

## 肆、討論

### 一、台灣絨螯蟹遺傳多樣性分析

分析 88 隻台灣絨螯蟹的 602bp 序列，在鹼基對比例方面，A 所佔比例為 25.9%，T 佔約 35.38%，C 佔約 20.4%，G 佔約 18.27%，A+T=61.28%與中華絨螯蟹 A+T= 62.34% (孔等，2001)、日本絨螯蟹(日本)A+T= 64.8%、日本絨螯蟹(台灣)A+T= 63.8%、合浦絨螯蟹 A+T= 64%、狹額絨螯蟹 A+T= 67.6% 和拉氏清溪蟹(*Candidiopotamon rathbunae*)A+T= 71.2%(Shih *et al.*, 2006)均呈現出 A-T rich 的現象。此結果與高等(2000)的研究中，顯示 AT 含量高是節肢動物共同的現象一致。

比較五個區域不同族群的單倍體基因多樣性指數( $h$ )，可發現單倍體基因多樣性指數在每一族群間的差異性是很大的。最高的為區域 A 的 0.96364，表示此區域族群基因型差異較大。而最低的為 0.6(E 區)，表示族群中基因型相似度相對較高。單倍體基因多樣性指數於此分析中並沒有呈現出一固定的趨勢(如:由南到北漸高或漸低等)。整體的單倍體基因多樣性指數為 0.73093。

核苷酸多樣性指數( $\pi$ )介於 0.00111~0.00338 間，而最大值出現在 A 區域，最小值則出現在 E 區域。整體來看  $\pi$  值為 0.00185 顯示核苷酸變異性是非常低的，顯示各基因型間差異並不大(表三)。

為了解生物族群過去所曾經歷的歷史變動事件，我們除了可以研究化石所處的地層組成物外，亦可從分子生物的角度藉著分單倍體基因多樣性指數( $h$ )與核苷酸多樣性指數( $\pi$ )兩者的變異模式來做為證據。在這篇研究所得單倍體基因多樣性指數( $h$ )平均值為 0.73093，另外核苷酸多樣性指數( $\pi$ )平均值為 0.00185，根據 Grant and Bowen (1998) 及 Avise (1994) 的研究，均顯示高的  $h$  值和低的  $\pi$  值 (i.e.,  $h$  明顯大於 0.5,  $\pi$  明顯小於 0.5%) 表示族群過去可能經歷過族群瓶頸效應 (population bottleneck effect) 接下來伴隨著族群迅速擴張 (population expansion) 的歷史事件。事件起因於某些原因造成族群量暫時但顯著的減少，雖然之後族群數量恢復原有規模，但部份喪失的遺傳多樣性卻不

能恢復，因而造成較其它地方物種更低的 $\pi$ 值(表三)。

族群是否曾經歷過擴張事件，我們可以從中性檢測中的Tajima's D值來得到進一步的證明。因為檢測結果若Tajima's D值沒有顯著偏離零(很趨近於零)，表示所選用的這段粒線體序列在族群中的變異為中性的，也代表族群中的遺傳變異是由於突變-遺傳漂變平衡 (mutation-drift equilibrium) 的結果。但若Tajima's D值呈現顯著負值時，代表此族群歷史曾經經歷過族群擴張。本研究台灣絨螯蟹在各區域內的Tajima's D均呈現負值，其中D區域更達顯著水準 ( $P < 0.05$ )。且進一步將所有區域個體混合一起計算，則發現Tajima's D呈現負值且更加明顯 ( $P < 0.01$ )。因此整體結果顯示台灣絨螯蟹過去確實呈現族群擴張，再次驗證族群過去可能經歷過瓶頸效應之後伴隨著族群迅速擴張的歷史事件。另外輔以Fu and Li's D值做比對，其值與Tajima's D值呈現相同的結果，進一步佐證族群擴張的事件(表七)。

另外Simonsen (1995) 提到，中性檢測的效力和可信度區間會受樣本數和分析序列長度影響，也就是若提高所分析樣本的數目和序列的長度可以間接增強中性檢測的效力，其中又以增加樣本數的效果較好。在此研究中亦得到論證，因為研究數據(Tajima's D值)呈現出取樣數越多，其數值越顯著、亦越接近整體結果數據。因此可以推測，若將每小區域的樣本量持續增加，結果將越達顯著水準(顯著負值)，也越接近物種於環境中實際的表現。

