

台灣地區日本鰻鰻線之年內族群遺傳結構

張格銓^{1*}·黃瀛生¹·張湧泉¹·劉富光²

¹行政院農業委員會水產試驗所淡水繁養殖研究中心

²行政院農業委員會水產試驗所

摘要

本試驗針對同一繁殖年度內 (2008 年 12 月~2009 年 2 月), 於台灣地區北部、中部及南部 3 個不同河口採樣的日本鰻 (*Anguilla japonica*) 鰻線, 以 5 個微衛星 DNA 基因座之等位基因分布情況, 分析 18 組樣本之遺傳變異與遺傳結構 (genetic structure)。

結果顯示每個基因座在全部 18 組均有多型性現象, 其中 AJMS-2 基因座的變異範圍最大, 等位基因有 16~25 個, AJMS-3 變異範圍最小, 等位基因僅 4~7 個。不同組別在 5 個微衛星基因座所產生的平均等位基因數量差異不大, 在 13.0~16.0 之間。期望異型合子比例 (H_e) 為 0.581~0.944。

十八組鰻線彼此間的遺傳分化指數 (fixation index, F_{ST}) 均相當低 (≤ 0.0089), 均無顯著性差異 ($p > 0.0003$); 而且整體之 F_{ST} 值為 0.0006, 亦無顯著性差異 ($p = 0.418$), 顯示其族群間之分化 (genetic differentiation) 程度非常低, 為隨機交配 (panmixia) 之族群。

關鍵字: 微衛星 DNA、遺傳結構、隨機交配

前言

日本鰻 (*Anguilla japonica*) 是溫帶的降海型 (catadromous) 洄游魚類, 產卵場位於 140° E、15° N 附近的馬里亞納群島西方太平洋北赤道洋流海域, 在此曾經撈捕到柳葉鰻 (leptocephalus) (Tsukamoto, 1992)。其後在 142° E、13° N 附近海域撈捕到雄種鰻; 143° E、13° N 附近海域撈捕到雌種鰻及孵化後 2~3 天的前柳葉鰻 (preleptocephalus) 仔魚 (黑木, 2008)。

有關日本鰻之生活史, 一般認為受精卵在產卵場孵化成仔魚後, 即開始進行被動洄游, 順著北赤道洋流往西輸送, 經菲律賓東方及台灣附近後北上進入黑潮海域, 並繼續往日本方向移動。其形態先後經過柳葉鰻, 玻璃鰻 (glass eel) 及鰻線 (elver) 後, 自河口溯河而上, 在河川棲息、成長為黃鰻, 然後成熟為銀鰻再降河, 從河口降海至

產卵場繁殖後代 (曾, 2001)。另外, Tsukamoto and Arai (2001)、Tzeng *et al.* (2002, 2003) 認為有些日本鰻不會溯河, 只在海水中完成整個生活史或頂多洄游至河口棲息而已。

日本鰻是台灣重要的養殖物種, 主要捕撈時間為冬季。一般而言, 台灣從北 (宜蘭) 到南 (屏東) 等河口及沿岸皆可捕撈到鰻線。根據水試所多年來的調查紀錄顯示, 近年來台灣鰻線的年捕撈量均不足 10 mt, 遠低於國內養殖的需求量 (約 30 mt)。近幾年, 以宜蘭地區的捕獲數量為最多, 中部及南部相對捕獲量較少。從鰻線價格來看, 日本鰻鰻線價格變化很大, 其範圍在 10~100 元台幣之間, 但大都因產量不足而致鰻線價格偏高, 每尾平均約 25~50 元, 以致大幅提高養殖成本, 間接使上市鰻魚的價格隨之高漲。此外, 因氣候變遷急劇, 使得捕撈之鰻線逐年減少, 加以水域環境汙染等, 諸多問題, 在在皆顯示維護鰻魚生態與資源是刻不容緩的。

至於台灣的日本鰻鰻線族群遺傳結構研究方面, 過去係以台灣北部為主要研究區域 (Chang *et al.*, 2007; Han *et al.*, 2010), 並未同時追蹤比較中

*通訊作者 / 彰化縣鹿港鎮海埔里 106 號, TEL: (04) 777-2175; FAX: (04) 777-5424; E-mail: glenn@mail.fwtk.tfrin.gov.tw

Table 1 Sampling list of the Japanese eels (*Anguilla japonica*)

