星 DNA 進行族群親子鑑定及族群的遺傳變異分析。(3)探討櫻花鉤吻鮭野外放流之效果。希望能為每年的保育工作及各項後續研究提供更有用的參考。

第二章 材料與方法

一、樣本採集與保存

台灣櫻花鉤吻鮭(*Oncorhynchus masou formosanus*)是採集自2003年3月至10月期間於雪霸國家公園武陵農場復育場人工養殖過程中死亡的個體。台灣櫻花鉤吻鮭魚隻樣本大小約10-15公分共10尾。另於10月27日至10月30日人工繁殖期間進行人工受精時，有6尾野生母魚擠不出卵，在野放之前，剪下每尾魚的部分脂鰭。樣本採獲後暫時置於95%酒精中，運回實驗室後保存於-20°C冷藏櫃。

二、粹取基因組(genomic) DNA

實驗時每次取櫻花鉤吻鮭脂鰭(0.010公克)作為粹取基因組DNA用。先於研鉢中添加300 μ l無菌水(2次蒸餾水再經高溫高壓滅菌)磨碎脂鰭。加入GN Reagent 300 μ l、Proteinase Mix 2 μ l，搖晃試管使其混合均勻，在55°C下靜置反應15分鐘。加入RNase Mix 2 μ l (20m/ml, Promega Corp.)，在37°C下靜置反應30分鐘。加入

600 μ l Phenol/C/I (25:24:1) 後離心 12,000 轉 (rpm) 10 分鐘，取出上層液。加入 300 μ l Isopropanol 後再離心 12,000 轉 10 分鐘，倒掉全部的液體，只留下 DNA pellet(顆粒物)。加入 500 μ l 70% ETOH，沖洗 DNA pellet 1-2 次。倒掉全部的液體，於 4 $^{\circ}$ C 下抽氣至乾燥為止。最後加入 100 μ l 1X TE 溶液(10mM Tris-Cl, 1mM EDTA, PH=8.0)，將 DNA 溶液冷凍保存於-20 $^{\circ}$ C 冷藏櫃中，供後續實驗使用。

三、在洋菜膠體進行電泳檢視基因組 DNA 片段

以 1X TBE 電泳緩衝液(Tris base, 90mM; boric acid, 90mM; EDTA, 2mM; pH 8.0)配製 0.8~1%之洋菜膠體(Seakem LE Agarose, FMC, Maine, USA)。取 5~10 μ l DNA 溶液加入 1 μ l 6X loading dye (bromophenol blue, 0.252%; glycerol, 30%)，在石蠟封膠(parafilm)上以微量吸管混合均勻。加至製備好的膠體中，以電壓 100V, 3 小時進行電泳。電泳完畢後，將膠體浸泡於 ethidium bromide (0.5 mg/ml) 中染色 5~10 分鐘，取出後再浸泡於清水中退染 20 分鐘，最後置於 300 nm UV 燈箱 (UVB-101, Apices Scientific Co., Ltd, MA, USA) 上檢視 DNA 片段 (band)。

四、以引子透過 DNA 聚合酵素連鎖反應(Polymerase Chain Reaction ; PCR)攫取目標 DNA (微衛星 DNA)

將以下五種物質：DNA 聚合酵素(DNA polymerase), 2units ; 10X reaction buffer, 10 μ l ; 10mM dNTP Mixture, 2 μ l ; DNA template, 0.2 μ g ; 引子 (forward) 10 μ M, 4 μ l ; 引子 (reverse) 10 μ M, 4 μ l 混合於 0.5 ml 微量離心管中，再加入無菌水至總體積 100 μ l，最後覆蓋一層礦物油 (mineral oil Lot 49H0425, Sigma, MO. USA)。PCR 條件如下：先經 94 $^{\circ}$ C，5 分鐘起始加熱解開雙股螺旋 (initial denaturation)，再以 94 $^{\circ}$ C，30 秒解開雙股螺旋 (denaturation)；54 $^{\circ}$ C，30 秒黏合 (annealing, 反應的溫度隨引子的不同而改變)；72 $^{\circ}$ C，30 秒延長 (extension) 的反應條件，進行 30~35 次的循環反應，結束後維持於 4 $^{\circ}$ C (圖四)。

採用種原相近魚種(虹鱒、褐鱒、大西洋鮭、紅鮭)已發表的 13 對引子，包括虹鱒 (*Oncorhynchus mykiss*; rainbow trout) 的 6 對引子 (Fgt1、Fgt3、Str2INRA、Omy25INRA、Omy325、PuPuPy)。褐鱒 (*Salmo trutta*; brown trout) 的 2 對引子 (MST28、Mst73)。大西洋鮭魚 (*Salmo salar*; Atlantic salmon) 的 3 對引子 (Ssal97、SSOSL311、SSOSL417)。紅鮭 (*Oncorhynchus nerka*; sockeye salmon) 的 2 對引子 (One μ 3、One μ 5)。引子的序列與黏合溫度詳列於表一。

