

國立臺灣大學理學院海洋研究所

碩士論文

Institute of Oceanography

College of Science

National Taiwan University

Master Thesis

利用生命條碼進行台灣周邊海域柳葉鰻之分類研究
Taxonomy and Barcoding of Leptocephali around Taiwan

蔡素甄

Su-Chen Tsai

指導教授：邵廣昭 博士

孫志陸 博士

Advisors: Kwang-Tsao Shao, Ph.D.

Chi-Lu Sun, Ph.D.

中華民國 99 年 7 月

July, 2010

謝辭

兩年的碩士班生涯即將進入尾聲，一路走來要感謝的人很多，首先謝謝我的兩位恩師邵廣昭博士及孫志陸博士的指導與教誨。邵老師給予我學習的機會，在實驗及撰寫論文的過程中悉心指導，讓我能夠順利完成研究；謝謝孫老師兩年來的指導，教我做人處事的道理，以及師母葉素然女士在日常生活中的關懷與照顧。

感謝口試委員臺灣大學海洋研究所陳韋仁博士及海洋大學水產養殖學系陳鴻鳴博士百忙之中抽空對本論文詳加審閱並逐字斧正，使得本論文更臻完美；謝謝水產試驗所吳繼倫博士、臺灣大學海洋研究所謝志豪博士及蕭仁傑博士提供柳葉鰻標本作為本論文的研究及比對樣本。

感謝中央研究院魚類生態與演化研究室全體同仁，沛立學長、桂菁學姊、靜怡學姐、宣汶學長、運志學長、惇遠學長及榮樺學長在實驗過程給予寶貴的意見，特別感謝宣汶學長、運志學長及惇遠學長經常關心我的論文進度，也在我的論文撰寫過程提供許多意見；茂榮學長經常提供我最新的柳葉鰻文獻，瓊媛姐、玟琦、小柯、承佑、雅芳及同學敦仁、思淳日常生活的關心，適時地給予我加油與打氣，陪我度過漫長的碩士班生活，學弟瀚揚、大姊美雲提供我柳葉鰻樣本。特別感謝金同隆 26 號的陳丁木船長，在出差採樣時給予的幫忙與協助，也謝謝韋宏的包容與陪伴。

最後要感謝我的家人，謝謝爸媽多年來的教養及弟弟的加油打氣，感謝阿姨及姨丈在台北提供溫暖的住所，讓我能無後顧之憂地完成學業，你們的支持是我前進的最大動力，在此將本論文獻給一路上陪伴我的朋友及家人，謝謝！

摘要

柳葉鰻(*leptocephalus*)為海鰻總目(*Elopomorpha*)的幼生，分類位階為條鰭魚綱、新鰭亞綱，海鰻總目包含鰻形目(*Anguilliformes*)、囊咽目(*Saccopharyngiformes*)、海鰻目(*Elopiformes*)、狐鰻目(*Albuliformes*)，其中台灣產鰻形目共有62屬157種，囊咽目有1屬1種、海鰻目有2屬2種、狐鰻目有5屬5種。柳葉鰻頭型狹長，且有著幾近透明、極側扁的身體，外覆一層薄薄的肌肉組織，身體肌節明顯，許多種類有色素斑分佈，與其成魚形態相差甚多。目前台灣附近海域柳葉鰻的描述尚未健全，因此本研究希望能藉由DNA生命條碼(barcode)輔助形態鑑定，將台灣附近海域柳葉鰻建立一個較為正確的檢索表。本研究之鰻形目仔稚魚樣本，分別在2007年7月到2009年11月間利用中層拖網(Isaacs-Kidd Midwater Trawl)，櫻花蝦中層拖網及浮游動物網於東北、西南及東海海域採集；2009年11月於東港下雜魚堆採集。共採集到528尾樣本，有效樣本為142尾，利用形態分出32個類型，鑑定出22個分類單元，共有6個科，3個亞科，10個屬，3個種；從142尾樣本中成功取得86條COI序列，將COI序列利用BOLD資料庫及冷凍遺傳資料庫進行比對，可將分類單元數目提升至24，包含5個到科，3個到亞科，7個到屬，9個到種及2個未知形態，其中1科2屬4種為台灣海域首次描述。由於柳葉鰻形態特徵較少，利用形態鑑定時大多僅能鑑定到科或屬的分類階層，故利用生命條碼比對則可將原本僅能鑑定到科或屬的物種鑑定至較低的分類階層；且原本以形態鑑定為線鰻科的柳葉鰻經由生命條碼比對後，修正為海鰻科的台灣絲尾海鰻。因此利用生命條碼進行仔稚魚鑑定不僅能補足形態特徵上的不足，亦能檢驗其形態特徵的有效性，與形態鑑定結果之正確性，有助於柳葉鰻的分類研究。然而由於生命條碼資料庫尚未健全，鰻形目成魚物種之生命條碼數目相對較少，涵蓋的比例較低，導致比對到的最相近的物種，與樣本的序列相似度皆不高。未來若能將成鰻生命條碼資料庫及柳葉鰻形態資料收集並建立完整，則可提供柳葉鰻鑑種的良好依據。

關鍵字：柳葉鰻、生命條碼、COI、仔稚魚

Abstract

Leptocephalus is the larvae of the Superorder Elopomorpha which consist of four orders: Anguilliformes, Saccopharyngiformes, Elopiformes, and Albuliformes. Leptocephali are distinguished from other fish larvae by their extremely compressed and transparent body; they are also very different from their adult fish. Since leptocephali are not well described in the Taiwan area, this study aim to use barcoding to identify them in order to give better descriptions. For the morphological and COI identifications, a total of 528 leptocephali were collected by IKMT, shrimp trawl, and ring net in July 2007, June 2008, May-July 2009, and July 2009. Based on the morphological characters, 142 specimens could be classified into 32 types, and further identified to 22 taxa, including 6 families, 3 subfamilies, 10 genera, and 3 species, whereas, barcoding identified the specimens to 24 taxa, including 5 families, 3 subfamilies, 7 genera, and 9 species. Because leptocephali lack significant morphological characters, most of the specimens could only be identified to the family or genus level by morphology. DNA barcoding provides an efficient way to identify fish species: the number of species identified by the barcoding approach is more than that by morphology. It can also evaluate the morphological identification of fish larvae and improve the accuracy of identification. However, the BOLD database is not perfect as it still hasn't included all the eel species. Therefore, it is necessary to make the COI database more complete for adult eels so that the barcoding identification of leptocephali can be carried out more thoroughly.

Key words: leptocephali, barcode, COI, larvae

目 錄

章次	頁次
中文摘要.....	I
英文摘要.....	II
目錄.....	III
表目錄.....	V
圖目錄.....	VI
第一章 前言.....	1
第二章 材料與方法.....	5
壹、研究海域及採樣方法.....	5
貳、標本之處理.....	5
參、外部形質鑑定.....	6
肆、利用生命條碼鑑定.....	6
第三章 結果.....	11
壹、外部形態與生命條碼鑑定結果.....	11
貳、利用分子鑑定結果回推至形態特徵所建立之檢索表.....	18
參、利用分子鑑定結果推測柳葉鰻之時空分佈.....	21
肆、台灣海域首次描述之柳葉鰻.....	22
第四章 討論.....	23
壹、生命條碼與形態鑑定結果之差異及前人形態研究之比較.....	23
貳、利用生命條碼可解決形態鑑定上的所遭遇的困難.....	27
參、生命條碼資料庫之檢討.....	30
肆、柳葉鰻之時空分佈.....	30
伍、採樣方法之誤差.....	31
陸、樣本保存方法.....	32

柒、DNA 萃取之方法.....	32
第五章 結論.....	33
第六章 參考文獻.....	34



表目錄

表次	頁次
表 1、西南及東北海域各樣點採樣日期、時間、使用網具及樣本數.....	42
表 2、東海海域各樣點採樣日期、時間、使用網具及樣本數.....	43
表 3、鰻鱺目內糯鰻科、海鰻科、鱈科、蛇鰻科、通鰓鰻科之科內 K2P 距離.....	44
表 4、利用外部形態區分出之類型與分類階層之鑑定.....	45
表 5、利用 COI 比對 BOLD 資料庫鑑定之結果與形態鑑定之比對.....	47
表 6、利用中央研究院生物多樣性中心魚類生態及演化研究室建構之成魚序列 資料庫鑑定之結果與形態鑑定之比對.....	49
表 7、西南海域及東北海域柳葉鰻之時空分佈.....	51
表 8、東海海域柳葉鰻之空間分佈.....	52
表 9、各採樣海域採集之不同科別柳葉鰻體長範圍.....	53



圖目錄

圖次	頁次
圖 1、台灣西南海域(紅色框)及東北海域(藍色框)採集柳葉鰻之位置圖.....	54
圖 2、東海海域採集柳葉鰻之樣站位置圖.....	55
圖 3、柳葉鰻計數形質及測量形質示意圖.....	56
圖 4、擬鯨科柳葉鰻 2 種外部形態型及其成魚圖.....	57
圖 5、擬鯨科柳葉鰻及成魚之類緣關係樹與 K2P 距離.....	58
圖 6、糯鰻科柳葉鰻美體鰻屬 2 種外部形態型及其成魚圖.....	59
圖 7、糯鰻科美體鰻屬柳葉鰻及成魚之類緣關係樹與 K2P 距離.....	60
圖 8、糯鰻科柳葉鰻深海康吉鰻屬及糯鰻亞科外部形態及其成魚圖.....	61
圖 9、糯鰻科深海康吉鰻屬柳葉鰻及成魚之類緣關係樹與 K2P 距離	62
圖 10、糯鰻科之類緣關係樹及其 K2P 距離.....	63
圖 11、糯鰻科日本糯鰻柳葉鰻外部形態型及其成魚圖.....	64
圖 12、糯鰻科領吻鰻屬柳葉鰻外部形態型圖.....	65
圖 13、糯鰻科柳葉鰻 Con06 及 Con07 外部形態型圖.....	66
圖 14、鯨科柳葉鰻及李氏裸胸鯨柳葉鰻外部形態型及成魚圖	67
圖 15、鯨科柳葉鰻 3 種外部形態型及成魚圖.....	68
圖 16、鯨科 (Muraenidae)柳葉鰻及成魚之類緣關係樹與 K2P 距離.....	69
圖 17、台灣絲尾海鰻柳葉鰻外部形態及其成魚圖	70
圖 18、台灣絲尾海鰻柳葉鰻及成魚之類緣關係樹與 K2P 距離	71
圖 19、線尾蜥鰻柳葉鰻外部形態及其成魚圖	72
圖 20、線尾蜥鰻柳葉鰻及成魚之類緣關係樹與 K2P 距離.....	73
圖 21、油鰻亞科柳葉鰻 4 種外部形態型圖.....	74
圖 22、蛇鰻科柳葉鰻 4 種外部形態型及其成魚圖.....	75
圖 23、蛇鰻科柳葉鰻 3 種外部形態型圖	76

圖 24、蛇鰻科(Ophichthidae)柳葉鰻及成魚之類緣關係樹與 K2P 距離.....	77
圖 25、鋸齒鰻科柳葉鰻 3 種外部形態型及其成魚圖.....	78
圖 26、鋸齒鰻科(Serrivomeridae)柳葉鰻及成魚之類緣關係樹與 K2P 距離.....	79
圖 27、通鰓鰻科柳葉鰻 2 種外部形態型圖.....	80
圖 28、通鰓鰻科(Synphobranchidae)柳葉鰻及成魚之類緣關係樹與 K2P 距離.....	81
圖 29、形態未知類型柳葉鰻 2 種外部形態型及成魚圖.....	82
圖 30、鰻鱺科(Anguillidae)柳葉鰻及成魚之類緣關係樹與 K2P 距離.....	83
圖 31、形態未知類型柳葉鰻 2 種外部形態型及成魚圖.....	84



第一章 前言

柳葉鰻(*Leptocephalus*)又稱狹首幼生，為海鰻總目(Elopomorpha)魚類的仔稚魚，分類位階為條鰭魚綱(Actinopterygii)、新鰭亞綱(Neopterygii)。海鰻總目包含鰻形目(Anguilliformes)、囊咽目(Saccopharyngiformes)、海鰻目(Elopiformes)、狐鰻目(Albuliformes)，全世界共有 24 科 156 屬 857 種(Nelson, 2006)，其中台灣產鰻形目共有 12 科 62 屬 157 種，囊咽目有 1 科 1 屬 1 種、海鰻目有 2 科 2 屬 2 種、狐鰻目有 3 科 6 屬 7 種(邵，2009)。由於這四個目皆有柳葉狀幼生，因此 Greenwood *et al.* (1966)將之歸為海鰻總目；經由粒線體 DNA 的分析，證實海鰻總目為單一系群(monophyly)，而海鰻總目之柳葉鰻可分為三種類型：叉型尾(forked-tailed type)、絲狀尾(filament-tailed type)及圓型尾(round-tailed type)，叉型尾之特徵被認為是較為原始的特徵 (Wang *et al.*, 2003; Inoue *et al.*, 2004)。

根據 Bishop *et al.* (2000)報告指出，Pfeiler(1986)將仔稚魚依生長策略分成兩種類型：(1)Type I:一般硬骨魚之仔稚魚——孵化後仰賴卵黃囊為營養來源，此時成長緩慢；卵黃囊通常會在孵化後的 1-7 天後用盡，此時出現仔魚(larvae)的特徵，並開始攝取外源性營養，體型持續成長，接著進入稚魚(juvenile)階段。Type I 仔稚魚藉由累積蛋白質形成肌肉達到增加身體質量的目的(Balbontin *et al.*, 1973; Ehrlich, 1974a, 1974b; Cetta and Capuzzo, 1982)，仔稚魚時期能量幾乎用在生長上，較少有儲存能量的情形(Brightman, 1993)，漂浮期約為一週至一個月(Werner and Gilliam, 1984)。(2)Type II: 擁有柳葉鰻階段——孵化的過程與一般仔稚魚相同，其仔稚魚期可分成三個時期，在卵黃囊用盡後，柳葉鰻並沒有明顯的攝食行為，進入變態期前，藉由累積醣胺聚多醣(Glycosaminoglycans; GAGs)體型急遽增大並儲存能量(phase I)，phase I 結束後進入變態期(phase II)，完全變態後，柳葉鰻時期特徵完全消失(phase III)，隨後進入稚魚期。其漂浮期約數個月，較 Type I 仔稚魚長，歐洲鰻(*Anguilla anguilla*)之漂浮期甚至可長達三年(Smith, 1979; Schmidt, 1925)。

