

## 參、結果

### 一、採集結果

2005 年 12 月到 2007 年 5 月間，採集到的標本數目為 A 區域 11 隻：分別為大溪川(DS)5 隻、梗枋溪(KF) 5 隻、新城溪(SH)1 隻。B 區域 25 隻：分別為東澳北溪(DA)7 隻、南澳南溪(NA)7 隻、三棧溪(SJ)5 隻。C 區域 20 隻：分別為海岸山脈(HA)4 隻、長濱齒草溪(CT)4 隻、羊橋溪(YC)5 隻。D 區域 26 隻：知本溪(JB)8 隻、金崙溪(JL)5 隻、大竹溪(DJ)4 隻、大武溪(DW)5 隻、港口溪(GK)4 隻。E 區域 6 隻：四重溪(SZ)1 隻、楓港溪(FG)4 隻、枋山溪(FS)1 隻。共採集到 75 隻台灣絨螯蟹的標本。

另外基隆海洋大學何平合老師贈送採自立霧溪(LW)標本 6 隻、秀姑巒溪(SG)3 隻、三富溪(SF)4 隻共 13 隻標本。海洋大學的標本均剪下一隻腳，以乾淨的 95%酒精泡製帶回實驗室以備研究(表一)。

採集的結果發現，於東北部的大溪川、梗枋溪和宜蘭新城溪等溪流都有台灣絨螯蟹與日本絨螯蟹共域的現象，往南一點的東澳北溪則已採集不到日本絨螯蟹個體，其中多次的採集共域溪流得到的標本均以日本絨螯蟹為多數。本研究採集結果顯示台灣絨螯蟹分布地除最北的大溪川到最南的港口溪外，於西南部的四重溪、楓港溪、枋山溪亦有收集到台灣絨螯蟹標本。

### 二、台灣絨螯蟹 COI 基因序列變異

研究中共定序了 88 隻台灣絨螯蟹個體的 COI 前端序列，定序結果所得序列長度約 610bp 到 685bp，取其重疊處的部分有 602bp。分析 88 隻台灣絨螯蟹的 602bp，在序列鹼基對比例方面，A 所佔比例為 25.9%，T 佔約 35.38%，C 佔約 20.4%，G 佔約 18.27%。在所分析 602bp 序列中有 20 個多型性位點 (polymorphic)，佔序列的 3.32%。全部樣本共得到 23 個基因型，單倍體基因多樣性指數 (Haplotype diversity,  $h$ ) 為 0.73093，核苷酸多樣性指

數( Nucleotide diversity,  $\pi$ ) 為0.00185(表三)。

20 個多型性位點中，單變異位點( Singleton variable sites, two variants ) 有 12 個、簡約訊息位點( Parsimony informative sites, two variants ) 有 7 個、單變異位點( Singleton variable sites, three variants ) 有 1 個。分別座落於 602 個鹼基對的 42、72、107、116、125、134、257、329、413、497、509、535 位點和 71、155、389、392、554、557、560 位點與 496 位點(表四)。

在這研究中，為了得到更細部的訊息，進一步將所採集的溪流位置，以劃分區域的方式來做比較，區域的劃分方式依據如下：

Tzeng(1986)利用台灣產的 57 種淡水魚分布情形，輔以台灣地質史的資料，將台灣島分為三個動物地理區。分別為東部地區：中央山脈以東、北中部地區：中央山脈以西，濁水溪以北，與南部地區：中央山脈以西，濁水溪(不含)以南。

另外陳等(1999)利用現有的資料，整理出了洄游性蝦虎魚的分布位置。分別為東台灣區：中央山脈以東、北台灣區：中央山脈以西，雪山山脈以北、恆春半島西區：屏東枋寮以南(另外的南台灣區與蘭嶼、綠島區，因為不在台灣絨螯蟹分布區域，所以不列入介紹)。

依照台灣絨螯蟹存在於淡水溪流與沿海的生活史，與其目前的分布位置，恰好可以利用上述兩動物地理位置，來將其區分成三個區域(由北往南依次為：東北部區域、東部區域與西南部區域)。

另外論文研究中，將三個區域中的東部區域，以海岸山脈假設性的再劃分成三個區，進而和中央山脈區隔的區域做比較。藉著探討這些分區間的相互關係，進一步了解台灣絨螯蟹的遺傳多樣性。