Sampling site	Date	Sample abbreviation	Sample size	Mean body length (mm)	Mean body weight (g)
Yilan	9 Dec. 2008	YDA	50	57.02 ± 2.06	0.15 ± 0.02
Miaoli	15 Dec. 2008	MDA	49	57.22 ± 1.61	0.14 ± 0.01
Pingtung	18 Dec. 2008	PDA	50	56.68 ± 1.58	0.14 ± 0.02
Yilan	25 Dec. 2008	YDB	50	56.30 ± 2.45	0.14 ± 0.02
Miaoli	29 Dec. 2008	MDB	49	56.51 ± 1.99	0.13 ± 0.02
Pingtung	30 Dec. 2008	PDB	50	56.86 ± 2.08	0.15 ± 0.02
Yilan	12 Jan. 2009	YJA	48	56.10 ± 2.84	0.14 ± 0.02
Miaoli	13 Jan. 2009	MJA	50	57.18 ± 2.78	0.14 ± 0.03
Pingtung	16 Jan. 2009	PJA	50	56.18 ± 2.42	0.13 ± 0.02
Yilan	21 Jan. 2009	YJB	50	59.22 ± 2.56	0.16 ± 0.02
Miaoli	23 Jan. 2009	MJB	50	57.12 ± 2.61	0.13 ± 0.02
Pingtung	21 Jan. 2009	PJB	49	56.67 ± 2.11	0.12 ± 0.02
Yilan	12 Feb. 2009	YFA	49	58.02 ± 2.78	0.13 ± 0.02
Miaoli	11 Feb. 2009	MFA	50	57.52 ± 3.28	0.14 ± 0.02
Pingtung	13 Feb. 2009	PFA	49	56.98 ± 2.52	0.11 ± 0.02
Yilan	25 Feb. 2009	YFB	50	58.10 ± 2.76	0.13 ± 0.03
Miaoli	27 Feb. 2009	MFB	50	56.06 ± 2.29	0.12 ± 0.02
Pingtung	26 Feb. 2009	PFB	36	56.31 ± 2.25	0.10 ± 0.02
Total			879	Mean 57.02 ± 2.53	Mean 0.13 ± 0.02

Yilan: Lanyang River; Miaoli: Sihu River; Pingtung: Linbian River

部或南部的鰻線遺傳結構。本試驗的目標是探討在同一年度內，於台灣北部及南部 2 個主要鰻線捕獲之河口，外加中部 1 個河口，於不同時間 (2008 年 12 月~ 2009 年 2 月) 捕撈的鰻線，以微衛星 DNA 基因座等位基因之分布情況，分析族群遺傳結構 (population genetic structure) 之差異性，期能了解台灣之日本鰻鰻線遺傳結構之年內時空差異，或可做為鰻線資源復育之參考。

材料與方法

一、試驗魚種

於 2008 年 12 月 ~ 2009 年 2 月同一繁殖年度之三個月間，分別請漁民在台灣北部 (宜蘭蘭陽溪)、中部 (苗栗西湖溪) 及南部 (屏東林邊溪) 之河口，約分上、下旬採集鰻線一次。從外觀篩除鱸鰻及短鰭鰻等黑鰻，保留日本鰻。總計為 18 組，879 尾 (Table 1)。

二、試驗方法

(一) Genomic DNA 之萃取

剪取少部分肌肉組織，用 MasterPure DNA Purification Kit (EPICENTRE) 萃取 genomic DNA 後，以 GeneQuant *pro* (Amersham Biosciences) 核酸分析儀測定濃度後保存於 -20°C 冰箱。

(二) 微衛星 DNA 之增幅

選取 5 個微衛星基因座 (AJMS-1、AJMS-2、AJMS-3、AJMS-5 及 AJMS-6) (Tseng, 2006; Chang *et al*, 2007) 作為分子標記，將各個引子對 (primer pairs) 分別與鰻苗之 genomic DNA 進行 PCR 反應，reverse primers 用 FAM 或 HEX 螢光作標記 (Table 2)。PCR 反應試液包含：genomic DNA (25 ng/μl) 1 μl，10 mM dNTP 1 μl，10 μM primer 1 μl，Reaction Buffer (10X) 5 μl，Supertherm (5U) 0.2 μl 及無菌水 41.8 μl，總體積 50 μl，置於 MyCycler

Table 2 Characteristics of the 5 microsatellite DNA loci

Locus	Primer sequence(5'-3')	Anneal(°C)	Fluorescent dyes labeling on the reverse primer	GeneBank accession
AJMS-1	F: TCGAGACACCAGATAGTCAC R: ACATCCTAGGCTCACACC	58	FAM	AJ297599
AJMS-2	F: ATTCACGTCATCGGACCTGC R: GCTGGGAGCGACGCTTTATC	56	FAM	AJ297600
AJMS-3	F: GGTATGAATGCAGGCGTTTATG R: GCAACCGATTTGATCTCCAG	56	HEX	AJ297601
AJMS-5	F: CCTTCAGATTGCTAGCAC R: CGGAGTCTAATTGTCTCCTC	58	HEX	AJ297602
AJMS-6	F: ACAGAGCCAGACAAACAGAC R: GGTCAGCAAGCAAACGAAC	57	FAM	AJ297603

thermal cycler (BIO-RAD) 進行增幅；增幅條件為：Denature (94°C, 30 sec)，Annealing (不同引子對之適當溫度, 30 sec)，Extension (72°C, 30 sec)，經過 30 次循環後，降至 4°C 終止反應。反應結束後取 10 µl 進行 DNA 洋菜電泳來檢驗 DNA 產物是否存在。