鰻魚生活史以日本鰻為例，可分為卵期(egg-stage)、柳葉鰻(leptocephalus)、玻

璃鰻(glass eel)、鰻線(elvers)、黃鰻(yellow eel) 及銀鰻(silver eel) 等五個發育階段(曾, 2001)。日本鰻(*Anguilla japonica*)的產卵場已被證實是在馬里亞納海溝附近的海底山(Tsukamoto, 1992; Tsukamoto *et al.*, 2003)；位於大西洋的馬尾藻海(Sargasso sea)則被認為是美洲鰻(*Anguilla rostrata*)、歐洲鰻(*Anguilla anguilla*) (Schmidt, 1923)、大西洋康吉鰻(*Conger oceanicus*)、多齒康吉鰻(*Conger triporiceps*)(McCleave and Miller, 1994)、線鰻(*Nemichthys scolopaceus*)及唇線鰻(*Labichthys carinaus*)(Wippelhauser *et al.*, 1996)的共同產卵地點；Kimura *et al.* (2006)則發現糯鰻科(Congridae)、蛇鰻科(Ophichthidae)及鴨嘴鰻科(Nettastomatidae)鰻魚在日本東北沿岸產卵的證據。

大多數魚類之早期生活史均有漂浮期(pelagic stage)(Leis, 1991; Thresher, 1984)，且是魚類的主要擴散時期(dispersal phase)(Brothers and Thresher, 1985)，而魚卵及仔稚魚的補充量將影響成魚族群的大小、族群結構及地理分布(Leis, 1991)，故藉由了解魚卵及仔稚魚的數量及分布，可以進一步去推估成魚之生殖量、產卵期及產卵場。此外進行海洋保護區的劃設及限漁之資源評估管理(Hempel, 1979)，多半會挑選魚類之繁殖場及繁殖季，這也必須仰賴仔稚魚正確的鑑定。然而魚卵或剛孵化之仔稚魚由於缺乏明顯的形態特徵，難以鑑定至種或屬的層級(Leis and Carson-Ewart, 2000; Kochzius, 2009)；隨著 DNA 定序技術的快速進展，只需少量 DNA 模板(template)，透過聚合酶連鎖反應(Polymerase Chain Reaction; PCR)進行增幅，利用一小段 DNA 作為鑑種之依據，即為生命條碼方法(Barcoding Life)，使得 DNA 鑑種方法成為魚卵或仔稚魚鑑種一個強而有力的工具(Kochzius, 2009)。

柳葉鰻頭型狹長，且有著幾近透明、極為側扁的身體，外覆一層薄薄的肌肉組織，體側有明顯的 V 型或 W 型肌節，多數種類有色素斑分佈(Smith, 1979；吳和莊, 2008)，使得他們與一般的仔稚魚在外形上有很大的不同。根據 Smith(1979)利用柳葉鰻體型、消化道及頭部形態，色素斑分佈鑑定到科或屬，肌節數特徵則可鑑定到種，隨後建立北大西洋海域海鰻總目柳葉鰻之完整檢索表(Smith,

1989b)。沖山(1998) 對日本海域產仔稚魚研究中，將 24 種柳葉鰻鑑到種的層級，其餘則只能鑑定到科或屬的層級。Miller and Tsukamoto(2004)詳細描述柳葉鰻各科特徵，利用體型、消化道長度及形態、臀鰭與背鰭相對位置、肝臟與腎臟形態鑑定柳葉鰻，但大多都只鑑定到科或屬。而在台灣的柳葉鰻研究，曾和于(1986)在台灣北部公司田溪河口採集到夏威夷海鰻及大眼海鰻仔魚，並做形態上的描述；王(1987)在其碩士論文中描述 4 科 30 個 taxa 之柳葉鰻，大部分僅鑑定到科的層級，只有 3 個 taxa 鑑定至屬。丘(1999)鑑定出 4 科 6 個 taxa，其中 2 個鑑定到科，4 個鑑定至種的層級。蔡(2006)利用形態特徵進行鑑定台灣東部海域之柳葉鰻，共鑑定出 2 目 9 科 20 taxa，其中 2 個鑑到屬，6 個鑑定到種，分別是鰻鱺目(Anguilliformes)合鰻鰻科(Synphobranchidae) 的前肛鰻屬(*Dysomma*)及糯鰻科的美體鰻屬(*Ariosoma*)；海鰻科(Muraenesocidae)的海鰻(*Muraenesox cinereus*)及百吉海鰻(*M. bagio*)，線鰻科的線鰻(*Nemichtys scolopaceus*)，鴨嘴鰻科的紅斑弱頭鰻(*Saurenchelys lateromaculatus*)，囊鰻鰻目(Saccopharyngiformes)月尾鰻科(Cyematidae)的月尾鰻(*Cyema atrum*)，其餘僅能鑑定至科的層級。

由於柳葉鰻鑑定特徵少，前述研究利用形態進行柳葉鰻分類，僅有少部分能鑑定到種的層級，且亦難以確定其鑑種之正確性及可靠性；但利用 DNA 分子方法，則能提高鑑定至種的機會及其正確性。Aoyama *et al.* (1999)利用 16SRNA 將 63 尾鰻鱺屬(*Anguilla*)柳葉鰻鑑定出六個種；Ma *et al.* (2007) 利用 16SRNA 檢視東海海域(East China Sea; ECS)柳葉鰻，發現經由 DNA 確認大部分柳葉鰻為繁星糯鰻(*Conger myriaster*)，然而其體側色素斑隨著體長大小不同有所變化，顯示該特徵會隨著個體發育而改變。Ma *et al.* (2008)利用 16SRNA 將兩個僅能鑑定到屬層級的美體鰻屬(*Ariosoma*)柳葉鰻，利用 16SRNA 鑑定至種的層級；Kim *et al.* (2008)利用 cytochrome *b* mtDNA(Cytb)鑑定北梭魚屬(*Albula*)之柳葉鰻鑑定至種的層級。

Hebert *et al.* (2003)提出以粒線體基因的 cytochrome *c* oxidase I (COI)序列作為物種鑑定之條碼，此方法可克服利用形態特徵進行分類研究之四大限制：(一)表型

可塑性(phenotypic plasticity)和遺傳變異性(genetic variability)導致鑑定錯誤；(二)隱蔽種(cryptic taxa)普遍存在許多生物類群中(Knowlton, 1993; Jarman and Elliott, 2000)；(三)形態特徵建立的檢索表只適用在特定的生活史階段或性別；(四)物種鑑定之檢索表須由專門的分類學家使用。利用生命條碼(DNA Barcode)進行物種鑑定被廣泛應用在許多動物類群上，如蝴蝶(Hebert *et al.*, 2004a)、蚜蟲(Footitt *et al.*, 2008)、鳥類(Hebert *et al.*, 2004b)、蝙蝠(Clare *et al.*, 2007)、甲殼類(Costa *et al.*, 2007)、蜘蛛(Barrett and Hebert, 2005)、魚類(Ward *et al.*, 2005; Ward and Holmes, 2007)等，皆有良好的鑑定效果。此外，COI 片段也被用來作為鑑定仔稚魚的工具，如隆頭魚科(Labridae)(Hare *et al.*, 1998)、雀鯛科(Pomacentridae)及蝴蝶魚科(Chaetodontidae)(柯, 2007)、刺尾鯛科(Acanthuridae)及金鱗魚科(Holocentridae)(Hubert *et al.*, 2010)仔稚魚的鑑定。

綜觀國內外柳葉鰻的分類研究，除了Smith(1989b)建立北大西洋海域柳葉鰻完整之檢索表外，在台灣及日本海域研究尚未發展完全，由於柳葉鰻時期形態特徵與其稚魚期及成魚時期相差甚鉅，增加利用形態特徵鑑種的困難度，因此本研究之目的乃希望先利用形態特徵鑑定本研究室所採獲之既有之柳葉鰻樣本，並利用粒線體DNA的COI片段當作分子標誌，予以鑑種，比較形態與分子鑑種之差異，評估分子鑑種應用在柳葉幼生上之效益，並檢視過去形態所建立之檢索表其檢索之特徵是否正確，同時將比對結果回推至形態，據此建立本研究所採集標本之檢索表。

第二章 材料與方法

壹、研究海域及採樣

本研究樣本分別採樣於台灣西南部、東北部龜山島海域(圖 1)及東海海域(圖 2)三個樣區。

一、台灣西南部海域

利用水試一號及海研三號於台灣西南部海域以中層拖網(IKMT; Issac-Kidd midwater trawl)進行斜拖採樣，網具全長 6.5m，網口寬 1.75m，網口高 1.3m，網目大小為 1mm；採樣時間為 2007 年 7 月 27、28 日(水試一號；FR11)、11 月 6、7 日(海研三號，OR11；CR1258 航次)及 2008 年 6 月 26-28 日(海研三號，OR11；CR1301 航次)，共計 3 個航次、24 個網次的採集作業，採樣深度及時間如表 1，採樣海域位置如圖 1。另有部分樣本採集自東港下雜魚堆。

二、台灣東北龜山島海域

租用民間漁船「金同隆 26 號」於大溪漁港或烏石港出發，至龜山島海域以櫻花蝦拖網採集樣本，網具全長為 82.5m，網口寬 21m，內袋網網目大小為 30mm，外袋網目為 10mm，採樣時間為 2009 年 5 月及 7 月。另有部分樣本採集自大溪漁港下雜魚堆及金同隆 26 號船長的幫忙採集，採樣日期如表 1，採樣海域圖如圖 1。

三、東海海域

利用國立台灣大學所管理之海研一號於東海海域(CR905 航次)以浮游動物拖網(Ringnet)進行斜拖採樣，網口直徑 1.3 公尺，網長 4 公尺，網目為 1000 μ m，採樣日期為 2009 年 6 月 29 日至 2009 年 7 月 13 日，共計 25 個測站，25 個網次的採集作業，採樣深度及時間如表 2，採樣測站圖如圖 2。

貳、標本之處理

西南海域及龜山島海域樣本以海水冰存，東海樣本 95%酒精保存，帶回實驗室後處理。樣本先以 Nikon D2X 相機加上 60mm 微距鏡頭拍照紀錄形態，處理過

後的樣本以 95%酒精保存，以便日後進行 DNA 的萃取，樣本編號以網次或採集地點英文縮寫加上數字代表，以中層拖網縮寫為 IK，大溪漁港英文縮寫為 DS，烏石港英文縮寫為 WS，東港英文縮寫則為 DG，東海樣本以測站代號加上數字代表。因中層拖網及東海採獲樣本僅採用部份樣本進行分類研究，故於表 1 及表 2 註記採獲樣本數(N)及進行分類研究之樣本數(n)，其餘樣本(N-n)則因樣本保存狀態不佳，無法從事形態鑑定，應視為無效樣本，故未列入形態及分子鑑定之樣本中。

參、外部形質鑑定

本研究以 Simth(1979)、沖山宗雄(1998)及 Miller and Tsukamoto(2004)的檢索表及鑑定依據為主，並盡可能鑑定至最低分類階層。觀察形質分為以下兩種：

一、計數形質(meristic characters)(圖 3)

總肌節數 (Total myomeres; TM)

肛門前肌節數 (Preanal myomeres; PAM)

背鰭前肌節數 (Predorsal myomeres; PDM)

二、測量形質 (measurement characters)(圖 3)

全長 (Total Length; TL)

頭長 (Head Length; HL)

肛前長 (Preanal Length; PAL)

體高 (Body Height; BH)

肆、利用生命條碼鑑定

一、去氧核糖核酸(DNA)的萃取

Geneaid Genomic DNA Mini Kit (1/2) Tissue

1. 將組織樣本置於裝有 95%乙醇之 1.5 ml 無菌離心管中，保存於-20℃冰箱中備用。

2. 將離心管中酒精吸出，並置於 37°C/40 分鐘，使酒精完全揮發乾淨。
3. 待組織完全乾燥後，加入 200µl GT Buffer。
4. 加入 20µl 蛋白質分解酶 proteinase K (10 mg/ml)，以渦流震盪(vortex)混合。
5. 將含有肌肉組織溶液置入 37°C 培養箱，放至隔天。
6. 加入 200µl GB Buffer，以渦流震盪 5 秒。
7. 置於加熱至 70°C 之乾浴槽加熱 20 分鐘，每 10 分鐘搖晃一次。此時將 Elution Buffer 放入乾浴槽預熱備用。
8. 加入 100%乙醇 200µl，以渦流震盪 10 秒。將混合液吸出放入套有收集管 (Collection tube)的離心管(GD Column)，以 8,000 rpm 離心 2 分鐘。
9. 更換新的收集管，並倒掉濾液，加入 400µl WI Buffer 的清洗液，以 8,000 rpm 離心 30 秒。
10. 更換新的收集管，並倒掉濾液，加入 400µl Wash Buffer 清洗液，以 8,000 rpm 離心 30 秒。
11. 更換新的收集管，並倒掉濾液，以 13,000 rpm 離心 3 分鐘
12. 將 GD Column 放入 1.5 ml 無菌離心管，加入 70µl 加熱至 70°C 的 Elution Buffer，靜置 3-5 分鐘，直到 Elution Buffer 完全被膜吸收。
13. 以 13,000 rpm 離心 30 秒，丟棄上管，底層離心管內之液體即為萃取之 DNA 溶液。
14. 將 DNA 溶液保存在-20°C 冰箱，以進行下一步研究。

二、聚合酶連鎖反應(PCR)

