

壹、前言

一、台灣絨螯蟹之分類地位與歷史

絨螯蟹在分類學上，屬於甲殼綱 (Crustacea) 十足目 (Decapoda) 的方蟹科 (Grapsidae Dana, 1851)、弓蟹亞科 (Varuninae Alcock, 1900)、絨螯蟹屬 (*Eriocheir* De Haan, 1835)，本屬下面目前有六種絨螯蟹，依發現順序排列分別是，日本絨螯蟹 (*E. japonica* De Haan, 1835)、中華絨螯蟹 (*E. sinensis* H. Milne-Edwards, 1853)、直額絨螯蟹 (*E. rectus* (Stimpson, 1858))、狹額絨螯蟹 (*E. leptognathus* Rathbun, 1914)、合浦絨螯蟹 (*E. hepuensis* Dai, 1991) 和台灣絨螯蟹 (*E. formosa* Chan *et al.*, 1995)。在台灣這小小的島國就有其中的兩種絨螯蟹，分別是分布於台灣西部流域的日本絨螯蟹和東部流域的台灣絨螯蟹。

台灣絨螯蟹過去一直被認為是直額絨螯蟹的同種異名，原因是直額絨螯蟹為美國人 Stimpson 於 1858 年以拉丁文根據採集自珠江流域澳門一帶一隻未成熟雌蟹標本 (背甲寬: 0.975 英吋, 約為 2.43 公分) 而命名發表，但當時唯一的標本卻在 1871 年芝加哥標本館的大火中遺失 (洪, 1993)。Tang *et al.* (2002) 指出直額絨螯蟹的原始報告於 1907 年翻譯成英文，而原本的命名直到 1983 年才被更改為直額絨螯蟹 (*E. rectus* (Stimpson, 1858))。日本學者酒井於 1935 年整理遠東地區絨螯蟹的分類和分布時，依照當年 Stimpson 對標本的描述加上模式標本發現地點附近僅有日本絨螯蟹族群分布，而將 Stimpson 1858 年所發表的直額絨螯蟹視為是日本絨螯蟹的稚蟹，直到從花蓮木瓜溪採集到一對標本才轉而認為 Stimpson 的直額絨螯蟹為有效種名，但仍然認為還有很多地方需進一步確認。多年後 Sakai (1976) 研究台灣蟹類，比對東部的絨螯蟹與西部的日本絨螯蟹發現差異甚大，因此亦將東部的絨螯蟹視為珠江澳門發現的直額絨螯蟹。過了多年 Chan *et al.* (1995) 於珠江澳門一帶調查結果顯示無法再次採集到與台灣東部絨螯蟹

的相似物種，附近僅能發現日本絨螯蟹的族群分布，Chan 等並直接以日本絨螯蟹的未成熟雌蟹個體與 Stimpson 當年對直額絨螯蟹模式標本的描述對照結果亦非常符合，因此推論其實當年所命名的直額絨螯蟹應該為日本絨螯蟹的同種異名。Chan *et al.*(1995) 將台灣東部的絨螯蟹種類重新命名為台灣絨螯蟹，並視其為台灣特有種。

Tang and Zhou (2003) 於珠江採集到 1 隻絨螯蟹標本，將其視為地模標本 (topotype)，並認為這就是 Stimpson 於 1858 採集自珠江流域的直額絨螯蟹，並進一步以此標本的 COI 與 ITS 序列和台灣絨螯蟹做比對，分析結果顯示兩者遺傳差異非常小，因而將台灣絨螯蟹視為直額絨螯蟹的同種異名。隔年 Tang 以「直額絨螯蟹新模記述」的標題發表了一篇文章，內容指出當年直額絨螯蟹 (*E. rectus* (Stimpson, 1858)) 名稱為一有效種名應予以恢復，並認定台灣絨螯蟹為其同種異名，文中將所採的直額絨螯蟹指定為新模，並對此進行了描述(唐等，2004)。