五、進行垂直電泳檢視微衛星 DNA 片段

在空的 50ml 離心管中加入 28ml 無菌水，再加入 4ml 10X TBE 電泳緩衝液 (Tris base, 90mM ; boric acid, 90mM ; EDTA, 2mM ; pH 8.0)、8ml 40% Acrylamide solution (Acrylamide 38.67%, bis-Acrylamide 1.33% ; Amresco)、40 μ l TEMED (*N, N, N', N'*-Tetramethylethyl-ethylenediamine; Amresco)、165 μ l 10% APS (ammonium persulfate; Amresco)，配製成 8% 的聚炳烯凝膠 (polyacrylamide gel)。取 5 μ l 聚合酵素連鎖反應 PCR 產物加入 1 μ l 6X loading dye (bromophenol blue, 0.252% ; glycerol, 30%)，在石蠟封膠上以微量吸管混合均勻。加至備製好的膠體中，以電壓 100V, 9 小時進行電泳。電泳完畢後，將膠體浸於 ethidium bromide (0.5 mg/ml) 中染色 5~10 分鐘，取出後再浸泡於清水中退染 20 分鐘，在 300 nm UV 燈下檢視 DNA 片段。圖七是整個實驗步驟之流程圖。

第三章 結果與討論

一、結果

本研究利用第一年度所建立的從台灣櫻花鉤吻鮭微量樣本抽取基因組 DNA 的技術，實際應用於採樣上，結果均能抽取到質量兼優的基因組 DNA 供後續的 PCR 實驗使用。另外在分析微衛星 DNA 時，改用解析能力比水平電泳更強的垂直電泳方式，經過實驗比較不同濃度的電泳膠濃度，結果以 8% 的聚炳烯凝膠 (poly-acrylamide gel) 的分析效果最好。此外根據微衛星 DNA 種原相似性的原理，採用種原相近魚種 (虹鱒、褐鱒、大西洋鮭、紅鮭) 已發表的 13 對引子 (表一)，嘗試攫取台灣櫻花鉤吻鮭與虹鱒的微衛星 DNA。實驗結果發現，在 13 對引子之中，以虹鱒的引子 Fgt3、PuPuPy 與大西洋鮭魚的引子 SSOSL311、Ssa197，這 4 對引子最能明顯顯示出虹鱒的基因多型性進而區別不同的個體 (圖八~十一)，此外虹鱒引子之中的 Fgt1、Omy325 也能顯示出虹鱒的基因多型性但結果不盡理想，而 Str2INRA、Omy25INRA 這 2 對引子無法顯示出虹鱒的基因多型性。至於褐鱒的 2 對引子 (MST28、Mst73) 與紅鮭的 2 對引子 (One μ 3、One μ 5) 皆無法顯示出虹鱒的基因多型性。

二、討論

本實驗使用和台灣櫻花鉤吻鮭種原相近的魚種（虹鱒、褐鱒、大西洋鮭、紅鮭）已發表的 13 對引子去攫取台灣櫻花鉤吻鮭的微衛星 DNA，並輔以虹鱒為對照。經過實驗比較之後發現，在 13 對引子之中，以虹鱒的引子 Fgt3、PuPuPy 與大西洋鮭魚的引子 SSOSL311、Ssa197，這 4 對引子最能明顯顯示出虹鱒的基因多型性進而區別不同的個體，此外虹鱒引子之中的 Fgt1、Omy325 也能顯示出虹鱒的基因多型性但結果不盡理想，而 Str2INRA、Omy25INRA 這 2 對引子則無法顯示出虹鱒的基因多型性。可見雖然同樣都是設計給虹鱒使用的引子，但並非皆能適用於每次實驗，而是需要先嘗試很多對引子，再從其中選用數個引子來做交叉比對，才能去進一步分析個體間的親緣關係。而引子 SSOSL311、Ssa197 原本是針對大西洋鮭魚所設計的，但也能適用於虹鱒上，這正是微衛星 DNA 種原相似性原理的成功例子。至於褐鱒的 2 對引子（MST28、Mst73）與紅鮭的 2 對引子（One μ 3、One μ 5）皆無法顯示出虹鱒與台灣櫻花鉤吻鮭的基因多型性，應該是這些引子對虹鱒及台灣櫻花鉤吻鮭仍具有種別的特異性，不適用於當作攫取虹鱒與台灣櫻花鉤吻鮭微衛星 DNA 的引子。

回顧以往曾利用分子標記來分析台灣櫻花鉤吻鮭族群的研究報告；Numachi, K. I. 等人(1990)曾利用 10 種內切限制酶分析野生與人工繁殖的台灣櫻花鉤吻鮭，結果均呈現相同的基因型，而認為台

灣櫻花鉤吻鮭族群的粒線體 DNA 呈現均質現象。另外王昱人(1997)使用同功異構酶電泳分析法及粒線體 DNA 序列分析法，結果發現 23 個基因座之中僅有一個有遺傳變異，族群的近交係數(FIS)為 1，顯示台灣櫻花鉤吻鮭受近親交配的影響，族群幾乎沒有分化。而粒線體 DNA 序列分析方面只有找到 2 種基因型且只有一個鹼基對的變異，而認為台灣櫻花鉤吻鮭族群的基因多樣性貧乏。在本實驗中，全部 13 對引子都無法使台灣櫻花鉤吻鮭表現出基因多型性，除了顯示我們可能尚未找到適用於台灣櫻花鉤吻鮭的引子，今後似乎應朝開發台灣櫻花鉤吻鮭專屬的微衛星 DNA 引子的方向研究。

三、建議

立即可行建議：基於櫻花鉤吻鮭人工養殖族群的基因多樣性考量，建議每年在進行人工繁殖期間，盡量採集不同河段的親魚來進行人工受精，以增加人工養殖族群的基因豐富度。

主辦機關：雪霸國家公園管理處保育課

協辦機關：雪霸國家公園管理處武陵管理站

中長期建議：鑒於日本櫻鮭的魚種與台灣的相似，且相關研究成果輝煌，建議與日本研究有成的學術研究單位密切合作，以利台灣方面研究之進步與提升。

誌謝

本計畫進行期間，承蒙雪霸國家公園管理處處長、秘書、保育課諸兄姊（徐課長、于淑芬等）們的鼓勵、負責台灣櫻花鉤吻鮭人工養殖的廖林彥君與牛鬥虹鱒養殖場劉老闆熱心提供實驗樣本、海洋大學水產養殖系林正輝和陳榮祥教授、生技所許濤教授、台灣大學動物系柯逢春、于宏燦教授、黃曉薇博士提供寶貴的建言和指教，才得以順利完成，在此一併致謝。