(三) 基因型分析 (genotyping)

將在電泳膠片上有反應之微衛星 DNA 產物，委託昕穎生物科技股份有限公司實施基因型分析。

(四) 統計分析

針對所測定 18 組鰻線各個樣本之遺傳型，使用 Genepop 4.0 軟體 (Rousset, 2009) 計算每組在不同基因座之等位基因 (allele) 數目、觀察異型合子比例 (H_o)、期望異型合子比例 (H_e)、哈溫平衡 (Hardy-Weinberg equilibrium; HWE) 及與遺傳分化 (genetic differentiation) 相關之組間或整體遺傳分化指數 (F_{ST})。使用邦弗朗尼校正法 (Bonferroni correction) (Rice, 1989) 校正顯著水準，判別 5 個基因座中各組 HWE 及 18 組組間 F_{ST} 統計數值是否有顯著差異性。使用 Convert 131 軟體 (Glaubitz, 2004) 將本來以 Genepop 格式儲存之基因型資料轉為 Phylip 格式之等位基因頻率數據後，使用 Phylip 3.69 套裝軟體 (Felsenstein, 2004) 計算組間之遺傳距離 (Nei's genetic

distance, 1972) 並以鄰近連接法 (Neighbor-Joining)，繪出演化樹 (bootstrap = 1,000)。

結 果

計算所蒐集之 18 組鰻線之數量並設定各組代號，另分別計算各組體重與體長之標準差。由結果顯示各組彼此之間體重及體長之差異，YJB 組之體重最重，體長也高於其它各組 (Table 1)。

分析 18 組鰻線之遺傳多樣性，結果顯示，AJMS-2 基因座在全部樣本中的變異範圍最大，等位基因有 16 ~ 25 個，AJMS-3 的變異範圍最小，等位基因僅 4 ~ 7 個。不同組的 5 個微衛星基因座所產生的平均等位基因數量差異不大，均在 13.0 ~ 16.0 之間。觀察異型合子比例 (H_o) 為 0.360 ~ 0.936，期望異型合子比例 (H_e) 為 0.581 ~ 0.944，每個族群的平均 H_o 都比 H_e 低。哈溫平衡 (HWE) 方面，在 AJMS-1 及 AJMS-2 基因座，除了 YDA 組 (宜蘭 12 月上旬) 的 AJMS-2 基因座以外，其它各組均有顯著性 ($P < 0.01$)；在 AJMS-3、AJMS-5 及 AJMS-6 基因座則全部組別均無顯著性 (Table 3)。

在遺傳結構方面，18 組鰻線彼此間的遺傳分化指數 (F_{ST}) 均相當低 (≤ 0.0089)，在統計上均無顯著差異 ($p > 0.0003$)，而且整體之 F_{ST} 值為 0.0006，亦無顯著差異 ($p = 0.418$) (Table 4)，顯示其遺傳分化程度非常低，為隨機交配 (panmixia)

之族群。各組鰻線彼此間之遺傳距離在 0.0261 ~ 0.0973 之間 (Table 4)，根據數據以鄰近連接法繪出之演化樹 (Fig. 1)，其 bootstrap values 之百分比大部份介於 3 ~ 45 之間。

討 論

遺傳分化指數 (F_{ST}) 是用來測定族群間分化之程度，其數值範圍是 0 ~ 1，0 表示完全沒有遺傳分化現象，1 表示完全沒有相同的等位基因 (Hartl & Clark, 1997; Sofia, 2006)。另外，Wright

(1978) 指出 F_{ST} 在 0 ~ 0.05 之間是些微族群分化，0.05 ~ 0.15 是中度族群分化，0.15 ~ 0.25 是高度族群分化，如果大於 0.25 則是非常高的族群分化。本試驗為在同一繁殖季節內的 3 個月，每個月的上、下旬分別在台灣北、中、南 3 個河口，採集天然日本鰻線作族群結構分析，結果 18 組鰻線彼此之間與整體之遺傳分化指數均相當低，在統計上無顯著差異，表示頂多只有些微之分化現象。而且演化樹上 bootstrap values 之百分比大部份是介於 3 ~ 45 之間，小於 50，表示其無論是在時間上或空間上均只是隨機性之分布 (Retief,

