

95 年度教師研究計畫 成果報告書

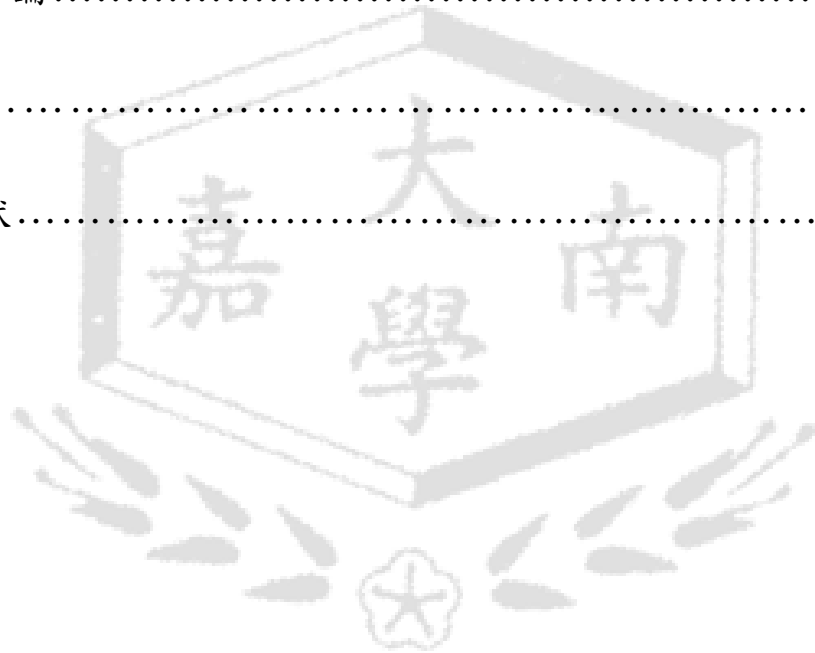
計畫名稱：橫斑型褐吻鰕虎之分
子系統分類

計畫編號：CN9648

計畫執行人：環境資源管理系
鄭蕙玲

目錄

摘要.....	2
前言.....	3
材料與方法.....	6
結果與討論.....	7
誌謝.....	9
參考文獻.....	10



摘要

褐吻鰕虎屬魚類普遍分佈於東亞地區，如日本、韓國、大陸、菲律賓及泰國等地之河川湖泊中，亦為台灣各地溪流中、下游常見的底棲性魚類。本種於1859年由Gill首度在日本記錄，由於其體色變異甚大，外部形質也極為相似，故多次被學者以不同之學名記錄。近年來，亦有學者對台灣地區之褐吻鰕虎進行形態與系統分類之研究，並發表數個新種，然部份形質有重疊的現象，故其分類地位尚無法肯定。橫斑型褐吻鰕虎為此複合種群中唯一廣泛分佈之色型，其他種類與色型之分佈則相當侷限。

本研究利用粒線體去氧核糖核酸Cyt B及COI片段序列分析，探討台灣與日本地區橫斑型褐吻鰕虎之分子系統分類，並與其他同屬物種作一比較。研究結果發現各地橫斑型褐吻鰕虎樣本之遺傳距離遠大於相同地區之不同物種或不同色型之族群，此結果顯示褐吻鰕虎複合種之親緣關係與色型之關聯性相當微弱，較可能歸因於過去地貌變化作用所產生的結果。因此，褐吻鰕虎複合種之物種命名有重整之必要性。

關鍵詞：橫斑型褐吻鰕虎、形態比較、粒線體DNA、遺傳變異。

一、前言

褐吻鰕虎 (*Rhiongobius brunneus complex*) 普遍分佈於東亞地區，如日本、韓國、大陸、菲律賓及泰國等地之河川湖泊中，亦為台灣各地溪流中、下游常見的底棲性魚類。其分類系統屬於硬骨魚綱 (Osteichthyes)、鱸形目 (Perciformes)、鰕虎亞目 (Gobioidei)、鰕虎科 (Gobiidae) 之川鰕虎屬 (*Rhinogobius*) (沈, 1993)。過去魚類學的研究多著重在分類學上的探討及各溪流中魚種分佈的調查，但褐吻鰕虎由於其多變的外部形質特徵，往往造成研究者的困擾。