參考書目

- 台灣櫻花鉤吻鮭保育研究國際研討會論文集 (2000)。行政院農委會特有生物中心，內政部雪霸國家公園管理處主辦，。
- 王昱人 (1997)。台灣鉤吻鮭與日本櫻花鉤吻鮭遺傳多樣性之研究。國立清華大學生命科學所碩士論文。
- Numachi, K. I., Kobayashi, T., Chang, K. H. and Lin, Y. S. (1990). Genetic identification and differentiation of Formosan salmon, *Oncorhynchus masou formosanus*, by restriction analysis of mitochondrial DNA, *Bull. Inst. Zool., Acad. Sinica* 29(3) 61-72
- Perez-Enriquez, R. and Taniguchi, N. (1999). Genetic structure of red sea bream (*Pagrus major*) population off Japan and the Southwest Pacific, using microsatellite DNA markers. *Fisheries Science* 65(1) 23-30.

表一、實驗中所使用的 13 對引子

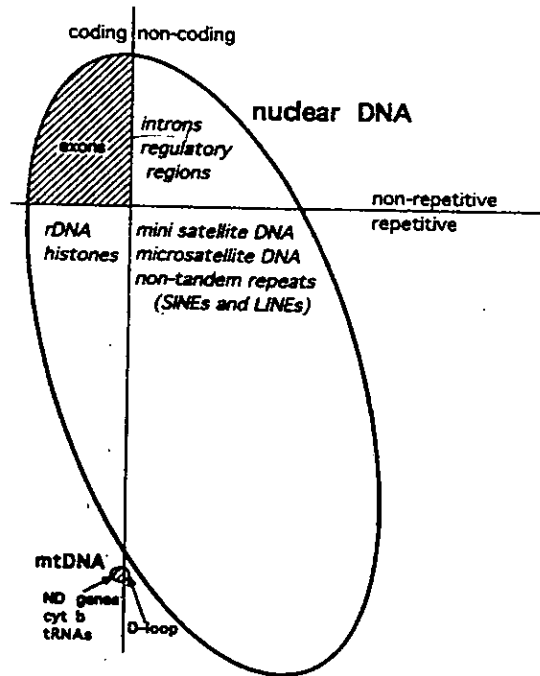
Salmon microsatellite primers used in this study

Primer	Primer sequence 5' to 3'	Annealing temp. (°C)	Repeat	Source species	Reference
Fgt1	F:AGA-TTT-ACC-CAG-CCA-GGT-AG R:CAT-AGT-CTG-AAC-AGG-GAC-AG	53	(GT) ₁₀	<i>O. mykiss</i>	Sakamoto <i>et al.</i> (1996)
Fgt3	F:CAA-GAA-ATT-TGT-GGA-GCG-G R:GAA-GCC-CTG-TTT-GAC-TTT-TAG-C	58	(GT) ₃₅	<i>O. mykiss</i>	Sakamoto <i>et al.</i> (1996)
Str2INRA	F:GGT-GGC-CTG-GGT-ATA-GCC R:GGT-GTC-GTT-CAG-CTG-TAG-CG	56	(CT) ₄ (TG) ₃₁	<i>O. mykiss</i>	Estoup <i>et al.</i> (1998)
Omy25INRA	F:GAT-GGA-CGA-GGA-CCT-CAG R:CTA-CAG-ATA-CAG-GAC-AGG-GAC	56	(GT) ₂₀	<i>O. mykiss</i>	Estoup <i>et al.</i> (1998)
Omy325	F:TGT-GAG-ACT-GTC-AGA-TTT-TGC R:CGG-AGT-CCG-TAT-CCT-TCC-C	52	(GT) ₂₂	<i>O. mykiss</i>	Olsen <i>et al.</i> (1996)
PuPuPy	F:ATG-CAG-CGG-ATG-TAG-GGG-GA R:TTA-AGT-GAA-AAG-ACG-TAA-GTC	53	(GAC/T) _n	<i>O. mykiss</i>	Olsen <i>et al.</i> (1996)
MST73	F:CCT-GGA-GAT-CCT-CCA-GCA-GGA R:CTA-TTC-TGC-TTG-TAA-CTA-GAC-CTA	52	(GT) ₁₃	<i>S. trutta</i>	Olsen <i>et al.</i> (1996)
MST28	F:TCC-AAT-CCA-AGC-ACT-TCA-CTT-A R:AGT-TAG-TTC-GTT-TTC-TTT-GAA-AGA	56	(CT) ₆	<i>S. trutta</i>	Presa <i>et al.</i> (1996)
Ssa197	F:GGG-TTG-AGT-AGG-GAG-GCT-TG R:TGG-CAG-GGA-TTT-GAC-AIA-AC	57	(GT) ₅ C(TG) ₄ TC(TG) ₃ A(GTGA) ₁₅	<i>S. salar</i>	Olsen <i>et al.</i> (1996)
SSOSL311	F:TAG-ATA-ATG-GAC-GAA-CTG-CAT-TCT R:CAT-GCT-TCA-TAA-GAA-AAA-GAT-TGT	54	(TG) ₃₈	<i>S. salar</i>	Slettn <i>et al.</i> (1995)
SSOSL417	F:TTG-TTC-AGT-GTA-TAT-GTG-TCC-CAT R:GAT-CTT-CAC-TGC-CAC-CTT-ATG-ACC	54	(TG) ₂₅	<i>S. salar</i>	Slettn <i>et al.</i> (1995)
Oneμ3	F:TCT-CCT-TGG-TCT-CTC-TGT-CCC-TT R:CTA-TCA-GCC-AAT-CGC-ATC-AGG-AC	51	(GA) ₁₈	<i>O. nerka</i>	Scribner <i>et al.</i> (1996)
Oneμ5	F:AAC-ACA-CCA-GCT-GTG-AAA-ACA-AA R:TGT-CTA-TCG-CCA-ATC-TCT-CTG-CT	57	(CA) ₁₂	<i>O. nerka</i>	Scribner <i>et al.</i> (1996)