在本論文研究中，個人認為台灣絨螯蟹在台灣地區有穩定的族群數量，而且已有相關的族群動態(洪，1993; 陳，1998) 與幼苗孵育 (Shy and Yu, 1992) 等研究報告。相較下 Tang and Zhou (2003) 所採集標本只有一隻，數量上並不能視為一個族群，加上個人通訊得知，Tang and Zhou (2003) 的直額絨螯蟹標本來源尚有許多疑點，所以在文章中仍以台灣絨螯蟹 (*E. formosa*) 來稱呼所研究的物種。

二、絨螯蟹生態習性簡介

台灣絨螯蟹因體色呈青綠，異於其它絨螯蟹的黃褐色，所以又特稱為「青毛蟹」。其特徵為螯足的掌部僅外面具絨毛內面則為光滑，兩眼之間額緣幾近平直。背甲略呈六角形，表面扁平且平滑。步腳呈側扁，且各節上密生短毛，第五步腳掌短且寬扁(Hwang and Mizue, 1985)。

台灣絨螯蟹與其它同屬的絨螯蟹，在生活史上均有明顯的洄游行為(狹

額絨螯蟹除外)，包含了成長過程中的上溯行為，以及為了繁衍後代的降海生殖洄游。研究顯示台灣絨螯蟹的繁殖期在春夏兩季，與其它種絨螯蟹在冬季繁殖的行為明顯不同(游和何，1986)。卵在雌蟹腹部中孵化，孵化後離開母體的幼體稱為溞狀幼體 (zoea) 是行漂浮生活，分為五期，期間頭胸甲長由第一期溞狀幼體約 0.48mm，成長到第五期溞狀幼體的 1.48mm，約需 14 天或更長。接下來脫殼變態成大眼幼體 (megalopa)，此時期蟹體開始有游動能力，並可以利用胸足攝食或於停止游動時抓取物體，且開始進入底棲生活，大眼幼體維持約 5~7 天才又進入下一階段稚蟹期 (juvenile crab) (賴等，1986; Shy and Yu, 1992)。有研究顯示蟹類的溞狀幼體和大眼幼體兩時期浮游天數越久，幼苗擴散的範圍越廣，而且大眼幼體個體會利用漲潮或風誘發的水流返回岸邊 (DeVries and Forward, 1989; 薛，2000)。接下來大眼幼體開始進入河口，沿著河川岸邊上溯，轉而進入淡水生活。此期間絨螯蟹較喜歡生活於湍急的河段，白天通常躲在石塊或岩縫中，夜間才會出來覓食；利用特化的淺匙狀螯足指端刮取石頭上的藻類食用，而體型也不斷的脫殼成長，個體成熟之後又會再度降海進行繁殖 (洪，1993)。

三、台灣絨螯蟹的相關研究

洪(1993)在1991年9月至1992年9月間，以南澳溪中游、下游及河口為採集區放置蟹籠採集標本，並結合生態因子量測作為對照；結果顯示生殖降海期主要在春季，而產卵期、親蟹自然死亡期及大眼幼體上溯期則在夏季。影響族群分布的主要因子為月降雨量、水溫及河底質礫石的大小。族群中大部份的個體壽命為2歲，少數為1歲和3歲；以相對成長推估出雄性及雌性的最小性成熟甲寬分別為45mm及35mm；產卵數平均為174400粒，且檢驗750隻標本均無發現肺吸蟲寄生。1997年1月到1998年4月間，陳(1998)另外以太魯閣國家公園中的砂卡礑溪為採集區放置蟹籠採集。結果顯示愈往上游所捉到的台灣絨螯蟹體型愈大，而雄性

體型又大於雌性。另外愈上游雄性所佔的比例也增加，但仍以雌性在數量上佔優勢。以成長天數和體長所得的迴歸方程式顯示台灣絨螯蟹最長有五年以上的壽命。

邱等(2001)也以粒線體 16S rRNA 片段的比較，對日本絨螯蟹 (*E. japonica*)、直額絨螯蟹 (*E. rectus*)、狹額絨螯蟹(*E. leptognathus*)及中華絨螯蟹 (*E. sinensis*) 等四種絨螯蟹的分子分類與系統發育做進一步的描述，結果顯示中華絨螯蟹與日本絨螯蟹親緣關係最接近，接下來再與直額絨螯蟹 (台灣絨螯蟹) 聚為一起，而狹額絨螯蟹則成為相對獨立的一群，且進化速度大於前 3 種絨螯蟹。另外 Ng *et al.*(1999)則依台灣絨螯蟹的鉗指末端扁平成匙狀等特徵，建議其可獨立為一新屬 *Platyeriocheir* (扁絨螯蟹屬)。