因此研究中是以中央山脈與海岸山脈來劃分區域，共可得到五大分區。分區的範圍與分區內採集的溪流名稱與分析結果，由北到南分敘如下(圖一；表三)：

1. 區域 A: 為中央山脈北端以北

在這區域所採集的溪流和樣本數分別為大溪川 (DS)5 隻、梗枋溪 (KF) 5 隻、新城溪 (SH)1 隻，共 11 隻台灣絨螯蟹個體。所分析的 11 隻個體 (602 bp) 中共得到 9 個變異位置、有 9 種不同的基因型。其單倍體基因多樣性指數( $h$ )為 0.96364，核苷酸多樣性指數( $\pi$ )為 0.00388。

2. 區域 B: 為中央山脈北端界限和海岸山脈北端界限之間的區域

這區域所採集的流域和樣本數分別為東澳北溪 (DA)7 隻、南澳南溪 (NA) 7 隻、立霧溪 (LW) 6 隻、三棧溪 (SJ)5 隻，共 25 隻標本。進行分析的 25 隻個體 602 個序列中共得到 8 個變異位置，有 8 種不同的基因型。單倍體基因多樣性指數( $h$ )為 0.63，核苷酸多樣性指數( $\pi$ )為 0.00163。

3. 區域 C: 為海岸山脈以東的部分

這區域所採集的流域和標本數分別為海岸山脈(HA)4 隻、秀姑巒溪 (SG)3 隻、三富溪(SF)4 隻、長濱齒草溪(CT)4 隻、羊橋溪(YC)5 隻，共 20 隻標本。所有分析的 20 隻個體(602bp)中共得到 6 個變異位置，有 7 種不同的基因型。單倍體基因多樣性指數( $h$ )為 0.63684，核苷酸多樣性指數( $\pi$ )為 0.00149。

4. 區域 D: 為海岸山脈南界限和中央山脈南界限之間的部分

這區域所採集的流域和標本數分別為知本溪(JB)8 隻、金崙溪(JL)5 隻、大竹溪(DJ)4 隻、大武溪(DW)5 隻、港口溪(GK)4 隻，共 26 隻標本。進行分析的 26 隻個體(602bp)中共得到 11 個變異位置，有 12 種不同的基因型。單倍體基因多樣性指數( $h$ )為 0.80923，核苷酸多樣性指數( $\pi$ )為 0.00193。

## 5. 區域E: 為中央山脈以西的部分

此區域所採集的流域和標本數分別為四重溪 1 隻、楓港溪 4 隻、枋山溪 1 隻，共 6 隻標本。進行分析的 6 隻個體(602bp)中共得到 2 個變異位置，有 3 種不同的基因型。單倍體基因多樣性指數( $h$ )為 0.6，核苷酸多樣性指數( $\pi$ )為 0.00111。

以分區來探討，主要的基因型Hap1由分布於五個區域的44隻標本組成，另外基因型Hap21亦是由分布於五個區域的11隻標本組成。基因型Hap15可於B、C、D區的7隻標本中發現、基因型Hap2可於A、E區的2隻標本中發現、基因型Hap7可於B、D區2隻標本中發現、基因型Hap13可於A、B、D區3隻標本中發現、基因型Hap19由A、C、D區3隻標本共有。其它未提及的基因型都只出現於單一區域、且都只有1隻個體的數量(表五)。以MEGA軟體計算得23個基因型間的相似度為99.3%(表六)，顯示基因型間的差異是非常小的。



## 三、親緣關係

將所有 88 隻定序 (602bp) 的台灣絨螯蟹，加入二隻台灣和日本絨螯蟹來當外群。所得 NJ tree 親緣關係結果為，88 隻台灣絨螯蟹明顯與兩隻日本絨螯蟹分開，台灣絨螯蟹的 bootstrap 值均未達到 70，顯示均未達統計上 95%的信心支持度。觀察親緣關係樹中的分布，雖然在樹的末端分支有時會有 2~8 隻個體聚為一小族群，但這些小族群中的個體分散於不同區域中，顯示各族群混雜在一起沒有明顯分化的跡象(圖四)。

將全部台灣絨螯蟹的 23 個 haplotype 基因型，和二隻台灣的日本絨螯蟹，加上 GenBank 收尋到日本的日本絨螯蟹、大陸的中華絨螯蟹、大陸的合浦絨螯蟹、大陸的直額絨螯蟹等與狹額絨螯蟹，共 10 隻同屬的絨螯蟹與一隻方蟹科的紅螯相手蟹個體(表二)，將所有 COI 序列前 578 個鹼基對放入一起以 MEGA 3.1 軟體選擇內建 Neighbor-joining 法進行親緣關係樹分