本種於1859年由Gill首度在日本記錄 (Jordan and Snyder, 1901)，但由於其體色變異甚大，外部形質也極為相似，故多次被學者以不同之學名記錄 (Jordan and Seale, 1906; Tanaka, 1908, 1925; Jordan and Tanaka, 1927; Tomiyama, 1936; Takagi, 1962)，在有關台灣部份的文獻當中 *Ctenogobius candidus* Regan, *Rhinogobius taiwan* Oshima, *R. formosanus* Oshima 以及 *R. similes* Jordan & Snyder 均為其異名 (陳和于, 1986)。日本學者依據不同的體型、顏色及生活史，陸續將褐吻鰕虎種群區分出所謂的橫斑型、黑色型、黑色大型、南黑色大型、藍點型、鑲嵌型、橙色型、藍腹中卵型及黃腹中卵型等九型 (Tetsuji, 1993)。這些不同型的族群大部分可以在同一條溪流的不同棲所裡發現，因此，Mizuno 等人 (1979) 更進一步地從野外觀察其生態區位，發現生存於同一水系的四種色型之個體有明顯的微棲所知分別。隨後又在實驗室中培育不同色型之成魚，觀察各色型間之求偶頻度，認為橫斑型、黑色型、藍點型與黑色大型可區分為不同的有效種 (Mizuno and Azakami, 1981)。Masuda 等人 (1989) 利用同功異構酶電泳法分析日本地區八種色型之褐吻鰕虎之遺傳變異，其結果亦認為橫斑型、黑色型、藍點型與黑色大型應為有效種，而其他如橙色型等四種色型則為另一有效種。此外，Masaya 與

Mutsumi (1994) 也藉由同功異構酶與卵徑大小的分析，認為生活在同一水系中之四型褐吻鰕虎有生殖隔離。

近年來，有學者對台灣地區之褐吻鰕虎進行形態與系統分類之研究，並發表數個新種。Aonuma (1992) 採集台灣部份河川之褐吻鰕虎，以形態資料將其區分為七個種。陳 (1994) 則結合傳統形態、生態區位與DNA 分子序列資料，建議將此相似種群分為十個種，唯其在後續所正式發表之新種文獻當中，並未採用DNA 之分子資料 (Aonuma and Chen, 1996; Chen and Shao, 1996)，由於部份形質有重疊的現象，故其分類地位尚無法肯定。Lee and Chang (1996) 則藉由同功異構酶與可明顯區分的形態特徵將 *R. rubromaculatus* 訂為新種。Cheng 等 (2005a) 利用同功異構酶與粒線體DNA Cytochrome b 至D-loop 序列探討短吻紅斑吻鰕虎之形態與遺傳變異，於台灣南部之林邊溪發現一全新紀錄的色型，並證明其應屬於短吻紅斑吻鰕虎。於同年並發表台灣特有種斑帶吻鰕虎分布於三個不同流域其族群內與族群間之遺傳歧異度，序列分析顯示有二個分別的演化分支存在於台灣南部的高屏河流域，分布於蘭陽溪之斑帶吻鰕虎可能起源於中國大陸東部沿岸，與台灣溪南部族群的基因交流可能是藉由台灣西部沿岸流而產生。

根據先前的研究調查發現橫斑型褐吻鰕虎為此複合種群中唯一廣泛分佈之色型，其他種類與色型之分佈則相當侷限。本研究之目的擬以粒線體DNA 序列資料估測橫斑型褐吻鰕虎族群間之親緣關係及基因交流的情形，以了解各地區橫斑型褐吻鰕虎分化的程度，進而闡明褐吻鰕虎複合種群之分類地位。

國內外利用分子技術探討魚類系統分類及族群遺傳之著作甚多，但以褐吻鰕虎為材料且範圍廣闊跨越國界者，本計畫為首樁。在人類影響下，淡水環境尤其容易受到衝擊，我們能夠採用的生態評估指標為何？「生物完整性」便可評估水域生態系的健康，而魚類群聚因其取樣較單