1. DNA 引子對(primers)

利用粒線體去氧核糖核酸(Mitochondrial DNA; mtDNA)之大量增幅，取得粒線體 DNA 之 COI 基因片段，PCR 反應所使用的引子(Ward *et al.* 2005)如下：

FishF1-5'TCAACCAACCACAAAGACATTGGCAC3'

FishR1-5'TAGACTTCTGGGTGGCCAAAGAATCA3'

FishF2-5'TCGACTAATCATAAAGATATCGGCAC3'

FishR2-5'ACTTCAGGGTGACCGAAGAATCAGAA3'

其增幅片段約為 650bp。

2. PCR 反應

將 DNA 2 μ l 加入 10X PCR reaction buffer 2.5 μ l，10 mM dNTP 混合物 0.3 μ l，引子對(Primer)各 1 μ l，Taq DNA 聚合酶 0.3 μ l，滅菌水(ddH₂O)17.9 μ l，總體積為 25 μ l，在熱循環機(DNA Engine Dyed by Bio-Rad)內進行 PCR 反應，增幅溫度條件為：

- (1) 以 94 $^{\circ}$ C 加熱四分鐘使 DNA 雙股變性(denaturization)。
- (2) 94 $^{\circ}$ C/30 秒變性(denaturization)，50 $^{\circ}$ C/30 秒使引子對黏合(annealing)到 DNA 雙股上，72 $^{\circ}$ C/50 秒延長(extension)，此步驟循環 33 次。
- (3) 72 $^{\circ}$ C/9 分鐘，使 DNA 雙股做最終延長。
- (4) 溫度降至 12 $^{\circ}$ C 保存 PCR 產物。

三、電泳

取 5 μ l PCR 產物混合 1 μ l DNA 染劑(6X DNA loading buffer)，並使用 1 kb Ladder 當作分子標記(marker)，以 1%瓊脂膠(含有 Health View Nucleic Acid Stain)置 0.5%TAE buffer 中進行 30 分鐘的電泳。電泳完成後，以紫外光(UV)照射並照相，若 COI 片段增幅成功，則在分子標記 650bp 的位置，會有明顯的亮帶。

四、定序

增幅成功的 PCR 產物送往基龍米克斯生物科技股份有限公司進行純化及定序。

五、生命條碼比對

定序後所得到之 COI 片段序列，利用 BioEdit version 5.0.9 (Hall, 2001)軟體進行 DNA 序列比較排列，並進一步檢查、校正，序列確認無誤後，利用生命條碼資料庫(BOLD; Barcode of Life Database)及中研院生物多樣性研究中心魚類生態及演化研究室自行建構之成魚序列資料庫進行比對。

1. 生命條碼資料庫(Barcode of Life Data Systems v2.5

<http://www.boldsystems.org>)

利用鑑定樣本(Identify specimen)選項中的 Species Level Barcode Record 資料庫進行比對，該資料庫中包含鑑定到種層級的 COI 序列，且其序列長度大於 500 bp。根據 Ratnasingham(2007)，序列歧異度小於 1%(即相似度達 99%以上)，比對到種的層級，若歧異度大於 1%，但小於 3%(即相似度為 97-99%，但不包含 99%)，則可比對至屬的層級。

2. 中央研究院生物多樣性中心魚類生態與演化研究室之成魚序列資料庫(以下簡稱中研院生多中心魚類生態研究室)，目前條鰭魚綱序列共涵蓋 27 目 163 科 448 屬 848 種，其中鰻形目有 8 科 24 屬 51 種。

(1) 成魚序列來源：

i. 台灣動物冷凍遺傳物質典藏中心(<http://cryobank.sinica.edu.tw/>)之肌肉組織標本

ii. 魚市場採集

iii. 與日本國立科學博物館(National Museum of Nature and Science, Tokyo)交換之成魚組織樣本

(2) 確認無誤之序列，利用 Clustal X 1.81 (Thompson *et al.*, 1997)，進行序列排列(alignment)，去除序列兩端不等長的部分，接著利用 MEGA 4.0 (Molecular Evolutionary Genetic Analysis) (Kumar *et al.*, 2004)，以 Kimura's two parameter method (K2P)計算基因序列間遺傳距離，再以相

鄰連接法(Neighbor-Joining method; NJ)建立類緣關係樹形圖，利用 1000 次 bootstrapping 重複取樣方法檢視類緣關係樹形圖之可信度。根據台灣地區魚類分類層級之 K2P 平均距離決定，K2P 距離小於 0.005 即鑑定到種；大於 0.005 但小於 0.011 鑑定到屬，大於 0.011 但小於 0.223 鑑定至科，大於 0.223 但小於 0.268 則鑑定到目的階層(邵，未發表)；糯鰻科(Congridae)、海鰻科(Muraenesocidae)、鯨科(Muraenidae)、蛇鰻科(Ophichthidae)、通鰓鰻科(Synphobranchidae)科內 K2P 距離判別標準如表 3。



第三章 結果

壹、外部形態與生命條碼鑑定結果

本研究於台灣東北、西南海域及東海海域共採集到 528 尾柳葉鰻樣本，其中 142 尾為有效樣本，各站點採集資料及樣本數見表 1 及表 2。依據形態可分出 32 個類型(types)，鑑定出 22 個分類群(taxa)，其中 6 個鑑定到科，3 個到亞科，10 個到屬，3 個到種，及 4 個連科均不能確定的未知類型(表 4)。以下將分科別描述柳葉鰻樣本之外部形態及生命條碼鑑定結果，部分樣本萃取 DNA 失敗，或無法比對至任何成魚序列則不描述其生命條碼鑑定結果。

一、形態鑑定已知類型

1. 擬鯨科(Chlopsidae)

Chl01 (n=1, 圖4), TL=36.45-50.00mm, TM=120-125, PDM=43-62, PAM=48-50。體高為體全長的0.14-0.15倍，肛前長為體全長之0.33-0.40倍，色素點分布於脊椎骨、喉部及腸道；形態鑑定為草鰻屬(*Chlopsis*)屬之物種(表4)，利用生命條碼則無法比對到任何成魚序列(表5, 6)。

Chl02(n=2, 圖4), TL=31.55-48.00mm, TM=105-108, 體高為體全長的0.16-0.2倍，肛前長為體全長之0.45倍，全身散佈色素點，利用形態鑑定為眶鼻鰻屬(*Kaupichthys*)，生命條碼比對至高體眶鼻鰻(*Kaupichthys hyoprорoides*)，相似度為88.32-89.09%(表5)，與眶鼻鰻屬物種K2P距離為0.219-0.221(表6, 圖5)。

2. 糯鰻科 (Congridae)

Con01-1(n=24, 圖 6), 美體鰻屬(*Ariosoma*), TL=123.53-181.13mm, TM=127-169, PDM=11-57, PAM=52-66。體型大，體高中等至高，喙部鈍圓，胸鰭發達，身體無色素，部分個體腹部、臀鰭基部及脊椎骨尾端有色素斑，利用生命條碼可比對至美體鰻屬物種及米克氏美體鰻(*Ariosoma meeki*)，其相似度分別是

99.37-100%及 99.49-100%(表 5), K2P 距離分別是 0.000-0.007 及 0.000-0.005(表 6, 圖 7)。

Con01-2(n=4, 圖 6), 美體鰻屬, TL=89.10-99.60mm, TM=118-147, PDM=93-128, PAM=56-123。身體延長, 胸鰭發達, 腹部有兩列黑色素, 脊索下方有肌隔間色素, 利用生命條碼無法比對至任何成魚序列(表 5, 6; 圖 7)。

Con02(n=8, 圖 8), 深海康吉鰻屬(*Bathycongrus*), TL=114.30-165.50mm, TM=176-189, PDM=13-34, PAM=42-81。胸鰭發達, 喙部鈍圓, 鰓蓋下方有色素斑, 腹部有兩列黑色素點, 體側有三排圓形色素斑, 利用生命條碼可同時比對到深海尾鰻(*Bathyuroconger vicinus*)、穴頷吻鰻(*Gnathophis nystromi nystromi*)及瓦氏深海康吉鰻(*Bathycongrus wallacei*), 相似度分別是 99.37-100%, 99.81-100%及 98.72-99.63%(表 5), 與中研院生物多樣性中心成魚序列資料庫比較則比對至深海康吉鰻屬物種及巴氏深海康吉鰻(*Bathycongrus baranesi*), K2P 距離為 0.000-0.004(表 6, 圖 9)。

Con03(n=1, 圖 8), 糯鰻亞科(*Congrinae*), TL=72.30, TM=152, PDM=117, PAM=122。頭部短小, 腹部有兩列黑色素點, 體側延脊索有一排圓形色素斑。

Con4(n=18, 圖 11), 糯鰻屬(*Conger*), TL=62.50-82.75mm, TM=116-158, PDM=45-117, PAM=49-126。體型中等, 頭部及喙部較為鈍圓, 腹部兩列黑色素, 喉部有數個色素點, 部份樣本背鰭、臀鰭及尾鰭基部有色素斑。其中兩個樣本(IK411-08& WS-016)生命條碼比對至日本糯鰻(*Conger japonicus*), 相似度為 99.84-100%(表 5), 與中研院生多中心魚類生態研究室日本糯鰻成魚序列之 K2P 距離為 0.207(圖 10)。樣本 IK411-06 在生命條碼資料庫無法比對到任何成魚序列, 與中研院生物多樣性中心日本糯鰻成魚序列之 K2P 距離為 0.002(圖 10)。

Con05(n=7, 圖 12), 頷吻鰻屬(*Gnathophis*), TL=61.10-85.00mm, TM=123-149, PDM=72-94, PAM=97-107。體型中等, 喙部延長, 腹部兩列黑色

素點，喉部有數個色素點，部分個體尾部脊椎骨有深層色素斑，臀鰭基部、背鰭後面基部及尾鰭基部有色素斑。Con05-1 和 Con05-2 則是利用肌節數分別鑑定為穴領吻鰻(*Gnathophis nystromi ginango*)及緋領吻鰻(*G. nystromi nystromi*)(表 4)，而利用 COI 片段比對的結果，在 BOLD 皆比對到黑腸領吻鰻(*G. bathytopos*)，相似度分別為 95.83%和 95.71%(表 5)，而與中研院生多中心魚類生態研究室之成魚序列資料庫的緋領吻鰻(*G. nystromi nystromi*) K2P 距離則為 0.047(表 6，圖 10)。Con05 生命條碼比對至黑腸領吻鰻，相似度為 95.32-99.26%，其中一個樣本比對至突吻鰻屬(*Rhynchoconger*)，相似度為 97.17%(表 5)。

Con06(n=1，圖 13)，黑頂康吉鰻屬(*Rhechias*)，TL=24.80mm，TM=183，PDM=53，PAM=115。體型中等，頭部鈍圓，腹部兩列黑色素，體側延脊索有一排黑色素點，消化道常幾乎等於全長。利用生命條碼比對至灰糯鰻(*Conger cinereus*)，相似度為 100%(表 5)，K2P 距離為 0.202(表 6，圖 10)。

Con07(n=6，圖 13)，糯鰻科(Congridae)，TL=21.05-85.00mm，TM=114-147，PDM=39-117，PAM=33-109，消化道具兩列色素點，僅能鑑定至糯鰻科，生命條碼比對至吻鰻屬(*Rhynchoconger*)、領吻鰻屬及黑腸領吻鰻相似度分別為 95.91-97.50%、87.75%及 95.75%(表 5)。

3. 鯨科(Muraenidae)

Mur01(n=1，圖 14)，，TL=34.40mm，TM=128，PAM=68。色素分佈於頭部上方、眼睛後方及心臟，脊椎骨有成列色素點。

Mur02(n=1，圖 14)，TL=31.85mm，TM=112，PDM=58，PAM=48。依據形態鑑定至裸胸鯨屬(*Gymnothorax*)，頭部短小，尾巴鈍圓，上顎內側及下顎黑色素分佈，上顎內側色素斑為兩排黑色素點，消化道無色素，肛門後腹側有成列色素點，喉部及脊椎骨末端有色素點。利用生命條碼可比對至李氏裸胸鯨(*G. richardsonii*)，相似度為 99.69%(表 5)。

Mur03(n=1, 圖 15), TL=41.60mm, TM=128, PDM=11, PAM=106。色素分佈於頭部上方、眼睛後方、上顎尖端、嗅葉及心臟周圍, 脊索及腸道色素斑形態為密集的黑色素點。

Mur04(n=1, 圖 15), TL=38.90mm, TM=125, PDM=51, PAM=44。尾巴鈍圓, 脊索、消化道及背側有成列色素點, 心臟周圍有色素點, 臀鰭起點靠近尾鰭, 背鰭起點在臀鰭前方。

Mur05(n=1, 圖 15), TL=55.35mm, TM=128, PDM=106, PAM=116。利用形態鑑定至尾鰭屬(*Uropterygius*)消化道無成列色素, 脊索有成列色素點, 頭部上方、眼睛後方、脊椎前端、鰓蓋邊緣、尾鰭基部及肛門後腹側有色素點, 背鰭起點與臀鰭起點位置相近, 皆靠近尾鰭。
鯨科物種均無法比對至任何中研院生多中心魚類生態研究室之成魚序列(圖 16)。

4. 線鰻科(Nemichthyidae)

Nem01(N=7, 圖 17), TL=97.25-143.95mm, TM=219-248, PDM=103-156, PAM=150-205。嘴巴延長, 身體修長, 喙部尖, 胸鰭小, 消化道有 5-7 個大型色素斑, 體側無色素斑, 部分個體尾巴有些微色素點, 尾巴呈絲狀尾; 利用生命條碼比對至海鰻科的台灣絲尾鰻(*Gavialiceps taiwanensis*)其相似度為 100%(表 5), K2P 距離為 0.000(表 6, 圖 18)。

5. 鴨嘴鰻科(Nettastomatidae)