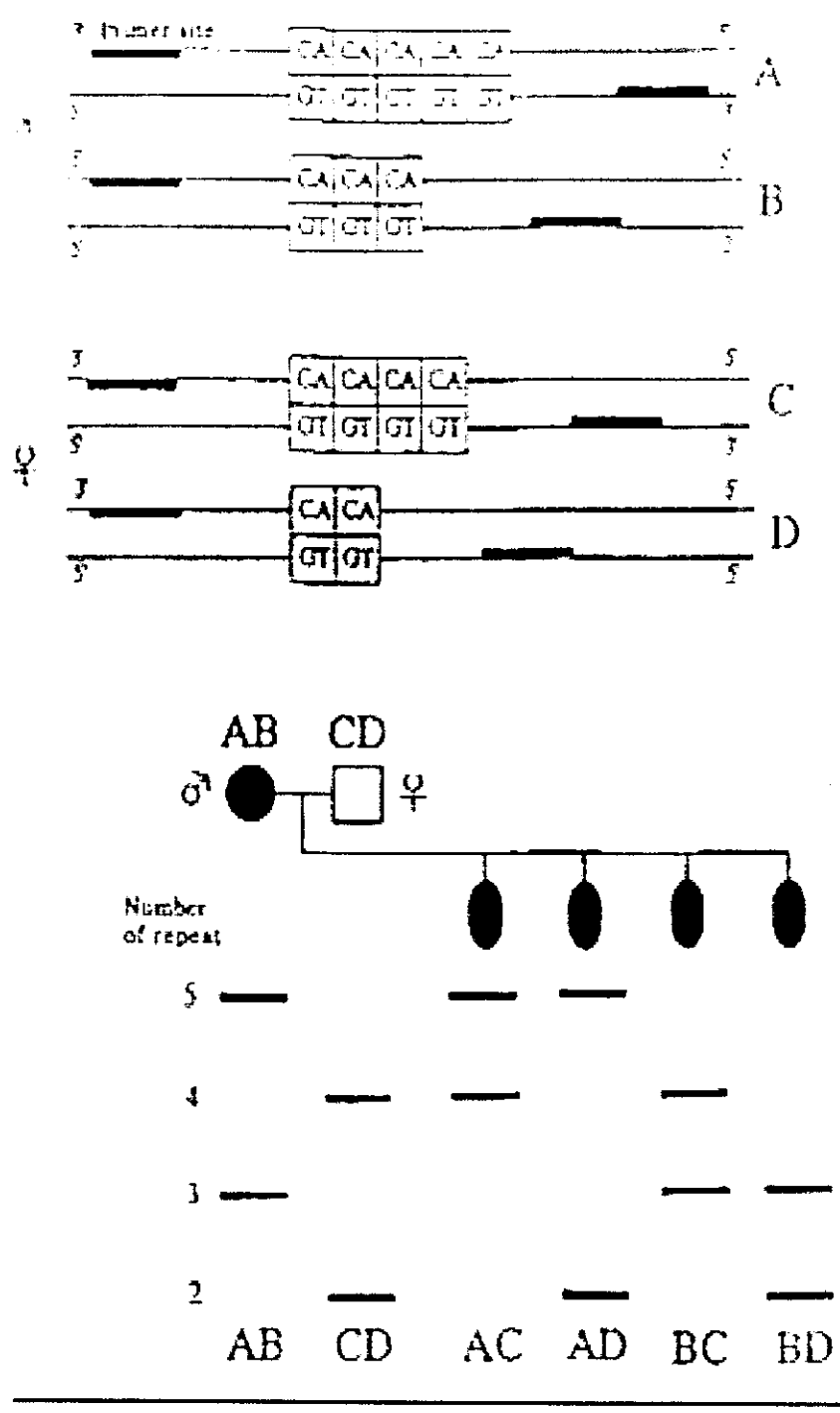
表

表二、聚炳烯凝膠(polyacrylamide gel)