孔等(2001)測得中華絨螯蟹與日本絨螯蟹粒線體COI基因序列 $\pi$ 值結果顯示絨螯蟹種間的核苷酸差異0.0451~0.0486，遠比台灣絨螯蟹種內所測得0.00185大得多，由此可知台灣絨螯蟹族群內部遺傳變異離種間變異還有一段很長的距離。另外胡等(2006)以中國大陸長江水系中的南京和江都兩地區的中華絨螯蟹COI基因進行研究，結果顯示 $\pi$ 值分別0.008~0.019。另外研究指出歐洲大陸的海域性蟹類*Carcinus maenas*， $\pi$ 值介於0.0033~0.0102之間(Roman and Palumbi, 2004)，而冰島的*Carcinus maenas*的 $\pi$ 值接近0。分析以上的資料結果顯示大陸性地區螃蟹物種其 $\pi$ 值均較大，海島型國家的物種 $\pi$ 值均較小。結果

亦顯示，台灣絨螯蟹 $\pi$ 值大於同為海島型國家(冰島)的蟹類，相較下台灣絨螯蟹的遺傳多樣性，與純海源性蟹類比起來是較高的。

## 二、台灣絨螯蟹間的基因交流現象

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。數值經修正之後相當接近零，值介於0 ~ 0.05之間，顯示族群間幾乎無分化現象。另外各區域的基因交流值介於6.3564 ~ 89.0357之間。對照 Wright (1951) 的研究結果，這樣的基因流傳指數( $N_m > 1$ )不僅可以使遺傳結構均質化(亦即讓大族群免於發生地區性的亞族群分化的現象)，另外更達到逢機交配的標準( $N_m > 4$ ) (Hartl and Clark, 1989)。所以整體來說台灣絨螯蟹族群間的基因流傳幾乎無阻礙，使台灣絨螯蟹目前並不存在明顯分化，數值亦顯示台灣絨螯蟹族群間可能存在逢機交配的情況。台灣東部環境導致如此頻繁的交流現象，以致於並沒有辦法將某一變異的基因型保留於一特定區域，所以在親緣關係樹上才無法觀察到同一族群的個體聚集於同一分支的現象(表八)。

於採樣期間調查到於宜蘭與花蓮地區，均有人為放流的情況。經詢問為部分毛蟹捕捉業者，因擔心毛蟹捕捉量下降或者希望提高毛蟹生存空間，而將捕捉到的幼小毛蟹或肉感不飽滿之個體帶到其它溪流放流。孔等(2001)於研究中指出，大陸地區因為中華絨螯蟹人工養殖相當普遍，養殖業者對於幼苗供應無規範，間接使各地幼苗混雜，導致水系種群的差異性已被打亂。因此也擔心台灣毛蟹捕捉業者對台灣絨螯蟹隨意放流的行為，是否已對本物種造成影響。本研究的結果發現，台灣絨螯蟹的基因交流非常頻繁，幾乎已達無阻礙的條件。所以雖然洪(1993)於研究中指出，台灣絨螯蟹成熟雌蟹抱卵數可達 174400 粒。但如此頻繁的基因交流與均勻分散的基因型為前提，以致於人為放流而導致的基因交流，影響應該是不大的。

五個區域間的遺傳距離平均為 0.000041，顯示整體來說族群間的移傳距離很低，其中 B、C 及 D 區域相互間的遺傳距離均低於平均值，而 A 和 B 區域與其它區域間的遺傳距離明顯高於平均值。A 和 E 兩區域距離最遠，遺傳距離也最遠(表九)。由 A、E 區域族群與其它區域族群間的遺傳距離較遠判斷，族群 A、E 可能因海流、地形或其它因素的影響導致此區域形成一封閉區域，進而與外界的基因交流機會降低，加上拓荒者效應( founder effect )所產生目前的結果。另外遺傳距離相差最遠的發生在 A 區域族群與 E 區域族群間，兩區域是所有區域中相距最遠的兩個區域，結果符合 Wright(1978)提出遺傳分化的理論的 isolation by distance 效應，認為兩族群間距離的長短決定了兩族群中個體發生交流的機率，過遠的距離亦會使兩個族群間產生隔離。