Table 3 Genetic variability of 18 samples of Japanese eels

Locus	AJMS-1				AJMS-2				AJMS-3			
	A	Ho	He	P	A	Ho	He	P	A	Ho	He	P
YDA N=50	16	0.420	0.855	0.000*	20	0.796	0.911	0.0076	6	0.600	0.650	0.842
MDA N=49	12	0.408	0.855	0.000*	25	0.542	0.944	0.000*	6	0.592	0.658	0.650
PDA N=50	12	0.388	0.857	0.000*	22	0.560	0.926	0.000*	6	0.700	0.672	0.480
YDB N=50	14	0.440	0.889	0.000*	22	0.640	0.910	0.000*	5	0.660	0.648	0.111
MDB N=49	13	0.396	0.880	0.000*	20	0.531	0.921	0.000*	6	0.694	0.712	0.092
PDB N=50	17	0.440	0.879	0.000*	24	0.600	0.923	0.000*	6	0.500	0.637	0.190
YJA N=48	15	0.563	0.881	0.001*	18	0.574	0.937	0.000*	7	0.667	0.627	0.293
MJA N=50	15	0.500	0.876	0.000*	22	0.740	0.927	0.003*	5	0.620	0.634	0.892
PJA N=50	14	0.560	0.893	0.000*	16	0.540	0.903	0.000*	4	0.660	0.588	0.085
YJB N=50	16	0.510	0.879	0.000*	22	0.620	0.916	0.000*	6	0.640	0.681	0.867
MJB N=50	17	0.400	0.893	0.000*	20	0.580	0.926	0.000*	5	0.520	0.653	0.079
PJB N=49	14	0.633	0.886	0.000*	20	0.816	0.9289	0.009*	6	0.592	0.654	0.730
YFA N=49	16	0.449	0.854	0.000*	23	0.551	0.937	0.000*	5	0.714	0.643	0.424
MFA N=50	19	0.367	0.899	0.000*	19	0.620	0.906	0.000*	7	0.480	0.581	0.047
PFA N=49	13	0.449	0.854	0.000*	23	0.755	0.927	0.000*	6	0.542	0.695	0.240
YFB N=50	15	0.469	0.856	0.000*	22	0.700	0.931	0.002*	5	0.620	0.641	0.438
MFB N=50	16	0.360	0.893	0.000*	23	0.800	0.920	0.001*	7	0.720	0.660	0.605
PFB N=36	13	0.361	0.873	0.000*	18	0.500	0.918	0.000*	5	0.583	0.601	0.289

Table 3 Continued

Locus	AJMS-5				AJMS-6				Average		
	A	Ho	He	P	A	Ho	He	P	A	Ho	He
YDA N=50	17	0.900	0.899	0.264	21	0.840	0.879	0.195	16.0	0.711	0.839
MDA N=49	17	0.878	0.906	0.638	16	0.796	0.859	0.010	15.2	0.643	0.844
PDA N=50	13	0.860	0.899	0.202	17	0.780	0.855	0.415	14.0	0.658	0.842
YDB N=50	13	0.880	0.891	0.237	17	0.820	0.855	0.157	14.2	0.688	0.839
MDB N=49	17	0.875	0.909	0.495	20	0.875	0.868	0.672	15.2	0.674	0.858
PDB N=50	15	0.880	0.903	0.812	17	0.840	0.881	0.872	15.8	0.652	0.845
YJA N=48	15	0.830	0.903	0.146	15	0.936	0.883	0.268	14.0	0.714	0.846
MJA N=50	15	0.860	0.903	0.116	17	0.900	0.862	0.052	14.8	0.724	0.840
PJA N=50	15	0.880	0.898	0.634	16	0.860	0.852	0.507	13.0	0.700	0.827
YJB N=50	12	0.780	0.881	0.062	18	0.880	0.873	0.952	14.8	0.686	0.845
MJB N=50	13	0.880	0.896	0.083	18	0.900	0.867	0.846	14.6	0.656	0.847
PJB N=49	16	0.857	0.915	0.681	17	0.837	0.875	0.227	14.6	0.747	0.852
YFA N=49	16	0.918	0.905	0.191	17	0.898	0.850	0.774	15.4	0.706	0.838
MFA N=50	14	0.746	0.883	0.134	16	0.820	0.870	0.286	15.0	0.617	0.828
PFA N=49	16	0.878	0.897	0.404	16	0.816	0.851	0.531	14.8	0.688	0.845
YFB N=50	15	0.878	0.892	0.306	14	0.860	0.886	0.214	14.2	0.705	0.841
MFB N=50	17	0.860	0.900	0.195	17	0.860	0.864	0.193	16.0	0.720	0.847
PFB N=36	15	0.912	0.901	0.951	14	0.861	0.857	0.948	13.0	0.643	0.830

Note:

1. N: sample size; A: number of alleles; Ho: observed heterozygosity; He: expected heterozygosity; P: probability value of Hardy-Weinberg equilibrium.
2. 5 loci, significant level for Hardy-Weinberg equilibrium after Bonferroni correction: $P = 0.05/5 = 0.01$.