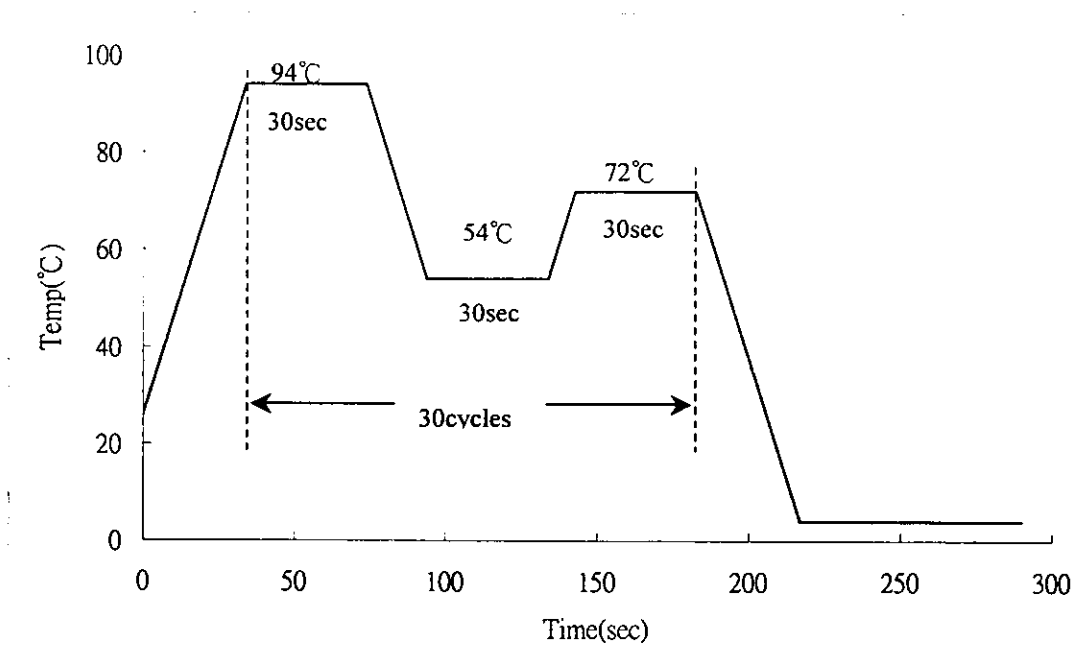
	6%	8%	20%
ddH ₂ O	37.5 ml	28 ml	16 ml
10X TBE	5 ml	4 ml	4 ml
Acrylamide (40%)	7.5 ml	8 ml	20 ml
TEMED	50 μ l	40 ml	40 ml
APS (10%)	200 μ l	165 μ l	400 μ l



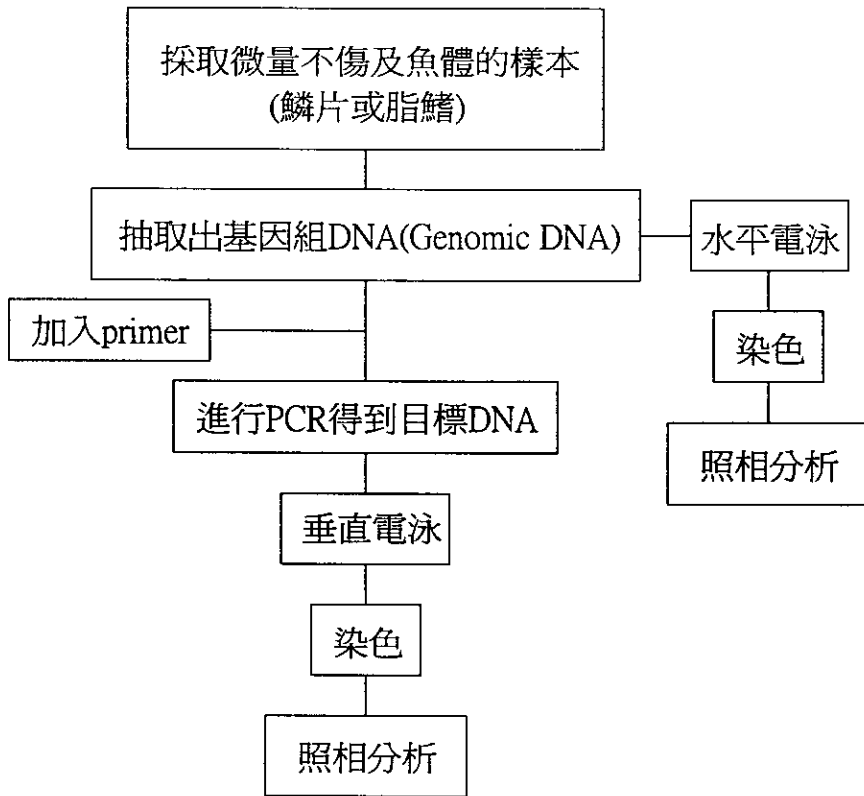
圖一：微衛星(microsatellite) DNA 是位於細胞核內的 DNA (nuclear DNA)，屬於非密碼(non-coding) DNA，具有重複性(repetitive)。引用自 Carvalho and Pitcher (1995)。