析(圖五)，結果顯示台灣絨螯蟹與其它同屬的絨螯蟹關係明顯被區分開。中華絨螯蟹與日本的日本絨螯蟹最先聚為一支，再和台灣的日本絨螯蟹及大陸的合浦絨螯蟹聚為一支，最後才和台灣絨螯蟹的基因型聚在一起。

GenBank 上所得 Tang and Zhou (2003) 於廣東珠江所採集到的直額絨螯蟹標本 COI 序列(AF317332)，親緣關係座落於台灣絨螯蟹的分支群中，其基因型和台灣絨螯蟹基因型 Hap1 完全相同。

#### 四、中性檢定

以 DnaSP version4.1 軟體中的 Tajima's D 和 Fu and Li's D 程式分析結果顯示(表五)，兩程式對於台灣絨螯蟹族群所有分析值均呈現負值。其中區域 D 呈現 Tajima's D 和 Fu and Li's D 值分別為-1.98246 和-2.87971，顯示出顯著水準( $P < 0.05$ )。進一步將所有個體混合為一族群，Tajima's D 值為-2.17117 而 Fu and Li's D 值為-4.08629，同樣都達到顯著水準。Tajima's D 和 Fu and Li's D 均呈現負值，表示台灣絨螯蟹族群曾經經歷過族群擴張，而且可信度很高(表七)。

#### 五、台灣絨螯蟹各族群間之遺傳分化指數( $F_{st}$ )和基因交流指數( $N_m$ )

研究中利用 DnaSP 4.10.4 估算族群間分化指數 ( $F_{st}$ )，推得台灣絨螯蟹的遺傳分化指數數值多為負值。負值為分化指數非常低所產生的計算誤差，數值經修正之後均相當接近零。各區域間的遺傳分化指數，最大數值為 C 區域與 E 區域間的 0.04094；最小數值為 A 與 B 區域間的 0.01406。但整體上來看，遺傳分化指數是非常低的。

另外各區域間的基因交流值，最大數值為 B 區域與 C 區域間的 89.0357；最小數值為 C 與 E 區域間的 6.3564。但整體上來看，基因交流指數是非常高的。

#### 六、遺傳歧異度

以 DnaSP version4.1 軟體計算遺傳歧異度，顯示 A 區域和 B、C、D、E 區域間的基因歧異度( $D_{xy}$ )依次為 0.00247、0.00239、0.0026、0.00216，明顯高於其它區域間的歧異度值(其它均小於 0.002)。遺傳歧異度值最小為 C、E 區域間的 0.00125。

區域間遺傳距離( $D_A$ )最大者為，A 區域和 E 區域間的 0.00008，最小者為 B、C 族群間的 0。其中 B、C 及 D 相互間的遺傳距離是較小的。另外可明顯的看出 A 區域和 E 區域間与其它三區域間的遺傳距離明顯較大(表九)。

所有溪流間遺傳距離( $D_A$ )最大者為羊橋溪(YC)與秀姑巒溪(SG)間的 0.00061，區域內各溪流遺傳距離最大者為 B 區域。所有溪流間遺傳距離最小者為 0 有多處，大多落於 C 區域內河流間的關係，另外 C 區域與 D 區域間各河流的關係亦多處顯示是 0(表十)。

## 七、絨螯蟹種間的分子時鐘(molecular dating)

研究中以台灣東部台灣絨螯蟹與 GenBank 上所得其它絨螯蟹的 COI 序列來計算遺傳距離，分別代入海域相手蟹類每百萬年變異度為 1.66% 變異與陸域相手蟹類 2.33% 的變異速度。計算結果，台灣絨螯蟹與大陸的中華絨螯蟹分隔年代最久，海域與陸域分隔年代分別為 7.51 及 5.35 百萬年前。另外台灣絨螯蟹與台灣西部的日本絨螯蟹和大陸的合浦絨螯蟹分隔年代相同，計算得海、陸域分隔年代分別為 7.43 及 5.29 百萬年前，因此將 5.29~7.51 百萬年前當成是台灣絨螯蟹与其它絨螯蟹的分隔年代。其中台灣的日本絨螯蟹與大陸合浦絨螯蟹的分隔年代顯示約為 3000 年前，屬於非常後期才發生的事件，所以並不列入計算(表十一)。

台灣的日本絨螯蟹與大陸的中華絨螯蟹經換算，海域與陸域分隔年代分別為 2.8 及 2.0 百萬年前，因此將 2~2.8 百萬年前當成是台灣的日本絨螯蟹從大陸遷移到台灣的時間。