2000), 沒有規律性之分群現象。台灣地區的烏魚分成沿岸及洄游族群 (Huang *et al.*, 2001), 根據本試驗之結果, 日本鰻鰻線並沒有像烏魚一樣分為多個族群, 整體而言, 18 組日本鰻彼此間在體型上雖有若干差異, 但顯然是來自隨機交配之一個族群。

Tseng *et al.* (2006) 分析台灣淡水、枋寮, 中

國汕頭、杭州、鴨綠江及日本三河灣 (Mikawa Bay) 等河口之日本鰻鰻線, 卻顯示為非隨機交配之族群。其遺傳分化指數的顯著水準經過邦弗朗尼校正法校正後, 1990 年在枋寮的採樣與 1997 及 1999 年在淡水的採樣有顯著差異; 2000 年在枋寮的採樣與 1997 及 1999 年在淡水的採樣卻沒有顯著差異; 而 1990 及 2000 年在枋寮的採樣彼此間也沒

Table 4 Pairwise F_{ST} (below diagonal, with probability value in parenthesis) and Nei's unbiased genetic distance (above diagonal) between the 18 samples of Japanese eels

	YDA	MDA	PDA	YDB	MDB	PDB	YJA	MJA	PJA	YJB	MJB	PJB	YFA	MFA	PFA	YFB	MFB	PFB
YDA		0.0583	0.0720	0.0647	0.0420	0.0603	0.0564	0.0850	0.0658	0.0506	0.0305	0.0627	0.0439	0.0691	0.0545	0.0310	0.0413	0.0423
MDA	0.0020 (0.2951)		0.0624	0.0285	0.0488	0.0354	0.0660	0.0740	0.0581	0.0551	0.0367	0.0619	0.0446	0.0565	0.0398	0.0390	0.0343	0.0645
PDA	0.0026 (0.5277)	-0.0008 (0.7772)		0.0767	0.0863	0.0645	0.0756	0.0626	0.0858	0.0626	0.0516	0.0485	0.0651	0.0786	0.0804	0.0720	0.0648	0.0961
YDB	0.0016 (0.7153)	-0.0043 (0.8086)	0.0006 (0.2691)		0.0533	0.0648	0.0566	0.0922	0.0496	0.0784	0.0472	0.0688	0.0508	0.0535	0.0516	0.0483	0.0293	0.0471
MDB	-0.0011 (0.6502)	-0.0010 (0.4543)	0.0021 (0.2396)	0.0000 (0.6037)		0.0716	0.0791	0.0790	0.0499	0.0463	0.0362	0.0756	0.0551	0.0713	0.0406	0.0469	0.0410	0.0638
PDB	0.0009 (0.2950)	-0.0041 (0.7764)	-0.0009 (0.4716)	0.0003 (0.2740)	0.0015 (0.1225)		0.0695	0.0705	0.0593	0.0571	0.0351	0.0506	0.0703	0.0642	0.0725	0.0511	0.0437	0.0698
YJA	0.0027 (0.4770)	0.0018 (0.4766)	0.0019 (0.5860)	0.0019 (0.5606)	0.0033 (0.2518)	0.0041 (0.3240)		0.0565	0.0559	0.0702	0.0553	0.0447	0.0683	0.0317	0.0965	0.0575	0.0499	0.0459
MJA	0.0047 (0.2664)	0.0031 (0.3817)	0.0031 (0.1642)	0.0072 (0.0343)	0.0016 (0.3596)	0.0051 (0.0581)	0.0008 (0.1943)		0.0703	0.0409	0.0573	0.0418	0.0840	0.0410	0.0973	0.0817	0.0690	0.0887
PJA	0.0043 (0.2399)	0.0024 (0.1806)	0.0060 (0.0300)	-0.0000 (0.1781)	0.0022 (0.0349)	0.0007 (0.1854)	0.0041 (0.0454)	0.0059 (0.0057)		0.0578	0.0397	0.0698	0.0792	0.0468	0.0890	0.0606	0.0288	0.0454
YJB	-0.0007 (0.8904)	0.0007 (0.3699)	0.0003 (0.2650)	0.0038 (0.1391)	-0.0021 (0.3054)	-0.0004 (0.7756)	0.0043 (0.2176)	-0.0025 (0.6742)	0.0022 (0.1383)		0.0282	0.0584	0.0566	0.0717	0.0539	0.0621	0.0554	0.0840