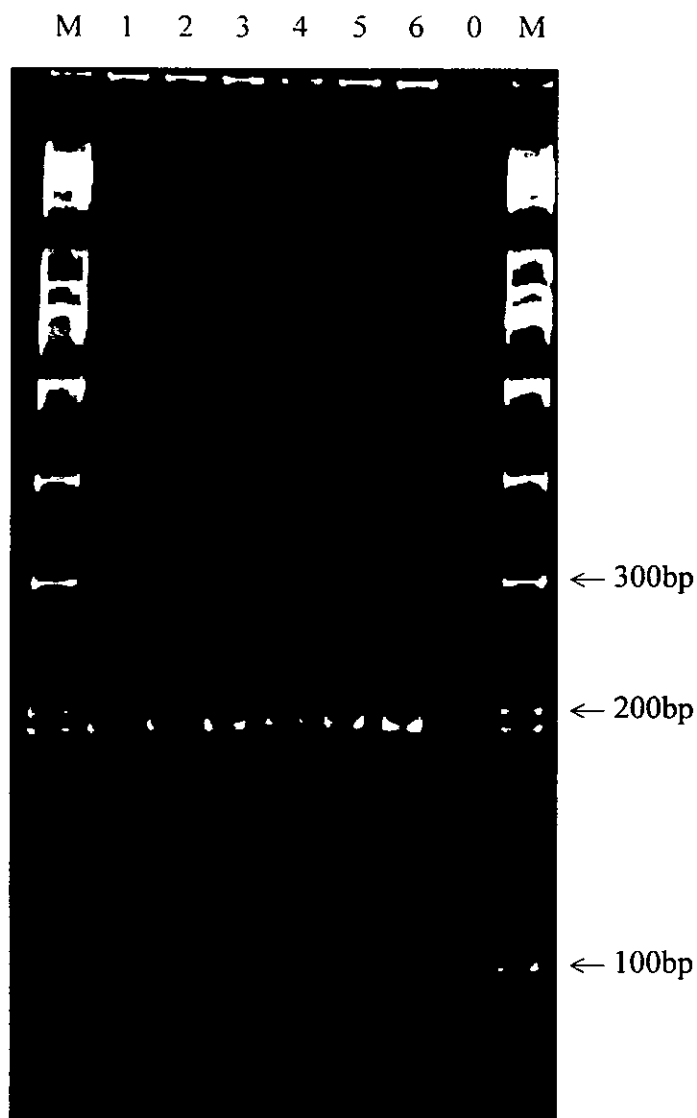
圖二：微衛星 DNA 具共顯性(codominant)且遵守孟德爾遺傳定律。AB 雄×CD 雌的子代只有四種可能的微衛星 DNA 組合：AC、AD、BC、BD)。引用自 Taniguchi 1999。