計算每條溪之間的遺傳距離，C 區域與 D 區域內多數溪流間絨螯蟹的遺傳距離為 0，此結果與上述以區域族群來比較是相符合的，顯示出海岸山脈對絨螯蟹的區域隔作用是很低的。另外在研究中劃分於 B 區域的溪流三棧溪(SJ)，數據顯示和 C 與 D 區域間的遺傳距離是很近的，研判是海流造成的結果。數據亦顯示出秀姑巒溪(SG)、羊橋溪(YC)及港口溪(GK)與其它溪流間的遺傳距離有較大的趨勢，但因為其它方面的資料不足，並無法做進一步的解釋(表十)。

利用套裝軟體 MINSPNET 所建構的最小網狀親緣關係圖(minimum spanning network)(圖六)，並無顯現出特別的基因型和區域間的關聯性。但卻可以很明顯的看出五個區域均存在 Hap1 的基因型，其總標本數為 44 隻，佔總標本數的 50%，加上其它基因型均從 Hap1 向外延伸，顯示 Hap1 應為主要基因型亦為祖先基因。另外於所有區域亦均發現有 H21 的基因型，總標本數 11 隻(12.5%)。此外由網狀親緣關係圖分析結果發現，離起源中心較遠的基因型標本數以 A 區域所佔比例最高，佔 A 區域所有標本數的 27%，此數值明顯高於 B 區域(8%)、C 區域(10%)、D 區域(3%)及 E 區域(0%)，依據 Templeton and Sing (1993)的研究理論，顯示 A 區域應為台灣絨螯蟹族群最晚散播進入的區域



(圖六)。

另外隨著標本數越多，所呈現出來的基因型也越多，這暗示了實驗中收集的基因型尚未達飽和。因此本研究在不增加標本數目的情況下，以劃分區域的方式來做探討，相較下是合理的。

### 三、台灣絨螯蟹種內與絨螯蟹種間的親緣關係

NJ tree 關係圖顯示，各台灣絨螯蟹主要分群的 bootstrap 值皆小於 40，表示各族群間的台灣絨螯蟹並沒有明顯的種化分群現象。而 bootstrap 接近 70 者有 4 處，均位於親緣關係樹的末端，均是由 2~8 隻少數個體所組成。但組個體分散於所有區域，顯示出無特定基因型與區域間的關連性(圖四)。

另外分析台灣絨螯蟹 23 個 haplotype 基因型，和 GenBank 上 8 隻同屬的絨螯蟹 COI 序列的 NJ tree 關係(圖六)。顯示中華絨螯蟹與日本的日本絨螯蟹最先聚在一起，再和台灣的日本絨螯蟹與合浦絨螯蟹聚為一支，互相間明顯形成了一群。台灣絨螯蟹雖與其它同屬絨螯蟹的親緣關係較遠，但與其它絨螯蟹分支的 bootstrap 值為 100，顯示台灣絨螯蟹與其它絨螯蟹來自相同的祖先演化而成。因此本研究並不支持將台灣絨螯蟹另立為一個新屬，此與邱(2001)、Tang and Zhou (2003)和 Chu *et al.* (2003)研究結果一致。另外 Tang and Zhou (2003)於廣東珠江所採集到的直額絨螯蟹標本 COI 序列，親緣關係則座落於台灣絨螯蟹基因型的分支群中(圖五)。親緣關係樹亦顯示，生長於台灣的日本絨螯蟹與日本的日本絨螯蟹，之間已有很大差異性；相較下合浦絨螯蟹與台灣的日本絨螯蟹，親緣關係反而是較接近的。加上台灣與大陸兩地的日本絨螯蟹並無明顯分化(本實驗室未發表資料)，因此推測合浦絨螯蟹，應該是較晚期才從大陸地區的日本絨螯蟹演化而來。而亞洲各大陸日本絨螯蟹間的親緣關係，有待更多的標本資訊才能釐清。

計算絨螯蟹屬間遺傳距離的結果發現，台灣絨螯蟹與其它絨螯蟹間的遺傳離最遠(0.11884~0.12467)(狹額絨螯蟹不列入計算)，除了台灣的日本絨螯蟹與

大陸的合浦絨螯蟹間遺傳距離較近外(0.00087)，與其它種間遺傳距離均接近0.04，這結果顯示台灣絨螯蟹最早和其它種分開的絨螯蟹(狹額絨螯蟹不列入計算)(表十一)。

另外以分子時鐘計算結果得知，台灣絨螯蟹與其它絨螯蟹約於5.1~7.5百萬年前分開來，其它種絨螯蟹間的分隔年代則介於2~2.81百萬年前(無計算台灣日本絨螯蟹與大陸合浦絨螯蟹的分開時間)。此一結果與 Shih *et al.* (2006)以16S rRNA 為分子標誌，換算得到台灣東部與西部拉氏清溪蟹的分隔時間約於5.7~6.8百萬年前，兩者結果是非常一致的(表十一)。