Net01(N=4, 圖 19), 蜥鰻屬(*Saurenhelys*), TL=31.40-41.90mm, TM=208-221, PDM=18-87, PAM=58-62。體型中等, 上顎、喉部及腦部有黑色素, 消化道最前端及後端各有一個隆起, 其上有黑色素, 脊椎骨有 11-21 個放射狀色素斑。利用形態鑑定至蜥鰻屬(*Saurenhelys*), 生命條碼鑑定至線尾蜥鰻(*S. fierasfer*), K2P 距離為 0.000-0.002(表 6, 圖 20)。

6. 蛇鰻科(Ophichthidae)

蛇鰻科樣本僅能利用形態鑑定至科或亞科的分類階層。

油鰻亞科(Myrophinae)

Myr01(n=21, 圖 21), TL=20.10-41.90mm, TM=142-166, PDM=9-75, PAM=57-61。體型延長, 尾巴及喙部較尖, 肛門前長約為體全長的 1/2, 兩個分離的肝葉, 消化道有六個平緩的隆起, 腸道每個隆起之間有放射狀色素斑, 喙部尖端有黑色素, 上顎有兩列黑色素, 脊索起點上方、前方、心臟及臀鰭邊緣有黑色素, 肛門後脊索下方有橫狀黑色素。生命條碼無法比對至任何成魚序列(表 5, 圖 24)。

Myr02(n=3, 圖 21), TL=27.10-62.80mm, TM=162-168, PDM=31-36, PAM=55-58。體型延長, 肛門前長小於體全長的 1/2, 三個分離的肝葉, 消化道上八個平緩的隆起, 上下顎、喉部、心臟、腸道下方及臀鰭邊緣皆有色素, 體側數個肌節出現一次肌隔間色素。

Myr03(n=1, 圖 21), TL=31.60mm, TM=151, PDM=67, PAM=100。體型延長, 尾巴較尖, 肛門前長約為體全長的 3/4, 消化道上有七個平緩的隆起, 心臟下方及肌隔間有色素。

Myr04(n=3, 圖 21), TL=23.00-34.15mm, TM=158-171, PDM=43, PAM=51-58。體型延長, 喙部及尾巴較尖, 三個分離的肝葉, 消化道有七個平緩的隆起, 色素分佈於上下顎、喉部、心臟、及腸道下方, 數個肌節出現一次肌隔間色素。

Opd01(n=1, 圖 22), 鑑定至蛇鰻科, TL=26.20, TM=137, PAM=54。色素斑分佈於上下顎, 肛門後方體側有橫向色素斑, 隆起不明顯。

蛇鰻亞科(Ophichthinae)

Opn01(n=2, 圖 22), TL=20.30-31.70mm, TM=152, PDM=53-54, PAM=66-68。

消化道有八個平緩的隆起，兩個相連的肝葉，肝葉及頭部無色素斑，心臟及臀鰭有些許色素點，肛門前體側有些許色素點，肛門後體側色素點明顯。

Opn02(n=1, 圖 22), TL=59.50mm, TM=145, PDM=117, PAM=67。消化道有八個平緩的隆起，兩個相連的肝葉，肝葉及頭部無色素斑，心臟及臀鰭有些許色素點，體側肛門後方有色素點。

Opn03(n=1, 圖 22), TL=44.45mm, TM=164, PDM=53, PAM=72。消化道有九個平緩的隆起，兩個相連的肝葉，色素斑分佈於下顎尖端、臀鰭邊緣，肝葉及消化道下方，每一肌節皆有肌隔間色素，肛門後面體側，脊索下方有橫向色素斑。利用生命條碼可比對至蠕鰻(*Echelus uropterus*)，K2P 距離為 0.004(表 6, 圖 24)。

Opn04(n=1, 圖 23), TL=25.00mm, TM=129, PAM=70。消化道有九個平緩的隆起，兩個相連的肝葉，色素斑分佈於上下顎、消化道下方、喉部及心臟，數個肌節出現一次肌隔間色素，肛門前體側有星狀色素叢，肛門後體側有橫向色素斑，腸道、臀鰭及背側有數個色素叢，肛門前體側有色素連接至消化道上的隆起。

Opn05(n=5, 圖 23), TL=14.55-29.75mm, TM=131-178, PDM=39-65, PAM=66-74。消化道有九個平緩的隆起，兩個相連的肝葉，色素分佈於心臟及肝葉下方，部分個體眼睛上方及喉部有色素點，肛門後體側脊索下方有橫向色素斑及肌隔間色素。

Opn06(n=2, 圖 23), TL=28.90-36.00, TM=126-147, PDM=46-79, PAM=60-86。消化道有九個平緩的隆起，兩個相連的肝葉，色素分佈於下顎尖端、脊索前端、肝葉下方、臀鰭邊緣、喉部及心臟，每一肌節皆有明顯的肌隔間色素，體側肛門後方有橫向色素斑，腸道隆起之間有色素斑。

7. 鋸齒鰻科(Serrivomeridae)

Ser01(N=6, 圖 25), TL=31.40-51.20mm, TM=132-153, PDM=85-87, PAM=59-74。體型小，頭小，頭長為體全長的 0.12-0.13 倍，肛前長約為體全長的

3/4，身體僅有少數色素點分佈脊索或尾部。利用生命條碼比對至長齒鋸犁鰻 (*Serrivomer sector*)，相似度為 97.62-98.73%(表 5)，與前鰭鋸犁鰻(*Stemonidium hypomelas*)K2P 距離為 0.091-0.186(表 6，圖 26)。

8. 合鰓鰻科(Synphobranchidae)

Syn01(n=1，圖 27)，TL=46.90mm，TM=127，PDM=53，PAM=59。具潛望眼，喙延長，無絲狀喙，體高中等，為體全長的 0.12 倍，肛前長為體全長之 1/2，消化道前方有隆起，下方有些許色素點，體側無色素斑；喙部、喉部、口裂處及腦部下方有色素斑分布，消化道下方有 5 個色素斑，肛門後方腹部有一色素斑。利用形態鑑定至前肛鰻 (*Dysomma anguillare*)，生命條碼比對至前肛鰻，相似度為 99.04%(表 5)，K2P 距離為 0.009(表 6，圖 28)。

Syn02(n=1，圖 27)，TL=67.90mm，TM>143，PDM=41，PAM=61。具潛望眼，喙延長，無絲狀喙，體高較前肛鰻高，約為體全長的 0.15 倍，肛前長約為體全長的 1/2，脊索上有 10 個深層色素斑，眼睛後方及喉部有些許色素點，消化道前後各有一個隆起，隆起下方有些許色素點，消化道下方有 5 個色素斑，肛門後腹部有一列黑色素點。利用形態僅能鑑定至合鰓鰻科，與前肛鰻之遺傳距離為 0.105 (表 6，圖 28)。

二、形態鑑定之未知類型

Un01(圖 29)，TL=90.70mm，TM=162，PDM=131，PAM=143。身體極側扁，體高中等，喙部延長且尖，肛前長約等於體全長，利用形態無法鑑定至任一分類階層。

Un02(圖 29)，TL=48.10mm，TM=121，PDM=65。體型中等，體無色素分布，消化道無隆起。利用生命條碼比對至日本鰻(*Anguilla japonica*)，相似度為 99.09%(表 5)，K2P 距離為 0.004(表 6，圖 30)

Un03(圖 31), TL=53.10mm, TM=109, PDM=95, PAM=84。體型中等, 體高略高, 約為體全長 0.15 倍, 消化道長度小於體長的 1/2, 消化道有兩排黑色素點, 利用形態無法鑑定至任一分類階層。

Un04(圖 31), TL=25.00mm, TM=139, PDM=13, PAM=81。體型中等, 消化道無隆起, 腹部有兩列黑色素, 體側有肌隔間色素。利用形態無法鑑定至任一分類階層, 利用生命條碼比對至繁星糯鰻(*Conger myriaster*), 相似度為 99.50%(表 5)。

貳、利用分子鑑定結果回推至形態特徵所建立之檢索表

本研究利用形態, 可將 142 尾樣本鑑定出 22 個分類群(taxa), 其中 6 個鑑定到科, 3 個到亞科, 10 個到屬, 3 個到種, 藉由結合生命條碼可鑑定出 24 個 taxa, 其中 5 個鑑定到科, 3 個到亞科, 7 個到屬, 9 個鑑定到種, 本研究將利用鑑定出之名稱, 回推至形態, 進行描述, 並據此建立檢索表; 鋸齒鰻科利用生命條碼雖然可以鑑定出 5 個不同的種, 然而無法在形態上找到區別的特徵, 故無法建立檢索表。

鰻鱺目(Anguilliformes)檢索表

- | | |
|-----------------------------------|------------------|
| 1a. 眼睛正常, 無潛望眼..... | 2 |
| 1b. 眼睛為潛望眼..... | Synphobranchidae |
| 2a. 身體有色素分佈..... | 3 |
| 2b. 體無色素..... | Anguillidae |
| 3a. 消化道為直走型..... | 4 |
| 3b. 消化道有隆起..... | 5 |
| 4a. 消化道或腹側有色素分佈..... | 6 |
| 4b. 色素分佈於體側..... | 7 |
| 5a. 有兩個或三個分離的肝葉; 消化道有三個以上的隆起..... | Ophichthidae |

- 5b. 消化道最前端及最後端各有一個隆起.....Nettasomatidae
- 6a. 消化道或腹側色素形態為成列色素點.....8
- 6b. 消化道有數個大型色素斑，且肌節數接進或超過 200.....Muraensocidae
- 7a. 體側有少量色素點；消化道長度接近於體全長.....Serrivomeridae
- 7b. 色素點散佈於體側；消化道長度小於 1/2 全長.....Chlopsidae
- 8a. 尾巴為圓形；消化道或脊椎骨有成列色素點.....Muraenidae
- 8b. 尾巴為尖形；消化道有兩列色素點.....Congridae

鰻鱺科 Anguillidae

1. 總肌節數為 121.....*Anguilla japonica*

擬鱒科 Chlopsidae

- 1a. 全身散布色素，總肌節數為 105-108.....*Kaupichthys* sp.
- 1b. 色素點分佈於脊椎骨、喉部、腸道，總肌節數為 125.....*Chlopsis* sp.

鱒科 Muraenidae

- 1a. 上顎內側有兩排黑色色素點.....*Gymnothorax richardsonii*
- 1b. 沒有上述特徵.....2
- 2a. 消化道有成列色素點.....3
- 2b. 消化道無成列色素點.....4
- 3a. 頭頂有色素分佈，脊索及消化道色素形態為密集的色素點.....Mur03
- 3b. 頭短，尾巴鈍圓，背側有成列色素點.....Mur04
- 4a. 肛門後方腹側有成列色素點，背鰭及臀鰭起點靠近尾鰭..... Mur05
- 4b. 肛門後方腹側無色素分佈.....Mur01

合鰓鰻科 Synaphobranchidae

- 1a. 脊索無深層色素斑.....*Dysomma* sp.
- 1b. 脊索有深層色素斑.....Syn02

蛇鰻科 Ophichthidae

- 1a. 兩個或三個分離的肝葉.....Myrophinae
- 1b. 兩個相連的肝葉.....Ophichthinae

油鰻亞科 Myrophinae

- 1a. 兩個分離的肝葉，腸道有六個平緩的隆起.....Myro01
- 1b. 三個分離的肝葉.....2
- 2a. 腸道有八個平緩的隆起，體側有肌隔間色素.....Myro02
- 2b. 腸道有七個隆起.....3
- 3a. 每一肌節皆有肌隔間色素.....Myro03
- 3b. 數個肌隔間出現一個肌隔間色素，腸道下方有色素斑.....Myro04

蛇鰻亞科 Ophichthinae

- 1a. 腸道有八個平緩的隆起.....Opn01
- 1b. 腸道有九個平緩的隆起，肛門後體側有橫向色素斑.....2
- 2a. 肛門前體側無星狀色素斑，有肌隔間色素.....3
- 2b. 肛門前體側有星狀色素叢.....*Echelus uropterus*
- 3a. 肌隔間色素存在於每一肌節.....4
- 3b. 肌隔間色素僅存在於肛門前體側，且肛門前體側有色素斑連接到腸道隆起.....Opn04
- 4a. 消化道下方有色素點.....Opn06

- 4b. 消化道隆起間上方有色素斑.....Opn05

海鰻科 Muraenocidae

1. 總肌節數大於 200，消化道有 5-7 大型色素斑.....*Gavialiceps taiwanensis*

糯鰻科 Congridae

- 1a. 體側有肌隔間色素，且分布於脊索下方肌隔.....*Ariosoma* spp.
1b. 體側無色素斑，或非上述之型態.....2
2a. 體側有色素斑分佈.....3
2b. 體側無色素斑分佈.....4
3a. 體側有三排色素斑.....*Bathycongrus wallacei*
3b. 體側色素斑型態非上述之型態.....5
4a. 喙部鈍圓，肌節數為 133 左右.....*Conger japonicus*
4b. 喙部延長且尖銳.....*Gnathophis* spp.
5a. 體側色素斑分佈於脊索上方，且為圓形色素斑.....6
5b. 體側色素斑為分佈於脊索之肌隔間色素.....Un04
6a. 總肌節數為 150 左右.....*Congrinae* gen. sp.
6b. 總肌節數為 180 左右.....Con06

鴨嘴鰻科 Nettastomatidae

1. 脊椎骨有放射狀色素斑，頭部腦下方及喉部有色素斑，總肌節數約為 212-221
.....*Saurenhelys fierasfer*

參、利用分子方法鑑種推測柳葉鰻之時空分佈

由 2007 年 7 月至 2009 年 11 月於四個樣點資料顯示(表 7)，擬鯨科在 6

月及 11 月出現於西南海域，日本鰻則於 11 月出現於西南海域；糯鰻科美體鰻屬於 5 月、7 月及 11 月在西南海域及東北海域皆可被採集到；瓦氏深海康吉鰻僅出現於東北海域，而領吻鰻屬物種僅出現於西南海域，糯鰻屬物種在西南海域及東北海域皆有採獲。台灣絲尾海鰻和鱒科物種僅出現於西南海域，7 月及 11 月皆有採獲。鋸齒鰻科物種僅在 11 月於西南海域被採獲，合鰓鰻科物種在西南海域及東北海域皆有採集到。由 2009 年 6 月 29 至 7 月 13 日於東海各測站採集資料顯示(表 8)，東海海域柳葉鰻物種組成以蛇鰻科為主，其次為鴨嘴鰻科及糯鰻科。