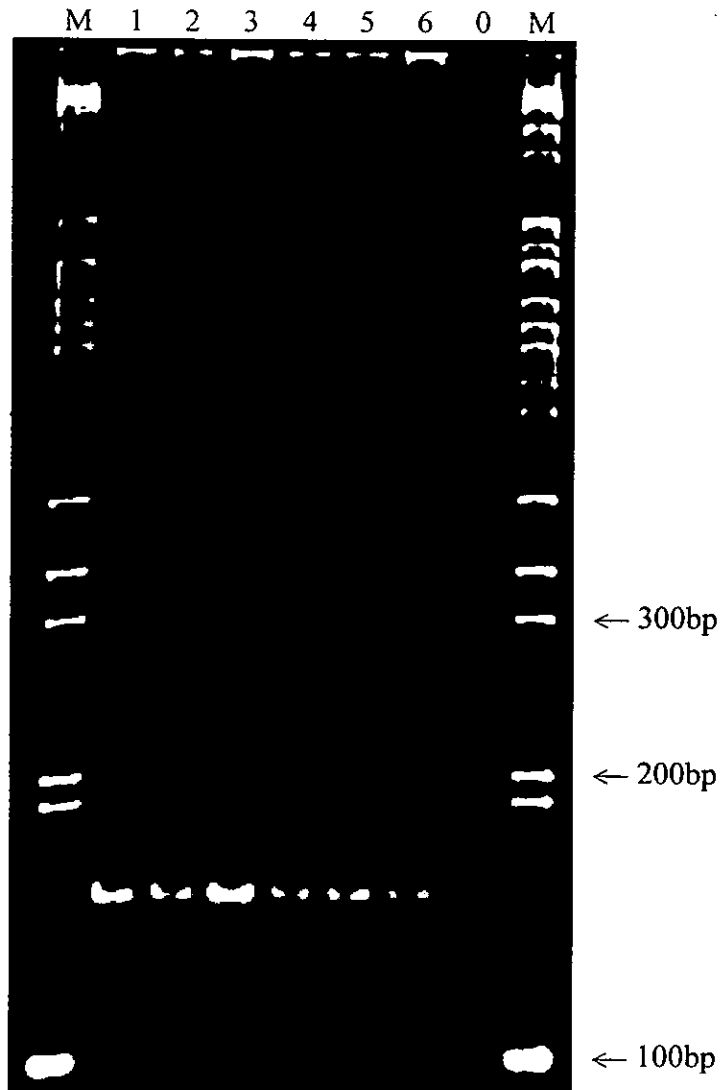
圖四：DNA 聚合酵素連鎖反應 (PCR)，反應溫度及時間的關係。



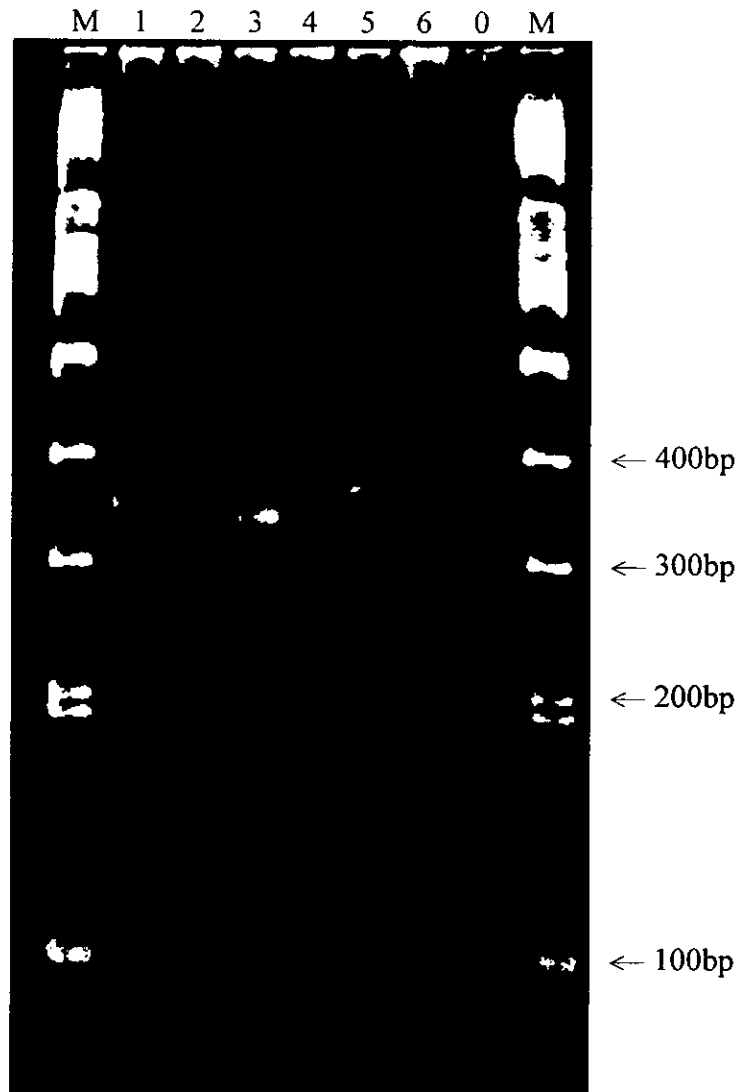
圖五：實驗步驟流程圖



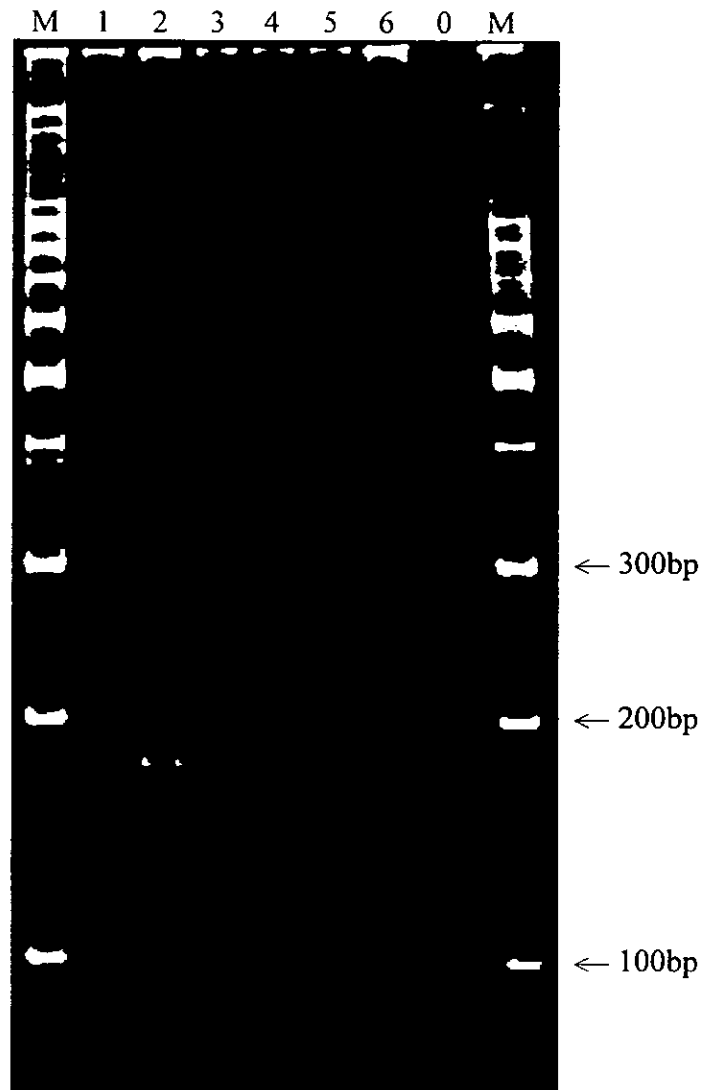
圖六：台灣櫻花鉤吻鮭 PCR 產物的垂直電泳圖(1)，並無表現出基因多型性。使用紅鮭引子 One μ 3。M：Marker 100bp DNA Ladder，1-6：6 隻不同個體的 PCR 產物，0：對照組的 PCR 產物(只不供給 genomic DNA，其他 PCR 的藥劑均有添加)。