由以上分析結果研判，台灣絨螯蟹與其它絨蟹間的分化，是經過長時間的隔離所累積，也就是說台灣絨螯蟹的祖先群播遷到台灣後，就不曾再與大陸的原生族群或之後的演化族群有任何基因交流。利用分子時鐘(molecular dating)佐證輔以對照台灣地質事件研判，台灣絨螯蟹約在5.3~7.51百萬年前來到台灣。接下來3~5百萬年前，因為板塊推擠運動導致中央山脈漸漸隆起與西部台地的形成，台灣絨螯蟹也因此被隔離在台灣島的東部。隨著接下來的冰河期(2~2.81百萬年前)，日本絨螯蟹從大陸遷移到台灣西部台地，卻因為中央山脈的阻隔，導致仍無任何機會與台灣絨螯蟹基因產生交流。

#### 四、影響台灣絨螯蟹散播的主要因素

族群間的基因交流程度與彼此間個體遷移數量成正相關，而個體或族群遷移的距離除了和本身的遷移能力有關外，往往亦受到被動傳播因子的影響。從生活史上來研判，台灣絨螯蟹於雌蟹抱卵與剛孵化的幼苗兩階段均生活於河口，均有機會使台灣絨螯蟹散播到鄰近河口而產生基因交流。其中又以幼苗階段的傳播能力最強，因為絨螯蟹幼苗時期的溞狀幼體與大眼幼體兩階段個體均會隨著潮流漂散(賴等，1986; Shy and Yu, 1992)。加上有研究顯示，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 ( DeVries and

Forward, 1989 ; 薛, 2000 ) , 因此研判海水的流動現象成為絨螯蟹幼苗散播的主要的被動因子。

研究顯示日本鰻(*Anguilla japonica*)於柳葉型仔鰻(leptocephalus)期，隨海流漂游分布狀況深受黑潮漂送的影響，導致黑潮所到之處都可發現日本鰻的蹤跡 (曾, 2003)。所以假設台灣絨螯蟹於漂浮時期一樣可以依賴黑潮來達到傳播的效果。黑潮流速約為 60~100cm/sec，配合計算台灣絨螯蟹溞狀幼體的漂浮期(約 14 天)，這段時間台灣絨螯蟹約可依靠黑潮漂流 725~1200 公里左右。如此遠的傳播距離，已可使西南部的台灣絨螯蟹幼體輕易的散播到整個台灣島西部。另外亦可能使台灣東部的幼蟹個體隨黑潮散播到琉球群島、沖繩甚至到達日本。但是目前為止文獻上除了台灣本島外(珠江發現個體過少暫時不紀錄)，並無其它島嶼或國家有台灣絨螯蟹的發現紀錄，而實地採集結果，台灣西部枋山溪以北的河川亦採集不到台灣絨螯蟹個體。

唐等(1996) 研究台灣東北角海域黑潮季節性的關係顯示，黑潮主軸於秋、冬季移向海岸，另外於春、夏季移向海洋。這將導致於春、夏季於河口繁殖的台灣絨螯蟹受黑潮的影響降低。另外唐(1996)亦指出夏季入侵東海陸棚的黑潮支流，最後還是以渦漩的方式再度注入黑潮主流，並往東北方移動。所以漂浮在台灣東北角海域上的台灣絨螯蟹，應該也會依其流動模式擴散，導致無法進入北部地區，而是朝東北方向移動。而另一台灣絨螯蟹的分布界限西南地區，流經此地的黑潮也有類似的渦漩，導致台灣絨螯蟹幼體無法進一步向台灣西部擴張。另外有研究顯示飢餓會明顯降低絨螯蟹幼體的存活率，飢餓超過四天的幼體已無法恢復正常脫殼功能(劉等, 2005)。加上黃(1997) 研究臺灣東北海域不同水團對浮游魚類的影響，結果顯示黑潮流域仔魚的營養狀況是較差的，且仔魚的饑餓率高出其它海域許多。因此無自行游動能力的絨螯蟹溞狀幼體，亦可能受到更嚴重的影響。加上黑潮中掠食者數目多等因素，均可能使漂浮於黑潮上的台灣絨螯蟹幼體，成功擴散個體數量甚少以致於無法繁衍下一代，最後導致台灣絨螯蟹只能發現於台灣地區。