Tang and Zhou (2003)與 Chu *et al.*(2003) 同時針對絨螯蟹屬 (*Eriocheir* de Haan, 1835) 的蟹類進行分子演化的相關研究並發表在不同的期刊上，其結果均顯示 3 種相近的種群 *E. japonica*、*E. sinensis* 及 *E. hepuensis* 在分子遺傳上的差異並不大，因此 Tang 等更提出將以上三種絨螯蟹視為 *E. japonica* 亞種，即分別為 *E. j. japonica*、*E. j. sinensis* 及 *E. j. hepuensis*。研究中亦顯示台灣絨螯蟹在各分析中都呈現是 *E. j. group* 的姊妹群，因此兩人都認同台灣絨螯蟹不適合另外獨立出來為新屬 (*Platyeriocheir*)。所以個人在本論文中仍以 *E. formosa* 來稱呼所研究之物種。

四、分子生物技術的應用

粒線體為細胞中負責電子傳遞鏈之胞器，其作用在於將糖解後所產生的能量轉成三磷酸腺苷(Adenosine triphosphate, ATP)，以供給細胞在代謝時所需之能量。粒線體 DNA，其序列包括 12S rRNA、16S rRNA、22 個 tRNA、13 個蛋白質基因及 D-Loop 區，其中 13 個蛋白質基因包括 ND 1、ND 2、COI、

COII、ATPase 8、ATPase 6、CO III、ND 3、ND 4L、ND 4、ND 5、ND 6 至 Cyt *b*。由於這些基因組成穩定，因此在不同階層之物種間皆具有相似之基因組成，故可用於演化方面之研究。粒線體 DNA 具有母系遺傳的特性，因此無須擔心基因重組現象的發生 (Page and Holmes, 1998)。加上無 DNA 修補系統，所以相較於核染色體 DNA 具有較高的突變率 (Brown *et al.*, 1982; Futuyma, 1998)，且發生於序列內的突變事件都能被完整的保留下來；即使分類單元間分化時間不久，也可因鹼基對 (base pairs; bp) 的替換速度較快而呈現出些微差異。粒線體 DNA 內各種基因的保守程度不同，進而影響鹼基對的替換速率，因此非常適合用於各階層的分類單元間之親緣關係研究。此外，粒線體 DNA 分子量小，容易被分離出來且易分析 (Wilson *et al.*, 1985; Moritz *et al.*, 1987)，使得粒線體 DNA 成為研究親緣關係與族群遺傳方面之有利工具。

其中在脊椎動物粒線體 DNA 中主要的研究對象為三股之移位環 (Displacement loop)，又稱為 D-loop。D-loop 為粒線體 DNA 上唯一的未編碼區，雖具有一些功能性的序列，由於天擇壓力較小，演化速率相較於其他編碼區快速，故常用做研究族群遺傳上很好的分子標誌。

無脊椎動物方面，由於粒線體控制區尚未被發現。所以目前無脊椎動物，如蝦子、螃蟹或軟體動物的研究上，一般所使用的有 ND1 (NADH dehydrogenase subunit 1)、ND5 (NADH dehydrogenase subunit 5)、12S rRNA gene、16S rRNA gene 與 COI (Cytochrome oxidase subunit I) 等基因。

在甲殼類的種間研究方面，一般使用的片段為16S rRNA與COI，兩者不同的地方是前者為mtDNA上一段非編碼 (non-coding) 基因。而COI則為 mtDNA 上的編碼 (coding) 基因，為電子傳遞反應中所需的酵素之一。另外有研究顯示COI片段的變異性比16S大兩倍之多，因此對於研究相近物種、甚至族群之間的遺傳變異，COI片段將具有較佳的解析度 (Schubart *et al.*, 1998; Chu *et al.*, 1999)。又因為COI片段在無脊椎動物有相當保守的