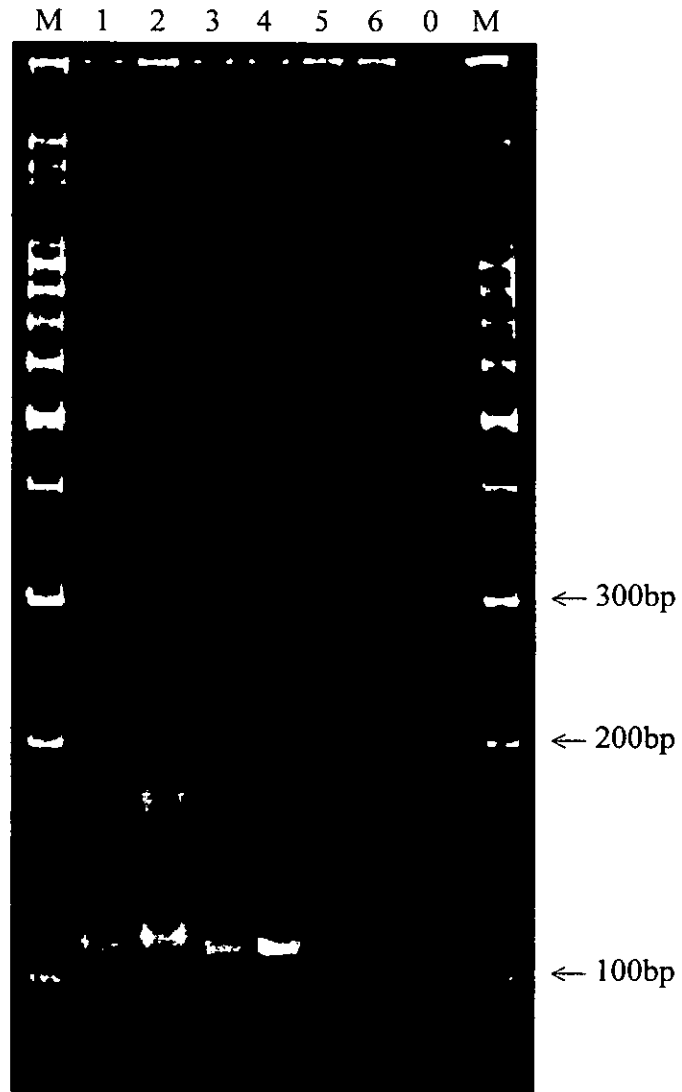
圖七：台灣櫻花鉤吻鮭 PCR 產物的垂直電泳圖(2)，並無表現出基因多型性。使用褐鱒引子 MST28。M：Marker 100bp DNA Ladder，1-6：6 隻不同個體的 PCR 產物，0：對照組的 PCR 產物(只不供給 genomic DNA，其他 PCR 的藥劑均有添加)。



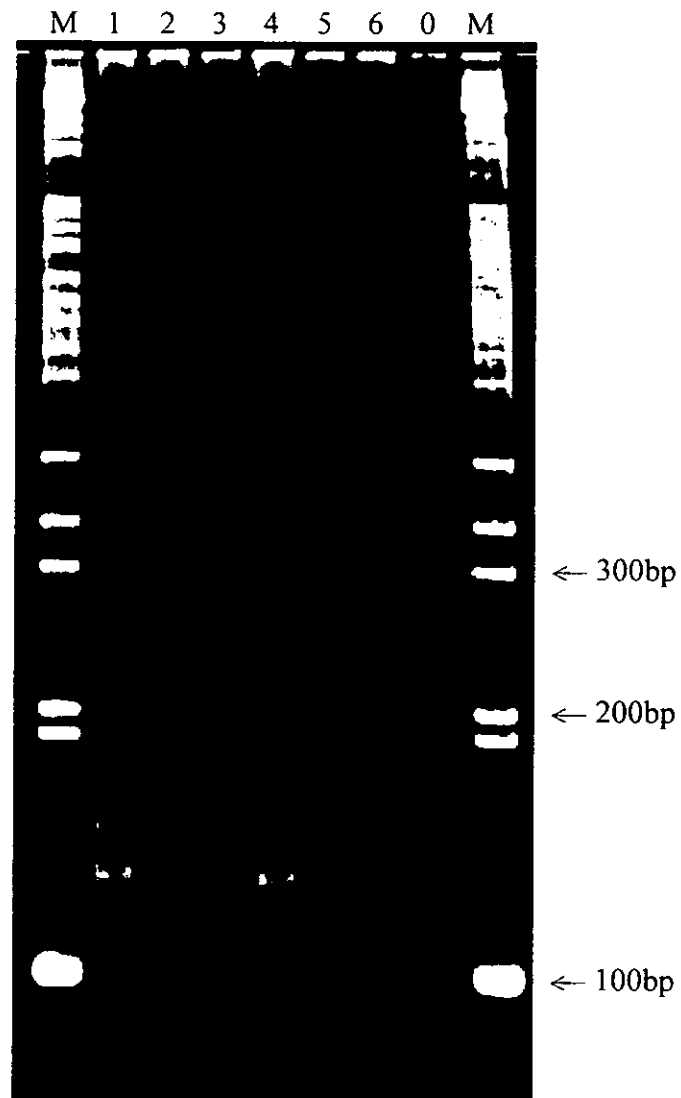
圖八：虹鱒 PCR 產物的垂直電泳圖(1)，明顯表現出基因多型性。使用虹鱒引子 PuPuPy。M：Marker 100bp DNA Ladder，1~6：6 隻不同個體的 PCR 產物，0：對照組的 PCR 產物(只不供給 genomic DNA，其他 PCR 的藥劑均有添加)。



圖九：虹鱒 PCR 產物的垂直電泳圖(2)，明顯表現出基因多型性。使用虹鱒引子 Fgt3。M：Marker 100bp DNA Ladder，1~6：6 隻不同個體的 PCR 產物，0：對照組的 PCR 產物(只不供給 genomic DNA，其他 PCR 的藥劑均有添加)。



圖十：虹鱒 PCR 產物的垂直電泳圖(3)，明顯表現出基因多型性。使用大西洋鮭魚引子 Ssa197。M：Marker 100bp DNA Ladder，1~6：6 隻不同個體的 PCR 產物，0：對照組的 PCR 產物(只不供給 genomic DNA，其他 PCR 的藥劑均有添加)。



圖十一：虹鱒 PCR 產物的垂直電泳圖(4)，明顯表現出基因多型性。使用大西洋鮭魚引子 SSOSL311。M：Marker 100bp DNA Ladder，1~6：6 隻不同個體的 PCR 產物，0：對照組的 PCR 產物(只不供給 genomic DNA，其他 PCR 的藥劑均有添加)。