純且對其棲境要求有較多的了解，可作為估量淡水群聚的生物完整性指標，因此本研究之進行將有助於了解河川中魚類群聚的組成。



二、材料與方法

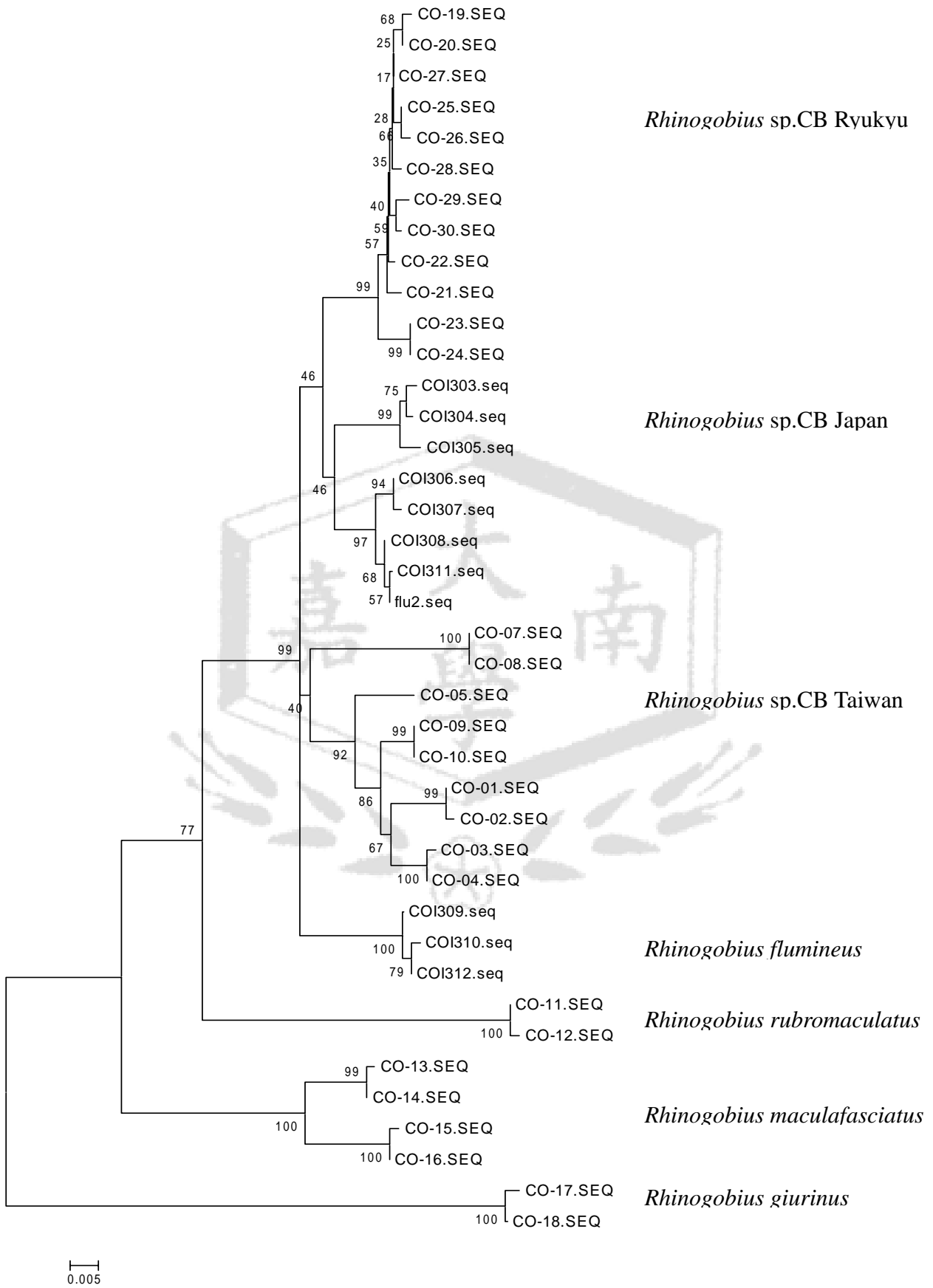
本研究擬以粒線體DNA 中之Cytochrom b 及COI片段來分析各地區橫斑型褐吻鰕虎的遺傳變異，與褐吻鰕虎複合種間之親緣關係。

1. 標本採集：褐吻鰕虎相似種群魚類標本採集以放置蝦籠或電魚法捕捉，在全省各地河川進行採集，另採集日本之標本。
2. DNA 萃取：取魚背部肌肉約0.05 克，以剪刀剪碎，加入DNA Extraction Kit 進行DNA 萃取。
3. DNA 片段增幅：設計引子，增幅粒線體DNA 中之Cytochrom b 及COI 的片段，以自動定序儀進行DNA 定序工作。
4. 序列分析與資料分析：以DNASTAR 套裝軟體中之Seqman 進行序列校對，ClustalW 進行排序整理。經排序的序列以Mega、Arleguin 2.1 等分析軟體計算族群遺傳各項統計介量。

三、結果與討論

檢視分布於三個不同地理區域（台灣、琉球、日本本州）橫斑型褐吻鰕虎及相近河系中不同物種及色型個體之遺傳歧異度，粒線體DNA序列包含cytochrom b（741bp）及COI（646bp），共1387鹼基，由60個個體定序出42個單系型（haplotype），在序列鹼基對比例方面屬於A-T rich。利用NJ法所建構之親緣關係數型圖顯示橫斑型褐吻鰕虎（名古屋吻鰕虎，*Rhinogobius nagoyae formosanus*；台灣吻鰕虎*Rhinogobius formosanus formosanus*）三地間族群之遺傳距離遠大於相同地區之不同物種或不同色型之族群，如圖一。此結果支持族群基因結構受到地理隔離之影響。