比較中層拖網及浮游生物網採集時間及深度，發現西南海域晚間 7 點至 10 點，於水深 400-500 公尺處採集到的樣本較多(表 1)。東海海域則是在晚間及凌晨時分，於水深 50-130 公尺處柳葉鰻豐度較高(表 2)。

肆、首次形態描述之柳葉鰻

本研究從 142 尾柳葉鰻樣本分出 32 個類型(types)，鑑定出 22 個分類群(taxa)，其中 1 科 2 屬 4 種為台灣海域首次描述，分別為鋸齒鰻科(Serrivomeridae)，草鰻屬(*Chlopsis*)、眶鼻鰻屬(*Kaupichthys*)，瓦氏深海康吉鰻(*Bathycongrus wallacei*)、蠕鰻(*Echelus uropterus*)、李氏裸胸鱒(*Gymnothorax richardsonii*)及線尾蜥鰻(*Saurenhelys fierasfer*)。

第四章 討論

壹、生命條碼與形態鑑定結果之差異及前人形態研究之比較

本研究利用形態將 142 尾柳葉鰻樣本分出 32 個類型(types)，鑑定出 22 個分類群，其中 6 個鑑定到科，3 個鑑定到亞科，10 個鑑定到屬，3 個到種，及 4 個未知類型。從 142 尾樣本中增幅出的 86 條序列，可鑑定出 24 個分類群，其中 5 個鑑定到科，3 個到亞科，7 個到屬，9 個到種，及 2 個未知類型。使用生命條碼鑑定與利用形態鑑定相比，可鑑定出較多分類群，且可鑑定至較低的分類階層。本段落將討論糯鰻科、鯨科、線鰻科、鴨嘴鰻科、蛇鰻科及合鰻鰻科形態與分子鑑定之差異，其餘在本研究中形態鑑定較為困難之擬鯨科、鋸齒鰻科及部分蛇鰻科將於第貳段中討論。

一、糯鰻科

外部形態下，根據體型將 Con01 鑑定為美體鰻屬(*Ariosoma*)物種(圖 6)，Con01-1 利用生命條碼於 BOLD 能比對到米克氏美體鰻(*Ariosoma meeki*)及另一美體鰻物種(*Ariosoma* sp.)，其相似度分別為 99.37-100%及 99.49-100%(表 5)，而與中研院生多中心魚類生態研究室之成魚序列資料庫比對，亦能比對到米克氏美體鰻及美體鰻屬物種，其 K2P 平均距離皆為 0.002(表 6，圖 7)，顯示 Con01-1 類型存在兩個物種。

Con02(圖 8)利用形態鑑定至深海康吉鰻屬(*Bathycongrus*)，該屬柳葉鰻特徵為體側有三排圓形色素斑(Smith,1999)。台灣海域深海康吉鰻屬有三個物種——黑邊深海康吉鰻(*Bathycongrus retrotinctus*)，脊椎骨數為 116-148；小斑深海康吉鰻(*B. guttulatus*)，脊椎骨數為 158-163；深海康吉鰻(*B. wallacei*) 脊椎骨數為 168-181，本研究所採集到的深海康吉鰻屬柳葉鰻，其總肌節數為 176-189，與瓦氏深海康吉鰻成魚脊椎骨數較為接近；而在生命條碼資料庫中，同一深海康吉鰻屬柳葉鰻 COI 序列可比對到三種不同屬的成魚序列，分別是深海尾鰻(*Bathyuroconger vicinus*)、

穴頷吻鰻(*Gnathophis nystromi nystromi*)及瓦氏深海康吉鰻，相似度皆為 99%以上(表 5)，其中深海尾鰻、穴頷吻鰻成魚序列來自中研院生多中心魚類生態研究室，重新檢視樣本後，深海尾鰻、穴頷吻鰻均被訂正為深海康吉鰻屬物種；而利用 K2P 距離建構最大類緣關係樹方法，深海康吉鰻屬成魚及柳葉鰻皆比對到來自日本國立科學博物館的巴氏深海康吉鰻(*Bathycongrus baranesi*)，其 K2P 距離為 0.000-0.004(表 6，圖 9)，顯示深海康吉鰻屬成魚及柳葉鰻即為巴氏深海康吉鰻。根據邵(2009)，巴氏深海康吉鰻為瓦氏深海康吉鰻之同種異名，其有效種名為瓦氏深海康吉鰻，因此確認中研院生物多樣性中心成魚序列中的深海康吉鰻屬成魚與本研究所採集之深海康吉鰻屬柳葉鰻為瓦氏深海康吉鰻。

Con03(圖 8)形態與沖山(1998)所描述之 *Congrinae* sp.3 相似，皆有短小的頭部，脊索上有黑色空心圓形色素斑，然而 *Congrinae* sp.3 之總肌節數為 216-224，遠超過 Con03 的 152，與蔡(2006)所描述之 *Congridae* sp.比較，亦有相似的形態，但肌節數特徵仍不一致，而利用生命條碼也無法比對至任何成魚序列。

Con04(圖 11)利用形態鑑定為糯鰻屬(*Conger*)，其中 IK411-08 及 WS-016 兩個樣本於生命條碼資料庫比對至日本糯鰻(*Conger japonicus*)，相似度為 99.84-100%(表 5)，然而與中研院生物多樣性中心日本糯鰻成魚序列之 K2P 距離為 0.207(圖 10)；回推至形態後發現，其總肌節數為 >126-158 與沖山(1998)所描述的 138-145 並不一致；而樣本 IK411-06 在生命條碼資料庫無法比對至任何成魚序列，與中研院生多中心魚類生態研究室日本糯鰻成魚序列之 K2P 距離為 0.002(圖 10)，其總肌節數為 133，較接近沖山(1998)所描述的日本糯鰻柳葉幼生，因此推測生命條碼資料庫中的日本糯鰻成魚可能有誤鑑的情形。

Con05(圖 12)利用形態鑑定至頷吻鰻屬(*Gnathophis*)。Con05-1 和 Con05-2 利用肌節數分別鑑定為穴頷吻鰻(*Gnathophis nystromi ginango*)及鯀頷吻鰻(*G. nystromi nystromi*)，而利用 COI 片段比對的結果，在 BOLD 皆比對到黑腸頷吻鰻(*G. bathytopos*)，相似度分別為 95.83%和 95.71%(表 5)，而與中研院生多中心魚類生態

研究室之成魚序列資料庫的鯪領吻鰻(*G. nystromi nystromi*) K2P 距離則為 0.047，顯示 Con05-1 及 Con05-2 並非形態所鑑定出的物種，且僅能確認為糯鰻科物種。Con05 生命條碼比對至黑腸領吻鰻，相似度為 95.32-99.26%，而黑腸領吻鰻分佈於西大西洋，美國佛羅里達海峽及墨西哥灣東南方，顯示 Con05 應為領吻屬物種而非黑腸領吻鰻。其中一個樣本比對至突吻鰻屬(*Rhynchoconger*)，相似度為 97.17%(表 5)。

Con06(圖 13)利用形態鑑定至黑頂康吉鰻屬(*Rhechias*)，利用生命條碼比對至灰糯鰻(*Conger cinereus*)，相似度為 100%(表 5)，而與中研院生物多樣性研究中心成魚序列比對，Con06 與灰糯鰻之 K2P 距離為 0.202(表 6，圖 10)，大於種內的平均遺傳距離，小於科內平均遺傳距離(表 3)，因此僅能鑑定為糯鰻科。Con06 之總肌節數為 183，灰糯鰻成魚之脊椎骨數為 139-146 (Smith, 1999)，推測生命條碼資料庫中的灰糯鰻可能為誤鑑。

二、鯪科

鯪科的 Mur02(圖 14)利用形態鑑定至裸胸鯪屬，生命條碼鑑定至李氏裸胸鯪，其柳葉鰻幼生並未被描述過，Mur02 總肌節數為 112，與陳(1997)所描述李氏裸胸鯪之成魚脊椎骨數的 112-117 相符合，推測 Mur02 為李氏裸胸鯪之柳葉鰻幼生。Mur05(圖 15)鑑定為尾鯪亞科(*Uropterygiine*)，其特徵背鰭與臀鰭起點靠近尾鰭，Mur05 體型特徵與高眉鯪屬(*Anarchias*)及尾鯪屬(*Uropterygius*)相似，高眉鯪屬之柳葉鰻身體色素較少或幾乎沒有色素，而 Mur05 脊索及肛門後腹側、頭部皆有色素斑分佈，因此利用形態將 Mur05 鑑定為尾鯪屬(*Uropterygius*)物種，其形態特徵與沖山(1998)所描述之尾鯪屬 sp.2 相近，然而 Mur05 總肌節數為 128 特徵與尾鯪屬 sp.2 之總肌節數 141 並不一致；利用生命條碼鑑定無法鑑定至科以下的分類階層。

三、線鰻科

Nem01(圖 17)利用形態鑑定為線鰻科物種，而生命條碼則比對至海鰻科的台灣

絲尾海鰻，相似度為 100%(表 5)，K2P 距離為 0.000-0.004(表 6，圖 18)，比對前人研究發現，海鰻科絲尾海鰻(*Gavialiceps taeniola*)外形特徵與線鰻科柳葉鰻相似，其差別在於線鰻科柳葉幼生消化道有一系列細小的黑色素點，部份色素分佈於肌肉組織(Castle, 1977)，而本研究中的 Nem01 樣本消化道並無一系列細小的黑色素點，因此確認本研究中的 Nem01 類型鑑定為線鰻科為誤鑑，應為絲尾海鰻屬之柳葉幼生，經由分子鑑定確認為台灣絲尾海鰻。

四、鴨嘴鰻科

Net01(圖 19)利用形態鑑定至利用形態鑑定至蜥鰻屬(*Saurenehelys*)，生命條碼鑑定至線尾蜥鰻(*Saurenehelys fierasfer*)，K2P 距離為 0.000-0.002(表 6，圖 20)。其形態特徵與沖山(1998)描述之紅斑弱頭鰻(*S. lateromaculatu*)類似，總肌節數範圍也一致，但背鰭前肌節數及肛門前肌節數不一致，色素斑分佈亦不一樣，Net01 上顎、喉部及腦部有黑色素，而紅斑弱頭鰻頭部則僅有上顎前端有色素。蔡(2006)所描述之紅斑弱頭鰻頭部色素斑形態與 Net01 一致，除總肌節數略為相近外，其餘肌節數特徵並不一致，蔡(2006)所描述之紅斑弱頭鰻可能為蜥鰻屬其他物種。

五、蛇鰻科

蛇鰻科物種皆只能利用形態鑑定至科或亞科的層級，Opn03(圖 22)利用分子鑑定比對至蠕鰻(*Echelus uropterus*)，K2P 距離為 0.004(表 6，圖 24)，其脊椎骨數為 152-162，Opn03 總肌節數為 164，Opn03 應為蠕鰻之柳葉幼生。

六、合鰻科

Syn01(圖 27)利用形態鑑定為前肛鰻(*Dysomma anguillare*)，其總肌節數為 127；前人所描述之前肛鰻總肌節數為 118-128 (Smith, 1989b)和 126-129 (沖山，1998)，色素分佈於心臟、腦部後方及口裂，腸道有色素斑，肛門後腹部有 2 個色

素斑，Syn01 樣本有相同的色素斑分佈，而在肛門後腹部僅有 1 個色素斑。蔡(2006)所描述之前肛鰻屬物種，形態與本研究所描述之前肛鰻屬物種相近，其總肌節數較少(TM=118)，尾部腹面有 3 個大型黑色素斑，而本研究中的 Syn01 只有 1 個。Syn01 利用生命條碼比對，結果同時比對到箭齒前肛鰻(*Meadia abyssalis*)和前肛鰻，相似度皆超過 99%(表 5)，然而箭齒前肛鰻的成魚脊椎骨數(Total vertebrae; TV)為 165-174(Smith,1989a)，與 Syn01 的 127 相差約 40 個脊椎骨數，生命條碼資料庫中的箭齒前肛鰻成魚序列可能有誤鑑的情形；與中研院生多中心魚類生態研究室成魚序列資料庫比對結果，亦比對至前肛鰻，K2P 距離為 0.009(表 6)，其 K2P 距離大於種內的 0.005，因此本研究 Syn01 類型可能為與前肛鰻同屬的物種。根據肌節數及生命條碼結果，本研究及蔡(2006)所描述之前肛鰻屬物種，並非前肛鰻，形態特徵卻很相近，除總肌節數有所差異外，其肛門後腹部之色素斑數量分別為 1 個、3 個，前肛鰻則有 2 個，因此推測肛門後腹部之色素斑數量或許可當作此屬物種鑑定的依據之一，由於目前該種類形的樣本僅有一尾，若要進行進一步的研究，則需要採集更多不同形態類型的樣本。Syn02 與合鰓鰻科成魚 K2P 距離為 0.105-0.165(表 6)，小於科內 K2P 距離(表 3)，顯示 Syn02 為合鰓鰻科物種。

貳、利用生命條碼可以解決形態鑑種上所遭遇的困難

一、傳統形態特徵之可靠性

過去柳葉鰻的分類使用身體及頭部形態、消化道形式、色素斑及肌節數作為形態鑑定特徵，本研究發現利用身體及頭部形態、消化道形式可準確鑑定至科或屬，然而使用色素斑鑑定須特別小心，部分柳葉鰻色素斑形態會隨著發育階段而有所差異，如蛇鰻科及美體鰻屬，Ma et al.(2007)利用分子鑑定東海海域繁星糯鰻(*Conger myriaster*)柳葉幼生，發現繁星糯鰻在較小個體中缺乏體側色素，較大的個體中，體側色素明顯，而 Smith(1989b)亦提出美體鰻(*Ariosoma balearicum*)及線鰻(*Nemichthys scolopaceus*)有隨著個體發育成長，色素斑隨之消失的情況，因此在利