MJB	-0.0033 (0.8606)	-0.0034 (0.7053)	-0.0020 (0.8614)	-0.0016 (0.6427)	-0.0039 (0.7098)	-0.0038 (0.8566)	0.0004 (0.5420)	0.0014 (0.1382)	0.0016 (0.0907)	-0.0038 (0.8864)		0.0462	0.0455	0.0521	0.0460	0.0360	0.0318	0.0490
PJB	0.0001 (0.7671)	-0.0008 (0.3317)	-0.0015 (0.8169)	0.0028 (0.3641)	0.0001 (0.8159)	-0.0002 (0.3052)	-0.0025 (0.9086)	-0.0025 (0.7724)	0.0052 (0.0539)	0.0003 (0.4723)	-0.0021 (0.7368)		0.0691	0.0554	0.0691	0.0511	0.0503	0.0667
YFA	-0.0002 (0.8100)	-0.0019 (0.6563)	-0.0016 (0.8538)	0.0017 (0.2121)	0.0003 (0.4452)	0.0023 (0.2861)	0.0025 (0.1668)	0.0042 (0.1941)	0.0073 (0.1262)	-0.0004 (0.6961)	-0.0016 (0.8776)	0.0014 (0.5899)		0.0730	0.0472	0.0507	0.0459	0.0579
MFA	0.0026 (0.5113)	0.0011 (0.8096)	0.0026 (0.4634)	-0.0020 (0.5200)	0.0021 (0.6898)	0.0016 (0.3045)	-0.0014 (0.6861)	-0.0007 (0.5366)	-0.0007 (0.5829)	0.0027 (0.4361)	-0.0008 (0.8991)	0.0024 (0.6620)	0.0036 (0.6381)		0.0904	0.0521	0.0332	0.0411
PFA	0.0001 (0.5240)	-0.0030 (0.8939)	0.0029 (0.1682)	-0.0001 (0.3662)	-0.0031 (0.7862)	0.0028 (0.4569)	0.0073 (0.0556)	0.0073 (0.0360)	0.0089 (0.0150)	0.0005 (0.1650)	-0.0016 (0.5516)	0.0011 (0.5784)	-0.0003 (0.7410)	0.0068 (0.3275)		0.0413	0.0503	0.0818
YFB	-0.0047 (0.9844)	-0.0037 (0.8038)	0.0014 (0.1853)	-0.0005 (0.5013)	-0.0024 (0.4598)	-0.0001 (0.1681)	0.0022 (0.1711)	0.0037 (0.0624)	0.0030 (0.0600)	0.0004 (0.1794)	-0.0037 (0.9623)	-0.0023 (0.4563)	-0.0017 (0.6573)	0.0003 (0.9502)	-0.0032 (0.8132)		0.0315	0.0423
MFB	-0.0014 (0.6042)	-0.0012 (0.5451)	0.0006 (0.1261)	-0.0022 (0.4616)	-0.0021 (0.5611)	-0.0011 (0.5433)	-0.0004 (0.6131)	0.0023 (0.1368)	-0.0019 (0.1951)	-0.0000 (0.2658)	-0.0011 (0.2057)	-0.0007 (0.4104)	0.0011 (0.3824)	-0.0022 (0.8849)	0.0012 (0.6749)	-0.0027 (0.3680)		0.0261
PFB	-0.0026 (0.8976)	0.0033 (0.4337)	0.0037 (0.5201)	-0.0005 (0.6234)	-0.0006 (0.3869)	0.0024 (0.8135)	-0.0030 (0.9557)	0.0028 (0.6050)	-0.0005 (0.6428)	0.0036 (0.7057)	-0.0007 (0.7535)	-0.0005 (0.6923)	0.0015 (0.7877)	-0.0036 (0.9432)	0.0067 (0.2282)	-0.0022 (0.8572)	-0.0074 (0.9987)	

Note:

1. Overall $F_{ST} = 0.0006$, $p = 0.418$.2. 153 pairs for pairwise F_{ST} , significant level after Bonferroni correction: $p = 0.05 \div 153 = 0.0003$.