另一相關的海水流動現象是近岸海流，顧名思義就是發生在靠近海岸淺海區的一種海水流動現象。與流經大洋的洋流，如黑潮、親潮，同是海水的流動，差別在於沿岸流發生在近岸淺海區，且規模較小只會對所依附的岸區造成影響。近岸海流雖然規模較小，但其和一些生活於淺海區的生物卻是息息相關的，又近岸海流常因地形關係自成一個體系，導致流入某些區域內的污染物質往往不易流出，而停滯蓄積於碎波帶內造成環境污染(林和李，1980)。另外鄭(2000)於花蓮外海實地量測，短短五公里的兩個量測站卻有不同的海流方向，而且顯示小區域的流動方向會隨著季節改變，但是大體來看台灣東部近岸海流的流動方向卻是不規則且多樣的。

統整以上的討論，與實地採集與文獻記載，研判近岸海流是導致台灣絨螯蟹，基因交流如此頻繁的主要原因。而黑潮的特性加上與海底地形間(峽谷、海槽與島弧等)的交互關係，很可能是導致台灣絨螯蟹無法從西南區域進一步擴張到整個西部、限制東北部族群跨過台灣東北角與限制台灣絨螯蟹只生存於台灣的主要原因。但是真正的作用方式仍需更加深入的探討與更多的資訊比對。

## 五、直額絨螯蟹的存在性問題

在此篇論文研究中，將 Tang and Zhou (2003) 於廣東珠江所採集到的直額絨螯蟹標本 COI 序列放入一起分析。顯示此直額絨螯蟹長度為 578bp 的序列，與本實驗所採集的台灣絨螯蟹分析所得的 Hap1 基因型序列是完全一樣。因此懷疑此採集於廣東珠江的直額絨螯蟹個體標本，其實和台灣的台灣絨螯蟹相同。另外從 Stimpson 於 1858 年根據採自珠江流域澳門地區的一隻未成熟雌蟹標本而建立直額絨螯蟹以後，直到 Tang and Zhou (2003) 宣稱採集到第二隻標本外，期間大陸地區並沒有任何相似直額絨螯蟹的採集紀錄。根據本研究採集台灣絨螯蟹的經驗，雖台灣東北部(A 區域)與西南部(B 區域)族群數量少，但依據採集結果顯示仍然有固定的族群數量存在，若進一步按照其降海季節進



行採集應會有一定的捕獲量。反觀珠江流域，在採集數量與採集相隔時間上均不合理，或許當地確實有機會採集到直額絨螯蟹標本，但這麼少的族群數量是否有能力繁殖下一代是讓人懷疑，因此讓人深思此標本是由外地進入的可能。

雖然台灣穩定的族群數量，加上分生技術的分析及時空背景等論點，都偏向解釋 Tang and Zhou (2003) 於廣東珠江採集到的直額絨螯蟹，與台灣的台灣絨螯蟹是相同物種。但目前證據仍不足以直接宣稱，珠江流域採集個體確實來自台灣的族群。若要更進一步的證據，可能需透過了解台灣絨螯蟹的最遠散播距離，才有辦法做一更明確的證明。而此研究可透過，採集台灣島周邊島嶼，視其是否有台灣絨螯蟹族群存在，來了解台灣絨螯蟹的最遠散播距離。或許亦可同時說明，為什麼台灣絨螯蟹目前只可發現於台灣本島，這個未解的問題。

## 六、保育的問題

遺傳多樣性代表著物種適應環境的能力，因為瀕臨滅絕的物種，其遺傳多樣性通常很貧乏。本實驗的結果顯示，台灣絨螯蟹的遺傳多樣性並不低。而如何進一步保存或是增加目前的遺傳多樣性，是今後保育工作上需要努力的方向。

從實地採集方面來探討，東北部(A 區域)與西南部(E 區域)，標本採集的數量明顯低於其它區域。因此於這兩個地方，有必要實施封溪的政策。目的不只是為了維持當地台灣絨螯蟹的數量，更重要的是，讓生活於這些區域的生物維持生態的平衡。

加強河川的保育工作，降低台灣絨螯蟹因環境而產生的瓶頸效應。使台灣絨螯蟹於一代一代的繁殖中，累積並保留其遺傳多樣性，進一步達到增加台灣絨螯蟹遺傳多樣性的功效。