用色素斑當作形態鑑定特徵時，需注意個體發育階段，才能正確判斷。在肌節數的使用上，由於柳葉鰻在變態時背鰭與消化道會向頭部靠近(Smith, 1989b; Tawa and Mochioka, 2009)，故背鰭前肌節數及肛門前肌節數會有所改變，因此在變態期該兩項特徵則無法使用；總肌節數和最後一根垂直血管肌節數(Last vertical blood vessel; LVBV)是較為可靠的鑑定特徵，Tawa and Mochioka(2009)指出小裸胸鱔(*Gymnothorax minor*)變態期時的總肌數與最後一根垂直血管肌節數維持與柳葉鰻時期一樣，由於本研究因樣本保存關係，無法判斷最後一根垂直血管位置，因此無法驗證 LVBV 的可靠性。總肌數為終期一生不變的特徵，因此適合用來當作鑑定特徵，Smith(1989b)曾提出每個物種個體之間的總肌節數差異大約為 10，本研究發現，同一物種其肌節數差異可超過 10，Ma *et al.*(2007)利用分子鑑定繁星糯鰻柳葉幼生亦有相同情況，且肌節數計數容易受到人為計算的影響，因此在利用肌節數鑑定種類時，應採用一個範圍的數字當作參考。

二、柳葉鰻之形態鑑定兼具粗分與細分學派

魚卵鑑種因形態特徵少，故過去魚卵的分類工作多屬於粗分學派(lumper)，即多種誤鑑為一種；反之，仔魚因發育之形態變化快，故易造成一種被誤鑑成多種，變成細分學派(splitter)。本研究發現柳葉鰻利用形態鑑定時，同時存在粗分及細分學派之情形，以下就兩種情況分別探討。

1. 粗分學派

Con01(圖 6)利用形態鑑定成美體鰻屬(*Ariosoma*)，Con01-1 類型屬於較大型的柳葉鰻，體長超過 100mm 以上，美體鰻屬特徵為有肌隔間色素(myosepta pigment)，Con01-1 類型的樣本喙部鈍圓，身體開始變厚，心臟部位可清楚看到血液，顯示這些樣本正處於變態期，此時特徵與柳葉鰻時期大不相同，體側肌隔間色素開始退去，因此在此階段利用形態僅能鑑定至屬的層級，進一

步利用生命條碼可鑑定出兩個種，美體鰻屬物種及米克氏美體鰻(*A.meeki*)，其相似度皆為 99%以上(表 5)，K2P 距離分別是 0.000-0.007 及 0.000-0.005 (表 6，圖 7)，顯示 Con01-1 類型中有至少有兩個種，然而回推至形態後發現，這兩個種在此階段無法使用形態特徵將其分開，故在鑑定時容易將其當做同一個種，也就是前述的粗分學派(lumper)；Ser01 類型亦有相同的情形，Ser01(圖 25)利用形態僅能鑑定至鋸齒鰻科，分子鑑定顯示鋸齒鰻科柳葉鰻與成魚序列之 K2P 距離為 0.091-0.1829(表 6)，鋸齒鰻科樣本中至少包含 5 個種，然而回推至形態後發現無任何形態特徵可將其分開。Chl02(圖 4)體側散佈黑色素點，與眶鼻鰻屬(*Kaupichthys*)特徵相同，因此鑑定為該屬，然而與成魚序列中的高體眶鼻鰻屬物種 K2P 距離為 0.219-0.221(表 6)，只能確認為同科物種，而 Chl02 兩個樣本形態相似，其總肌節數分別為 105 及 108，形態鑑定為同一物種，然而其 K2P 距離為 0.011(圖 5)，顯示兩個樣本應為同屬不同種。

2. 細分學派

蛇鰻科類緣關係樹中 Opn01 與 Opn02(圖 22)間的 K2P 距離為 0.000(圖 24)，回推至形態後發現，Opn01 樣本體長為 20.30 及 31.70mm，而 Opn02 樣本體長為 59.50mm，兩者形態上的差異為 Opn01 肌隔間色素明顯，Opn02 肌隔間色素較淡，COI 序列鑑定兩者為同一種，其色素斑差異是因個體發育差異而造成，使得利用形態鑑定時，將兩者分為兩個不同的物種，美體鰻(*Ariosoma balearicum*)、線鰻(*Nemichthys scolopaceus*) (Smith, 1989b)及繁星糯鰻(*Conger myriaster*)(Ma et al., 2007)亦有因個體發育成長，色素斑形態產生差異的情況。在仔稚魚的鑑定上，無論是粗分學派或是細分學派皆可能導致物種的鑑定錯誤，而造成生物多樣性的高估或低估。由於魚類外部形態特徵在生活史不同階段中可能會產生改變，而造成鑑定上的困難，透過生命條碼方法，可提供一個鑑種參考依據，降低被誤鑑的可能性。

參、生命條碼資料庫探討

張(2008)利用生命條碼進行魚卵鑑定研究，使用外部形態可鑑定出 24 個分類群，加上生命條碼鑑定結果，則可鑑定出 58 個分類群，大幅提升鑑定效果，而本研究利用生命條碼進行鑑定後，分類群由 22 個提升至 24 個，且鑑定至種的數目較多，顯示利用生命條碼方法之分子鑑定能區分柳葉鰻類型，並將其鑑定到最低的分類階層；台灣海域鰻形目共有 12 科 62 屬 157 種(邵, 2009)，台灣動物冷凍遺傳物質典藏中心現有序列有 8 科 24 屬 51 種，加上生命條碼資料庫可比對到資料共有 10 科 43 屬 83 種，僅佔了台灣海域鰻形目物種的約 1/2，因此在本研究中尚有許多柳葉鰻樣本無法使用生命條碼比對到任何成魚序列，使得生命條碼方法鑑定出的分類群數目無法大幅提升；除了成魚序列覆蓋率較低而影響到比對結果外，成魚的鑑定正確率亦影響到使用生命條碼方法鑑種的鑑別度，本研究 Con07 類型中的兩個樣本利用生命條碼在 BOLD 比對至日本糯鰻(*Conger japonicus*)，其相似度為 99%以上(表 4)，然而與自行建構之成魚序列資料庫比對，Con07 樣本與日本糯鰻之 K2P 距離為 0.207，遠大於種內的遺傳距離，而未知類型 Un04，經由生命條碼比對至繁星糯鰻(*Conger myriaster*)，其相似度為 99.50%，而與自行建構之成魚序列資料庫內的繁星糯鰻 K2P 距離為 0.210，亦不屬於種內遺傳距離範圍，由於日本糯鰻和繁星糯鰻成魚序列僅有一條，因此無法斷定哪一個序列才是正確的，因此，要有效地鑑定仔稚魚樣本，成魚序列資料庫需收集完整，且必須正確鑑定序列來源之成魚標本，才能提高樣本鑑定的正確率及有效性。

肆、柳葉鰻的時空分佈

本研究中的鯧科物種主要於 11 月份出現在西南海域，以成長速率 1.0mm/天 (Bishop *et al.*, 2000)計算，本研究所採集到的鯧科物種，其日齡大約為 31-55 天，推測其產卵時間約在 9-10 月，與前人研究發現墾丁海域鯧科魚卵主要是出現在 9 月份的結果一致(張，2008)。

Minagawa *et al.* (2007)於東海海域進行柳葉鰻物種組成的研究，5-6 月物種豐度最高的是蛇鰻科、鯨科及糯鰻科，其蛇鰻科樣本 5-6 月時的體長分佈為 8-90mm，而本研究於東海海域所採集，用來做形態鑑定之 54 尾樣本物種組成中，以蛇鰻科為最多，其體長分佈為 14.55-62.80mm，略小於前人調查研究，Miller and Tsukamoto(2004)指出體型較大的柳葉鰻游泳能力較好，使牠們能夠避開網具，本研究於東海使用網具為直徑 1.3 公尺的浮游生物網，網口面積為 0.43 平方公尺，而 Minagawa *et al.*(2007)所使用之中層拖網，網口面積為 8.7 平方公尺，推測網口大小是造成此次所採集之樣本體長較小的原因之一。

伍、採樣方法之誤差

本研究因使用三種不同的網具進行採樣——中層拖網、浮游生物網、櫻花蝦拖網，故會因為網目大小造成採樣誤差。中層拖網網目大小為 1mm，其樣本體長區間為 21.05 至 143.95mm，柳葉鰻物種組成主要是以糯鰻科、海鰻科、鯨科、鋸齒鰻科為主；浮游生物網網目為 1000 μ m (0.1mm)，樣本的體長區間為 20.30 至 62.80mm，組成以蛇鰻科及鴨嘴鰻科為主；櫻花蝦拖網囊袋分為內袋網及外袋網，其內袋網目為 30mm，外袋網目為 10mm，採獲樣本體長區間為 67.90 至 160.10mm，以大型糯鰻科為主(表 9)；蔡(2006)使用中層拖網(網目大小:0.3mm)於台灣東部進行採樣，在龜山島海域採集到的柳葉鰻物種組成有鯨科、蛇鰻科、糯鰻科、鴨嘴鰻科及月尾鰻科，本研究在龜山島海域採集到的樣本則多為大型糯鰻科樣本，主要是因為櫻花蝦拖網網目較大，因此僅能採集到樣本體型較大的糯鰻科樣本，而利用中層拖網及浮游生物網可採獲體型較小之鯨科、蛇鰻科、鴨嘴鰻科、鋸齒鰻科等種類。另外，由於櫻花蝦拖網網目較大，採集到的樣本許多都已進入變態期。由於柳葉鰻時與變態中及變態完成後的時期形態相差甚鉅，因此將來進行採樣時，可利用不同網目大小之網具於同一樣點進行採樣，若能採集到一系列不同時期的樣本，對於柳葉鰻的形態分類將會有很大的助益。

陸、樣本保存方法

本研究在採獲樣本後，利用水冰帶回實驗室再進行後續處理，運送過程必須保持低溫，否則容易造成樣本損壞，CR1258 及 CR1301 航次樣本即因運送過程中解凍，而導致樣本毀損，使得許多重要的肌節數特徵無法辨認。前人研究發現使用 5%福馬林和酒精保存樣本，可比其他保存溶液得到較佳的保存效果，使用福馬林保存可保持樣本形態，其缺點是可能使樣本形成囊球，導致身體左右兩邊分離，或使樣本劣化；使用酒精，可保存較久，且較不易出現樣本劣化的情況，然而酒精會造成樣本不透明及褪色的情況(Smith, 1989a)；本研究為抽取 DNA，因此使用 95%酒精保存，發現對於柳葉鰻色素斑影響不大，然而對於部分體型較大已進入變態期的樣本而言，由於此階段身體會開始變厚，因此酒精造成樣本不透明的效果，會使得其肌節數不容易計數；近來有一種使用在醫學組織切片上特殊保存溶液——RCL2，能達到像福馬林的形態保存效果，又可以抽取 DNA (Delfour *et al.*, 2006)，本實驗室經使用過後，發現在魚卵的保存效果佳，但使用在柳葉鰻上則會使肌肉組織產生網狀紋路，影響到肌節數的辨認，故往後的研究仍需針對不同需求選擇不同的固定液。

柒、DNA 萃取之方法

本研究利用 142 尾柳葉鰻進行形態鑑定，僅能成功增幅 86 條 COI 序列，無法成功增幅序列的多為蛇鰻科樣本，蛇鰻科樣本來自東海海域，採樣上來後立即使用酒精固定，應不致有 DNA 降解的情況，可能是由於蛇鰻科樣本體型較小，為盡量保持完整的外部形態，故只能取小部分肌肉進行 DNA 萃取，因此發生萃取 DNA 或增幅失敗的情形。為解決此問題可使用微量 DNA 萃取套件，增加 DNA 萃取成功的機率。鱒科 Mur03、Mur04 及 Mur05，形態特徵差異很大，然而在利用 K2P 距離建立之類緣關係樹中，其遺傳距離為 0，推測可能是實驗過程中遭受污染所導致。

第五章 結論

1. 本研究將 142 尾樣本，利用形態分出 32 個類型，鑑定出 22 個分類單元，共有 6 個科，3 個亞科，10 個屬，3 個種；從 142 尾樣本中成功取得 86 條 COI 序列，將 COI 序列利用 BOLD 資料庫及中央研究院生物多樣性研究中心魚類生態及演化研究室資料庫進行比對，可將分類單元數目提升至 24，包含 5 個科，3 個亞科，7 個屬，9 個種。
2. 利用生命條碼比對可提升鑑定力，將原本僅能鑑定到科或屬的物種鑑定至較低的分類階層，且原本以形態鑑定為線鰻科的柳葉鰻經由生命條碼比對後，修正為海鰻科的台灣絲尾海鰻。因此利用生命條碼進行仔稚魚鑑種不僅能補足形態特徵上的不足，亦能檢驗其形態特徵的有效性，與形態鑑定結果之正確性，有助於柳葉鰻的分類研究。
3. 部分肌節數特徵和色素斑會隨著發育階段不同有所差異，利用這些特徵進行形態鑑定時須注意樣本的發育階段，才能做出正確的判斷。
4. 由於個體發育差異的關係，利用形態鑑定柳葉鰻可能出現粗分學派(lumper)或細分學派(splitter)的現象，利用生命條碼可以有效解決此問題。
5. 本研究共發現 1 科 2 屬 4 種為台灣海域首次描述，分別為鋸齒鰻科 (Serrivomeridae)，草鰻屬(*Chlopsis*)、眶鼻鰻屬(*Kaupichthys*)，瓦氏深海康吉鰻 (*Bathycongrus wallacei*)、蠕鰻(*Echelus uropterus*)、李氏裸胸鯉(*Gymnothorax richardsonii*)及線尾蜥鰻(*Saurenhelys fierasfer*)。
6. 由於生命條碼資料庫尚未健全，鰻形目成魚物種之生命條碼數目相對較少，涵蓋的比例較低，導致比對到的最近物種，與樣本的序列相似度皆不高。未來若能將成鰻生命條碼資料庫及柳葉鰻形態資料收集並建立完整，則可提供柳葉鰻鑑種的良好依據。