有顯著差異。另外，Chang *et al.* (2007) 分析台灣北部淡水河河口日本鰻線 (2000 年 11 月 ~ 2001 年 3 月) 之遺傳結構，結果顯示，在時間上的遺傳變異並無顯著差異，為隨機交配族群。Han *et al.* (2010) 甚至分析在台灣、中國大陸、韓國及日本等不同地點或時間採集之鰻線，發現不論是在空間或時間上皆無顯著之族群分化現象，整體而言，東亞地區的日本鰻為一個隨機交配族群。然而臺灣南北距離才 400 多公里，在不同時間與河口撈捕到鰻線之遺傳分化程度低，是合理的。

本試驗以 5 個微衛星基因座進行研究，與前述報告之試驗檢測方法類似 (Tseng, 2006; Chang *et al.*, 2007; Han *et al.*, 2010)，主要的差別在於取樣方式不同。本試驗的鰻線係同一年度在不同地點採集的樣本，而前述報告則是不同年度在同一地點進行採樣。根據本試驗之採樣結果 (Table 1)，並未發現南北差異，但若以時間的角度來看，可發現鰻線在 12 月上旬至 1 月上旬，於台灣北、中、南三點所採集之鰻苗體長的標準差皆有稍為增加的趨勢。經過向漁民訪問與調查，推測 12 月下旬

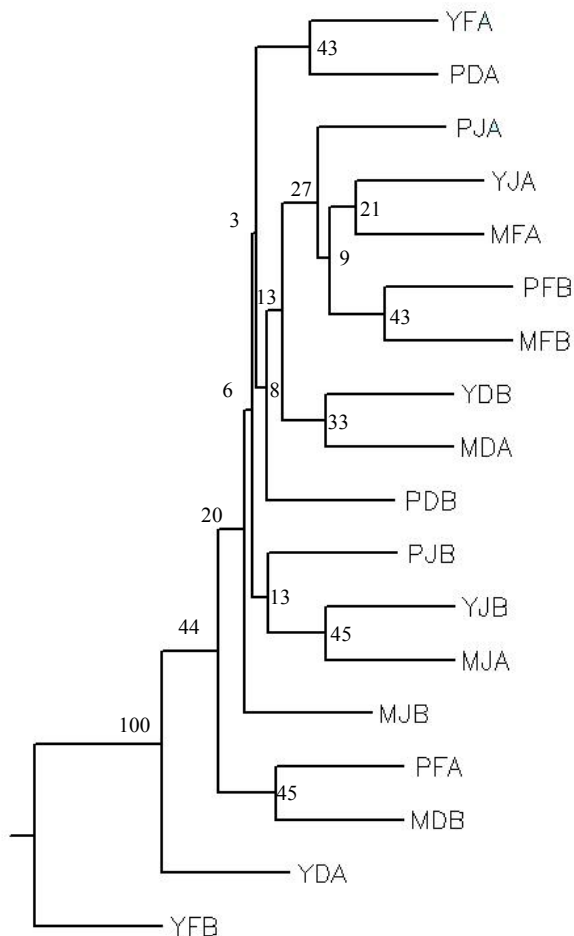


Fig.1 Neighbor-joining tree (phenogram) based on Nei's genetic distances (1972) among 18 samples of Japanese eels. Bootstrap values (% of 1,000 replicates) displayed at the nodes.

至1月上旬之潮水明顯地帶來新的鰻線，所以在實際捕獲鰻線時，新的鰻線較為嬌小，原停留在河口的鰻線體型可能稍大，進而造成體長標準差大於前期的現象。然而，1月下旬至2月下旬之平均體重的平均值變化較大 (0.10~0.16g)，據訪查資料可推測有多個因素影響體重之測定值 (如南北採集方式的不同，蓄養環境的差異，2月時屏東的鰻線資源量驟減等)，又因本試驗乃透過漁民協助捕撈，較難即時的記錄新捕獲鰻線之體重等資料，故體重與體長部分未進行統計分析。

綜合試驗結果，利用微衛星基因座之片段多型性，針對台灣北、中、南三河口地區之日本鰻鰻線進行族群遺傳研究，分析同一年度內採集的18組鰻線，各組間或整體之 F_{ST} 值均無顯著差異，這些鰻線視為同一族群。