以粒線體DNA片段序列所得到的結果顯示，整個褐吻鰕虎複合種群部分的物種已種化完成，如台灣特有之短吻紅斑吻鰕虎（*R. rubromaculatus*）與斑帶吻鰕虎（*R. maculafasciatus*）；而有少部分的物種如橫斑型吻鰕虎等則正在分化當中，以目前的結果可將褐吻鰕虎複合種區分為六大次種群共8個種，其中包括2個新種。



圖一、利用粒線體 DNA cyt b 及 COI 片段以聚類分析法建構之褐吻鰕虎富何種之親緣樹狀圖

四、誌謝

承蒙學校提供經費支持，日本和歌山博物館平嶋健太郎先生以及台南一中生物教師林弘都先生，在標本採集方面的協助，使本計畫得以順利進行，中央研究院生物多樣性中心許桂菁小姐協助分子序列定序，在此一並致謝。



五、參考文獻

- Aonuma, Y. 1992. Review of the genus *Rhinogobius* (Pisces: Gobiidae) in Taiwan. Master's thesis, Ryukyu Univ., 79pp.
- Aonuma, Y. and I. S. Chen. 1996. Two new species of *Rhinogobius* (Pisces: Gobiidae) from Taiwan. *J. Taiwan Mus.* 49(1): 7-13.
- Bruford, M. W., O. Hanotte, J. F. Y. Brookfield and T. Burke. 1992. Single locus and multilocus DNA fingerprinting. In *Molecular genetic analysis of populations: a practical approach*. Edited by A. R. Hoelzel. Oxford University Press, Oxford. 225-269 pp.
- Chen, I. S. and K. T. Shao. 1996. A taxonomic review of the Gobiid fish genus *Rhinogobius* Gill, 1859, from Taiwan, with descriptions of three new species. *Zool. Stud.* 35(3): 200-214.
- Cheng, H. L. S. Huang, and S. C. Lee. 2005a. Morphological and molecular variation of *Rhinogobius rubromaculatus* (Pisces: Gobiidae) from Taiwan. *Zool. Stud.* 44(1): 119-129.
- Cheng, H. L. S. Huang, and S. C. Lee. 2005b. Population genetics of the endemic goby, *Rhinogobius maculafasciatus* (Pisces: Gobiidae) from Taiwan. *Zool. Stud.* 44(3): 329-336.
- Jordan, D. S. and J. O. Snyder. 1901. A review of the gobioid fishes of Japan, with descriptions of twenty-one new species. *Proc, U. S. Natn. Mus.*, 24(1244):33-132.
- Jordan, D. S. and A. Seale. 1906. Descriptions of six new species of fishes from Japan. *Proc. U. S. Natn. Mus.* 30(1445): 143-148.
- Jordan, D. S. and S. Tanaka. 1927. The fresh water fishes of the Riukiu Islands, Japan. *Ann. Carneg. Mus.* 17(2): 259-278, pls. 22-23.

- Masuda, Y. and T. Ozawa and S. Enami. 1989. Genetic differentiation among eight color types of the freshwater goby, *Rhinogobius brunneus*, from Western Japan. Jap. J. Ichthyol. 36(1): 30-41.
- Mizuno, N., S. Uehara and M. Maki. 1979. Studies on a freshwater fish, *Rhinogobius brunneus* (Gobiidae) IV. Habitat segregation among sympatric populations of 4 colour types. Japan. J. Ecol. 29(2): 137-147. (In Japanese with English summary.)
- Mizuno, N. and T. Azakami. 1981. Mate preference among various types of a freshwater goby, *Rhinogobius brunneus*. Advance Abstracts for the 14th Annual Meeting of the Ichthyological Society of Japan, p. 17 (In Japanese.)
- Oshima, M. 1919. Contributions to the study of the fresh water fishes of the island of Formosa. Ann. Carneg. Mus. 12:234-241.
- Takagi, K. 1962. Nomenclatural status of *Gobius brunneus* Temminck et Schlegel, 1845, a gobioid species from Japan. Zool. Mag. 71: 295-300. (In Japanese with English abstract.)
- Tanaka, S. 1908. Descriptions of eight new species of fishes from Japan. Annor. Zool. Japon. 7(1): 27-47.
- Tanaka, S. 1925. Figures and descriptions of the fishes of Japan. 34. Maruzen, Tokyo, 629-644 pp. 151-153 pls.
- Tomiyaama, I. 1936. Gobiidae of Japan. Japan. J. Zool. 7(1): 37-112.
- 沈世傑。1993。台灣魚類誌。國立台灣大學動物學系。台北。