第六章 參考文獻

- 王友慈，(1987) 台灣北部淡水河暨雙溪河口域魚苗相之研究。文化大學海洋研究所碩士論文。306 頁。
- 丘臺生，(1999) 台灣的仔稚魚。國立海洋生物博物館籌備處。296 頁。
- 沖山宗雄主編，(1998) 日本產稚魚圖鑑。東海大學出版會 東京 i-xii 1-1154 頁。
- 吳繼倫，莊世昌，(2008) 行政院農業委員會水產試驗所電子報第 21 期
- 邵廣昭 台灣魚類資料庫 網路電子版 version 2009/1 <http://fishdb.sinica.edu.tw>
- 陳鴻鳴，(1997) 台灣海域鯉科魚類之系統分類研究。國立臺灣海洋大學漁業科學系博士論文。141 頁。
- 柯慧玲，(2007) 南台灣墾丁周邊海域仔魚群聚之時空分布及 DNA 生命條碼在鑑種上之應用。國立中山大學海洋生物研究所碩士論文。1-104 頁。
- 張榮樺，(2008) 利用生命條碼方法從事台灣海域魚類早期生活史之分類研究。國立台灣大學生命科學院動物學研究所碩士論文。115 頁。
- 曾萬年，(2001) 鰻魚的生活史及演化。科學發展月刊 29(8): 592-596 頁。
- 曾萬年，于學毓，(1986) 台灣北部公司田溪河口域夏威夷海鱧與大眼海鱧仔魚之出現。海洋生物科學學術研討會論文集。165-176 頁。
- 蔡式榮，(2006) 台灣東部海域產柳葉鰻之初步分類研究。國立台灣海洋大學水產養殖研究所碩士論文。111 頁。
- Aoyama, J., Hissmann, K., Yoshinaga, T., Sasai, S., Uto T. and H. Ueda., (1999) Swimming depth of migrating silver eels *Anguilla japonica* released at seamounts of the West Mariana Ridge, their estimated spawning sites. *Marine Ecology Progress Series* 186: 265–269.

- Balabontin, F. S., DeSilva, S. and K. F. Ehrlich, (1973) A comparative study of anatomical and chemical characteristics of reared and wild herring. *Aquaculture* 2: 217-214.
- Barrett, R. D. H. and P. D. N. Hebert, (2005). Identifying spiders through DNA barcodes. *Canadian Journal of Zoology-Revue Canadienne De Zoologie* 83(3): 481-491.
- Bishop, R. E., Torres, J. J. and R. E. Crabtree, (2000) Chemical composition and growth indices in leptocephalus larvae. *Marine Biology* 137: 205– 214.
- Brightman, R. I., (1993) Energetics and RNA/DNA of red drum larvae *Sciaenops ocellatus*. PhD dissertation, University of South Florida.
- Brothers, E. B. and R. E. Thresher, (1985) Pelagic duration, dispersal and the distribution of Indo-Pacific coral-reef fishes. In: Reaka M.L. (ed.) The ecology of coral reefs, NOAA Symp. Ser. Undersea Res., vol. 3, National Oceanic and Atmosphere Administration, Rockville, 53-69.
- Castle, P. H. J., (1977) Leptocephalus of the Muraenesocid Eel *Gavialiceps taeniola*. *American Society of Ichthyologists and Herpetologists* 1977(3): 488-492.
- Cetta, C. M. and J. M. Capuzzo, (1982) Physiological and biochemical aspects of embryonic and larval development of the winter flounder *Pseudopleuronectes americanus*. *Marine Biology* 71: 327-337.
- Clare, E. L., Lim, B. K., Engstrom, M. D., Eger, J. L. and P. D. N. Hebert, (2007) DNA barcoding of Neotropical bats: species identification and discovery within Guyana. *Molecular Ecology Notes* 7(2): 184-190.
- Costa, F. O., deWaard, J. R., Boutillier, J., Ratnasingham, S., Dooh, R. T., Hajibabaei, M. and P. D. N. Hebert, (2007) Biological identifications through DNA barcodes:

- the case of the Crustacea. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* 64(2): 272-295.
- Delfour, C., Roger, P., Bret, Berthe, C., M.-L., Rochaix, P., Kalfa, N., Raynaud, P., Bibeau, F., Maudelonde, T. and N. Boulle, (2006) RCL2, a New Fixative, Preserves Morphology and Nucleic Acid Integrity in Paraffin-Embedded Breast Carcinoma and Microdissected Breast Tumor Cells. *Journal of Molecular Diagnostics* 8(2): 157-169.
- Ehrlich, K. F., (1974a) Chemical changes during growth and starvation of larval *Pleuronectes platessa*. *Marine Biology* 24: 39-48.
- Ehrlich, K. F., (1974b) Chemical Changes During Growth and Starvation of Herring Larvae. In: Blaxter JHS (ed) *The early life history of fish*. Springer, Heidelberg, 301–323.
- Footitt, R. G., Maw, H. E. L., Von Dohlen, C. D. and P. D. N. Hebert, (2008). Species identification of aphids (Insecta: Hemiptera: Aphididae) through DNA barcodes. *Molecular Ecology Resources* 8(6): 1189-1201.
- Froese, R. and D. Pauly. Editors. (2010) Fishbase World Wide Web electronic publication. www.fishbase.org, version (2010/05)
- Greenwood, P. H., Rosen, D. E., Weitzman, S. H., and G.S. Myers, (1966) Phyletic studies of teleostean fishes, with a provisional classification of living forms. *Bulletin of the American Museum of Natural History* 131: 339–456.
- Hall, T. A. (2001) BioEdit: a user-friendly biological sequence alignment editor and analysis, version 5.09. Raleigh: North Carolina State University, Department of Microbiology.
- Hare, J. A., Cowen, R. K., Zehr, J. P., Juanes, F. and K. H. Day, (1998) A correction to: Biological and oceanographic insights from larval labrid (Pisces : Labridae)

identification using mtDNA sequences. *Marine Biology* 130: 589-592.

Hebert, P.D.N., Cywinska, A., Ball, S.L., & J.R. DeWaard, (2003a). Biological identifications through DNA barcodes. *Proceedings of the Royal Society of London Series B-Biological Sciences*, 270: 313-321.

Hebert, P. D. N., Stoeckle, M. Y., Zemplak, T. S., and C. M. Francis, (2004) Identification of birds through DNA barcodes. *Public Library of Science, Biology* 2: 1657–1663.

Hebert, P. D. N., Penton, E. H., Burns, J. M., Janzen, D. H., and W. Hallwachs, (2004a). Ten species in one: DNA barcoding reveals cryptic species in the neotropical skipper butterfly *Astraptes fulgerator*. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 101(41): 14812-14817.

Hebert, P. D. N., Stoeckle, M. Y., Zemplak, T. S., and C. M. Francis, (2004b) Identification of birds through DNA barcodes. *Plos Biology* 2(10): 1657-1663.

Hempel, G., (1979) Early Life History of Marine Fish: The Egg Stage. Washington Sea Grant publication, University of Washington, Seattle, 1-70.

Hubert, N., Delrieu-Trottin, E., Irisson, J.-O., Meyer, C. and S. Planes, (2010) Identifying coral reef fish larvae through DNA barcoding: A test case with the families Acanthuridae and Holocentridae. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 55(3): 1195-1203.

Inoue, J. G., Miya, M., Tsukamoto, K. and M. Nishida, (2004) Mitogenomic evidence for the monophyly of elopomorph fishes (Teleostei) and the evolutionary origin of the leptocephalus larva. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 32(1): 274-286.

- Jarman, S. N., and N. G. Elliott, (2000) DNA evidence for morphological and cryptic Cenozoic speciations in the Anaspididae, 'living fossils' from the Triassic. *Journal of Evolutionary Biology* 13(4): 624-633.
- Kim, B. J., Kim, S., Seo, H. S. and J. Oh, (2008) Identification of *Albula* sp. (Albulidae: Albuliformes) *Leptocephalus* Collected from the Southern Coastal Waters of Korea using Cytochrome b DNA Sequences. *Ocean Science Journal* 43(2): 101-106.
- Kimura, Y., Miller, M. J., Minagawa, G., Watanabe, S., Shinoda, A., Aoyama, J., and K. Tsukamoto, (2006) Evidence of a local spawning site of marine eels along northeastern Japan, based on the distribution of small leptocephali. *Fisheries Oceanography* 15: 183–190.
- Knowlton, N., (1993) Sibling species in the sea. *Annual Review Of Ecology And Systematics*. 24: 189–216.
- Kochzius, M., (2009) Trends in Fishery Genetics. *Future of Fisheries Science in North America* 31: 453-493.
- Kumar, S., Tamura, K. and M. Nei, (2004). MEGA3: Integrated software for molecular evolutionary genetics analysis and sequence alignment. *Briefings in Bioinformatics* 5: 150-163.
- Leis, J. M., (1991) The pelagic stage of reef fishes: the larval biology of coral reef fishes. In: Sale P. F. ed. *The ecology of fishes on coral reefs*. Academic Press, San Diego, 183-230.
- Leis, J. M. and B. M. Carson-Ewart, (2000) *The larvae of Indo-Pacific coastal fishes: an identification guide to marine fish larvae*. Australian Museum, Sydney, 1-850.

- Ma, T., Miller, M. J., Aoyama, J., and K. Tsukamoto, (2007) Genetic identification of *Conger myriaster leptcephali* in East China Sea. *Fisheries Science* 73: 989–994.
- Ma, T., Miller, M. J., Aoyama, J., Minagawa, G., Inoue J. G., Watanabe, S. and K. Tsukamoto, (2008) Genetic identification of two types of *Ariosoma leptcephli*. *Coastal Marine Science* 32(1): 48-53.
- McCleave, J. D. and M. J. Miller, (1994) Spawning of *Conger oceanicus* and *Conger triporiceps* (Congridae) in the Sargasso Sea and subsequent distribution of leptcephali. *Environmental Biology of Fishes* 39: 339–355.
- Miller, M. J. and K. Tsukamoto, (2004) An introduction to leptcephali biology and identification. Ocean Research Institute, The University of Tokyo.
- Minagawa, G., Miller, M. J., Kimura, Y., Watanabe, S., Shinoda, A., Aoyama, J. and K. Tsukamoto, (2007) Seasonal differences in catches of leptcephali in the East China Sea and Suruga Bay, Japan. *Estuarine, Coastal and Shelf Science* 71: 730–740.
- Nelson, J. S., (2006). *Fishes of the World* 4th ed., 108-124.
- Pfeiler, E., (1986) Towards an Explanation of the Developmental Strategy in Leptocephalous Larvae of Marine Teleost Fishes. *Environmental Biology of Fishes* 15(1): 3-13.
- Ratnasingham, S., (2007) BOLD : The Barcode of Life Data System (www.barcodinglife.org). *Molecular Ecology Note* 7:355–364.
- Ratnasingham, S. and Paul D. N. Hebert (2009) BOLD Identification System v2.5 <http://www.boldsystems.org/views/login.php>
- Schmidt, J., (1923) The Breeding Places of the Eel. *Philosophical Transactions of the Royal Society* 211: 179-208.

- Schmidt, J., (1925) The breeding places of the eel. *Annual Report of the Smithsonian Institution for 1924*, 279-316.
- Smith, D. G., (1979) Guide to the Leptocephali (Elopiformes, Anguilliformes, and Notacanthiformes). *NOAA technical report NMFS CIRC 424*.
- Smith, D. G., (1989a) Family Congridae. In *Fishes of the Western North Atlantic. Part 9. Vol. 1: Orders Anguilliformes and Saccopharyngiformes* (Böhlke, E. B., ed.), 460–567. New Haven: Memoirs of the Sears Foundation for Marine Research.
- Smith, D. G., (1989b) Family Congridae: leptocephali. In *Fishes of the Western North Atlantic. Part 9. Vol. 2: Leptocephali* (Böhlke, E. B., ed.), 723–763. New Haven: Memoirs of the Sears Foundation for Marine Research.
- Smith, D.G., (1999) In K.E. Carpenter and V.H. Niem (eds.) *FAO species identification guide for fishery purposes. Congridae. Conger eel*. 1680-1687.
- Tawa, A. and N. Mochioka, (2009) Identification of aquarium-raised muraenid leptocephali, *Gymnothorax minor*. *Ichthyological Research* (56)4: 340-345.
- Thompson, J. D., Gibson T. J., Plewniak F., Jeanmougin, F. and D. G. Higgins, (1997) The Clustal–windows interface: flexible strategies for multiple sequence alignment aided by quality analysis tools. *Nucleic Acids Res.* 25: 4876–4882.
- Thresher, R. E., (1984) *Reproduction in reef fishes*. TFH Publications Neptune City NJ
- Tsukamoto, K., (1992) Discovery of spawning area for the Japanese eel. *Nature* 356: 789–791.
- Tsukamoto, K., Otake, T., Mochioka, N., Lee T.-W., Fricke, H., Inagakia, T., Aoyamaa, J., Ishikawaa, S., Kimuraa, S., Millera, M. J., Hasumotoa, H., Oyaa, M. and Y. Suzukif, (2003) Seamounts, new moon and eel spawning: The search for the spawning site of the Japanese eel. *Environmental Biology of Fishes* 66:

221–229.

Wang, C. H., Kuo, C. H., Mok, H. K. and Lee, S. C., (2003) Molecular phylogeny of elopomorph fishes inferred from mitochondrial 12S ribosomal RNA sequences. *Zoologica Scripta* 32(3): 231-241.

Ward, R. D., Zemlak, T. S., Innes, B. H., Last, P. R. and P. D. N. Hebert, (2005) DNA barcoding Australia's fish species. *Philosophical Transactions of the Royal Society B-Biological Sciences* 360(1462): 1847-1857.

Ward, R.D. and B. H. Holmes, (2007) An analysis of nucleotide and amino acid variability in the barcode region of cytochrome c oxidase I (*cox1*) in fishes. *Molecular Ecology Notes* 7: 899–907.