引子，所以早期許多有關無脊椎動物親緣關係的相關研究，都是探討此基因的演化模式 (Brower, 1994)。

另外有關分子時鐘(molecular clock)的證據，也均是利用 COI 的資料所建立的 (Schubart *et al.*, 1998)。分子時鐘顧名思義就是在探討生物於分子層面的演化速率，在這方面的研究上，最常用的地質年代為巴拿馬地峽 (Panama Isthmus) 的封閉時間，先前地質研究得到巴拿馬地峽約於三百一十萬年前封閉，間接知道地峽兩側海洋物種的隔離最少應該已有三百萬年 (Keigwin, 1982; Coates, 1992)。由這個確定的地質分隔時間加上假設分子分化速率 (divergence rate) 一致，比較兩側同類物種的遺傳距離，就可以推斷出每一百萬年物種的分子分化速率，再以此速率則可推估其他相似物種的分化時間(施，2002)。

目前已有多人利用粒線體DNA來進行絨螯蟹的研究：高等(2000)參考了果蠅、鹵蟲與鋸緣青蟹的粒線體DNA 16S rRNA基因序列設計了日本絨螯蟹相同基因片段的引子，進行日本絨螯蟹粒線體DNA16S rRNA 的分析研究。邱等(2001)以16S rDNA片段與GenBank數據庫中的日本絨螯蟹和台灣絨螯蟹16S rDNA同源序列進行比對，完成四種絨螯蟹分子分類與系統發育的比較工作。孔等(2001)比較中華絨螯蟹與日本絨螯蟹線粒體COI基因序列片段。孫等(2003)以粒線體DNA16S rRNA基因探討了絨螯蟹屬的系統發生關係。Tang and Zhou (2003)以粒線體COI和細胞核(genome) ITS兩序列再次探討了絨螯蟹屬的系統發生關係，同時證明了COI序列對於探討絨螯蟹屬的系統發生有較佳的解析力。

因此在本篇研究中分子生物技術方面，亦係利用粒線體DNA中的COI基因作為分析各溪流間台灣絨螯蟹分子親緣關係的指標物。

五、研究目的

目前與台灣絨螯蟹直接相關的研究有幼苗繁育 (Shy *et al.*, 1992)、絨

螯蟹屬的分類 (洪等, 1992; Chan *et al.*, 1995) 及族群動態 (洪, 1993; 陳, 1998), 關於分子生物學方面僅侷限於絨螯蟹屬內親緣關係的研究 (孔等, 2001; Tang and Zhou, 2003; Chu *et al.*, 2003), 直至目前仍無學者針對台灣絨螯蟹族群遺傳變異做詳盡的研究。

多篇文章提到日本絨螯蟹、中華絨螯蟹為日本與大陸地區主要的經濟蟹類之一(高等, 2000; 孔等, 2001; Sun *et al.*, 2003), 其中孔等(2001) 指出近年來由於人為過度捕撈與開發對環境的破壞加劇, 已使自然族群資源量減少。市場需求促使人工育苗廣泛發展, 無規範的幼苗供應已造成各水系的種群產生混染。同樣為主要淡水經濟蟹類的台灣絨螯蟹, 是否存在相同的問題也值得探討。

因為受限於許多條件少有人會探討海域性生物的分布限制因素, 因此台灣絨螯蟹為什麼只散佈於台灣東部區域直至目前仍是個謎。也因此深入研究台灣絨螯蟹遺傳結構不只可讓我們更了解此物種, 更可以讓我們做為海域性生物基因交流的一個參考

經由本篇研究希望了解與解釋以下的問題:

- (一) 分析東部各河流台灣絨螯蟹的遺傳多樣性。
- (二) 探討影響台灣絨螯蟹基因交流的因素。
- (三) 研判台灣絨螯蟹來到台灣島的時間與被隔離的原因。
- (四) 以遺傳多樣性的角度, 討論台灣絨螯蟹於保育方面的問題。