謝辭

本試驗得以順利完成，承本中心同仁丁惠茹女士在微衛星 PCR 等操作上之鼎力協助，特此表示謝意。

參考文獻

- 曾萬年 (2001) 鰻魚生活史及進化. 科學發展月刊, 29: 592-596.
- 黒木洋明 (2008) 日本列島から南へ 2,500 km!! 熱帯の太平洋上で世界初のウナギの親魚を捕獲! 獨立行政法人水産総合研究センター第7回成果発表會「探り、知り、そして活かす水産研究」, 19-22.
- Chang, K. C., Y. S. Han and W-N Tzeng (2007) Population genetic structure among intra-annual arrival waves of the Japanese eel *Anguilla japonica* in northern Taiwan. Zool. Stud., 46: 583-590.
- Felsenstein, J. (2004) PHYLIP (Phylogeny Inference Package) version 3.6. Distributed by the author. Department of Genome Sciences, University of Washington, Seattle, USA.
- Glaubitz, J. C. (2004) Convert: A user-friendly program to reformat diploid genotypic data for commonly used population genetic software packages. Molecular Ecology Notes, 4: 309-310.
- Han, Y. S., C. L. Hung, Y. F. Liao and W. N. Tzeng (2010) Population genetic structure of the Japanese eel *Anguilla japonica*: panmixia at spatial and temporal scales. Mar. Ecol. Prog. Ser., 401: 221-232.
- Huang, C. S., C. F. Weng and S. C. Lee (2001) Distinguishing two types of gray mullet, *Mugil cephalus* L. (Mugiliformes: Mugilidae), by using glucose-6-phosphate isomerase (GPI) allozymes with special reference to enzyme activities. J. Comp. Physiol. B, 171: 387-394.
- Retief, J. D. (2000) Phylogenetic analysis using PHYLIP. In Methods in Molecular Biology, vol. 132: Bioinformatics Methods and Protocols (S. Misener and S. A. Krawetz eds), Humana Press Inc., Totowa, NJ, U. S. A., 243-258.
- Rice, W. R. (1989) Analyzing tables of statistical tests. Evolution, 43: 223-225.
- Rousset, F., 2009. Genepop 4.0: <http://kimura.univ-montp2.fr/~rousset/Genepop.htm>.
- Silvia, H. S., C. R. M. Silva, B. A. Galindo, F. S.

- Almeida, L. M. K. Sodre and C. B. R. Martinez (2006) Population genetic structure of *Astyanax scabripinnis* (Teleostei, Characidae) from an urban stream. *Hydrobiologia*, 553: 245-254.
- Tseng, M. C., W. N. Tzeng and S. C. Lee (2006) Population genetic structure of the Japanese eel *Anguilla japonica* in the northwest Pacific Ocean: evidence of non-panmictic populations. *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, 308, 221-230.
- Tsukamoto, K. (1992) Discovery of the spawning area for Japanese eel. *Nature*, 356, 6372, 789-791.
- Tsukamoto, K. and T. Arai (2001) Facultative catadromy of the eel *Anguilla japonica* between freshwater and seawater habitats. *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, 220: 265-276.
- Tzeng, W. N., J. C. Shiao and Y. Iizuka (2002) Use of otolith Sr:Ca ratios to study the riverine migratory behaviors of Japanese eel *Anguilla japonica*. *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, 245: 213-221.
- Tzeng, W. N., Y. Iizuka, J.C. Shiao, Y. Yamada and H. P. Oka (2003) Identification and growth rates comparison of divergent migratory contingents of Japanese eel (*Anguilla japonica*). *Aquaculture*, 216: 77-86.
- Wright, S. (1978) *Evolution and the Genetics of Populations (Vol. 4): Variability Within and Among Natural Populations*. University of Chicago, Chicago, USA.

Population Genetic Structure of Japanese Eel (*Anguilla japonica*) Elvers Intra-annually Caught from Taiwan Estuaries

Ke-Chuan Chang^{1*}, Ying-Sheng Huang¹, Yuon-Chuan Chang¹ and Fu-Guang Liu²

¹Freshwater Aquaculture Research Center, Fisheries Research Institute

² Fisheries Research Institute

ABSTRACT

Elvers of intra-annual cohort of Japanese eel (*Anguilla japonica*) were sampled from northern, central, and southern estuaries of Taiwan in between December 2008 and February 2009, and examined for the population genetic structure by means of microsatellite analysis.

All of the microsatellite loci were variable among 18 sample sets. Among them, AJMS-2 loci was more variable with 16 ~ 25 alleles; but AJMS-3 loci was less variable with 4 ~ 7 alleles. The average numbers of alleles for the 5 loci were scattered in a small range of 13.0 ~ 16.0, and the expected heterozygosity was 0.581 ~ 0.944.

All values of pairwise F_{ST} for the 18 samples were low (≤ 0.0089), and non-significant ($p > 0.0003$), and the overall genetic differentiation was also very low and non-significant ($F_{ST} = 0.0006$, $p = 0.418$). This suggested that Japanese eel in Taiwan is a panmixic population.

Key words: microsatellite DNA, genetic structure, panmixic

*Correspondence: Freshwater Aquaculture Research Center, Fisheries Research Institute, 106 Hai-Pu, Lukang 50562, Taiwan. TEL: (04) 777-2175; FAX: (04) 777-5424; E-mail: glenn@mail.fwlk.tfrin.gov.tw