Werner, E. E. and J. T. Gilliam, (1984) The ontogenetic niche and species interaction in size – structured populations. *Annual Review Of Ecology And Systematics* 15: 393-425.

Wippelhauser, G. S., Miller, M. J. and J. D. McCleave, (1996) Evidence of spawning and the larval distribution of nemichthyid eels in the Sargasso Sea. *Bull Mar Sci* 59:298–309

表 1、西南及東北海域各樣點採樣日期、時間、使用網具及樣本數

Location	Cruise	Station ID	Gear	Date	Start to	Time		N	n
					Retrieve	Depth	Winch Stop		
					(m)				
SW Taiwan	FRI I	IK395	IKMT	Jul 27 2007	1101.6	16:17	18:17	12	12
		IK399	IKMT	Jul 28 2008	918.4	13:45	15:45	11	11
	CR1258	IK403	IKMT	Nov 6 2007	526	12:04	14:04	7	7
		IK404	IKMT	Nov 6 2007	226.2	14:23	16:20	9	6
		IK405	IKMT	Nov 6 2007	518.4	16:43	18:43	10	4
		IK406	IKMT	Nov 6 2007	399.5	19:10	21:10	18	4
		IK411	IKMT	Nov 7 2007	1431.1	17:11	19:10	14	5
	CR1301	IK417	IKMT	Jun 25 2008	--	17:20	--	0	0
		IK418	IKMT	Jun 26 2008	413	08:15	10:15	1	0
		IK419	IKMT	Jun 26 2008	--	11:00	--	4	0
		IK420	IKMT	Jun 26 2008	525	13:25	15:25	10	1
		IK421	IKMT	Jun 26 2008	248	15:40	17:40	4	0
		IK422	IKMT	Jun 26 2008	461	17:50	19:50	1	0
		IK423	IKMT	Jun 27 2008	569	08:10	10:10	1	0
		IK424	IKMT	Jun 27 2008	482	10:25	12:25	0	0
		IK425	IKMT	Jun 27 2008	283	12:45	14:45	1	1
		IK426	IKMT	Jun 27 2008	426	15:10	17:10	0	0
		IK427	IKMT	Jun 27 2008	368	17:25	19:35	1	0
		IK428	IKMT	Jun 28 2008	721	08:10	10:10	1	0
		IK429	IKMT	Jun 28 2008	--	10:32	12:32	1	0
		IK430	IKMT	Jun 28 2008	325	12:50	14:50	0	0
		IK431	IKMT	Jun 28 2008	591	15:13	17:13	1	0
		IK432	IKMT	Jun 28 2008	--	17:45	19:45	1	0
		IK433	IKMT	Jun 28 2008	499	20:05	22:03	29	2
Dong-Gang	--	--	shrimp trawl	Nov 12-14 2008				19	19
NE Taiwan	--	--	shrimp trawl	May-Jul 2009				21	21
Total								177	93

表 2、東海海域各樣點採樣日期、時間、使用網具及樣本數

Location	Cruise	Station ID	Gear	Date	Depth(m)	Start Time	End Time	N	n	Lep (ind./1000m ³)
ECS	CR905	1	Ring Net	Jun 29 09	200	14:01	14:30	0	0	0.00
		2	Ring Net	Jun 30 09	95	00:50	01:05	11	1	22.89
		3	Ring Net	Jun 30 09	93 (wire out)	05:45	06:17	6	0	10.28
		4	Ring Net	Jun 30 09	35	11:35	--	4	0	47.38
		5	Ring Net	Jun 30 09	56	20:05	--	25	1	69.91
		30	Ring Net	Jul 1 09	28	11:00	--	0	0	0.00
		29	Ring Net	Jul 2 09	70 (wire out)	03:42	04:40	16	0	28.72
		41	Ring Net	Jul 3 09	39	13:24	13:32	0	0	0.00
		39	Ring Net	Jul 3 09	50	23:34	--	1	0	1.75
		37	Ring Net	Jul 4 09	88	08:53	--	0	0	0.00
		24	Ring Net	Jul 5 09	126	08:55	09:11	8	1	11.38
		22	Ring Net	Jul 5 09	65	20:38	--	1	0	1.83
		20	Ring Net	Jul 5 09	59	07:52	08:01	0	0	0.00
		28	Ring Net	Jul 6 09	69 (wire out)	17:13	17:40	13	1	36.40
		27	Ring Net	Jul 7 09	100	03:20	03:35	34	4	73.17
		26	Ring Net	Jul 7 09	130	10:01	--	2	0	2.46
		16	Ring Net	Jul 8 09	102	12:27	12:40	34	5	30.59
		31	Ring Net	Jul 9 09	99	03:34	03:50	97	1	166.51
		32	Ring Net	Jul 9 09	120	12:32	12:50	6	0	7.43
		12	Ring Net	Jul 9 09	130	20:20	--	64	29	68.02
		7	Ring Net	Jul 11 09	108	15:45	17:05	5	0	6.81
		35	Ring Net	Jul 12 09	100	00:49	01:00	6	1	16.67
		34	Ring Net	Jul 12 09	130	08:56	09:15	13	3	11.66
		33	Ring Net	Jul 12 09	135	14:54	15:08	5	2	11.86
		k	Ring Net	Jul 13 09	280	00:26	01:00	0	0	0.00
Total								351 49		

表 3、鰻鱺目內糯鰻科、海鰻科、鯨科、蛇鰻科、通鰓鰻科之科內 K2P 距離(邵，未發表)

科別	使用物種數	K2P 距離
糯鰻科(Congridae)	7	0.215 (0.114-0.307)
海鰻科(Muraenesocidae)	3	0.233 (0.225-0.244)
鯨科(Muraenidae)	7	0.246 (0.2-0.296)
蛇鰻科(Ophichthidae)	3	0.272 (0.241-0.331)
通鰓鰻科(Synphobranchidae)	4	0.169 (0.127-0.206)

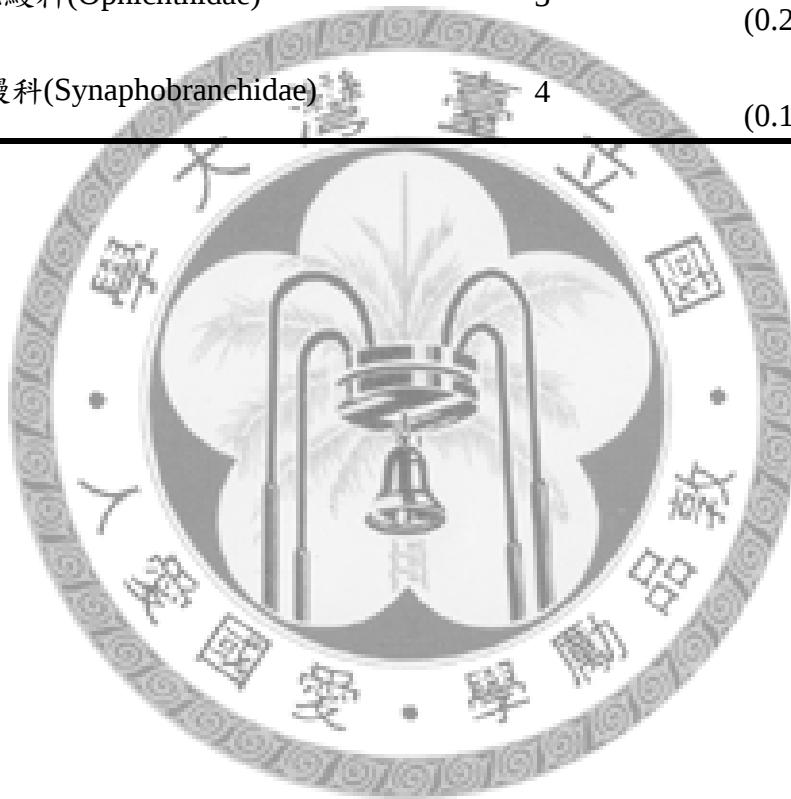


表 4、利用外部形態區分出之類型與分類階層之鑑定(“：表示同上；--：表示與科的種數相同或未知)

類型編號	科	台灣同科成魚種數	學名	台灣同屬成魚種數
Chl01	Chlopsidae	2 屬 2 種	<i>Chlopsis</i> sp.	無成魚紀錄
Chl02	Chlopsidae	“	<i>Kaupichthys</i> sp.	1 種
Con01	Congridae	14 屬 25 種	<i>Ariosoma</i> sp.	5 種
Con02	Congridae	“	<i>Bathycongrus</i> sp.	3 種
Con03	Congridae	“	Congrinae Gen. sp.	--
Con04	Congridae	“	<i>Conger</i> spp.	3 種
Con05	Congridae	“	<i>Gnathophis</i> spp.	2 種
Con05-1	Congridae	“	<i>G. nystromi ginango</i>	1 種
Con05-2	Congridae	“	<i>G. nystromi nystromi</i>	無成魚紀錄
Con06	Congridae	“	<i>Rhechias</i> sp.	無成魚紀錄
Con07	Congridae	“	Gen. sp.	--
Mur01	Muraenidae	12 屬 59 種	Gen. sp.	--
Mur02	Muraenidae	“	<i>Gymnothorax</i> sp.	40 種
Mur03	Muraenidae	“	Gen. sp.	--
Mur04	Muraenidae	“	Gen. sp.	--
Mur05	Muraenidae	“	<i>Uropterygius</i> sp.	4 種
Nem01	Nemichthyidae	2 屬 2 種	Gen. sp.	--
Net01	Nettasomatidae	2 屬 4 種	<i>Saurenhlys</i> sp.	2 種
Myro01	Ophichthidae	15 屬 34 種	MyrophinaeType01	--
Myro02	Ophichthidae	“	MyrophinaeType02	--
Myro03	Ophichthidae	“	MyrophinaeType03	--
Myro04	Ophichthidae	“	MyrophinaeType04	--
Opn01	Ophichthidae	“	OphichthinaeType01	--
Opn02	Ophichthidae	“	OphichthinaeType02	--
Opn03	Ophichthidae	“	OphichthinaeType03	--
Opn04	Ophichthidae	“	OphichthinaeType04	--
Opn05	Ophichthidae	“	OphichthinaeType05	--
Opn06	Ophichthidae	“	OphichthinaeType06	--
Opd01	Ophichthidae	“	OphichthidaeType01	--
Ser01	Serrivomeridae	1 屬 1 種	Gen. sp.	--

表 4(續)、利用外部形態區分出之類型與分類階層之鑑定(“：表示同上；--：表示與科的種數相同或未知)

類型編號	科	台灣同科成魚種數	學名	台灣同屬成魚種數
Syn01	Synphobranchidae	7 屬 16 種	<i>Dysomma anguillare</i>	7 種
Syn02	Synphobranchidae	“	Gen. sp.	--
Un01	--	--	Type01	--
Un02	--	--	Type02	--
Un03	--	--	Type03	--
Un04	--	--	Type04	--



表 5、利用 COI 比對 BOLD 資料庫鑑定之結果與形態鑑定之比對(“：表示同上；--：表示未比對到任何成魚序列)

類型	形態鑑定之結果	同科序列包含種數	BOLD	相似度
Chl01	<i>Chlopsis</i> sp.	1 屬 1 種	--	--
Chl02	<i>Kaupichthys</i> sp.	“	<i>Kaupichthys hyoprорoides</i>	89.09%
Con01	<i>Ariosoma</i> sp.	8 屬 10 種	<i>Ariosoma meeki</i>	99.84%
			<i>Ariosoma</i> sp.	99.49%
Con02	<i>Bathycongrus</i> sp.	“	<i>Bathyuroconger vicinus</i>	99.37-100%
			<i>Gnathophis nystromi</i>	99.81-100%
			<i>nystromi</i>	98.72-99.36%
			<i>Bathycongrus wallacei</i>	
Con03	Congrinae Gen. sp.	“	<i>Rhynchoconger</i> sp.	97.39-97.55%
Con04	<i>Conger</i> spp.	“	<i>Conger japonicus</i>	99.84-100%
Con05	<i>Gnathophis</i> spp.	“	<i>Gnathophis bathytopos</i>	95.32-99.26%
			<i>Rhynchoconger</i> sp.	97.17%
Con05-1	<i>Gnathophis nystromi ginango</i>	“	--	--
Con05-2	<i>Gnathophis nystromi nystromi</i>	“	--	--
Con06	<i>Rhechias</i> sp.	“	<i>Conger cinereus</i>	100%
Con07	Gen. sp.	“	<i>Rhynchoconger</i> sp.	95.91-97.50%
			<i>Gnathophis</i> sp.	87.75%
			<i>Gnathophis bathytopos</i>	95.75%
Mur01	Muraenidae Gen. sp.	6 屬 31 種	--	--
Mur02	<i>Gymnothorax</i> sp2.	“	<i>Gymnothorax richardsonii</i>	99.69%
Mur03	<i>Uropterygius</i> sp.	“	--	--
Mur04	Muraenidae Gen. sp.	“	--	--
Mur05	Muraenidae Gen. sp.	“	--	--
Nem01	Nemichthyidae Gen. sp.	2 屬 2 種	<i>Gavialiceps taiwanensis</i>	100%
Net01	<i>Saurenhlys</i> sp.	1 屬 2 種	<i>Saurenhlys</i> sp.	96.48%
Myro01	MyrophinaeType01	7 屬 9 種	<i>Pseudomyrophis</i> sp.	85.78%
Myro02	MyrophinaeType02	“	--	--
Myro03	MyrophinaeType03	“	--	--
Myro04	MyrophinaeType04	“	--	--
Opn01	OphichthinaeType01	“	<i>Neenchelys daedauls</i>	87.64%
Opn02	OphichthinaeType02	“	<i>Neenchelys daedauls</i>	87.64%
Opn03	OphichthinaeType03	“	--	--
Opn04	OphichthinaeType04	“	<i>Ophichthus</i> sp.	87.50%
Opn05	OphichthinaeType05	“	--	--
Opn06	OphichthinaeType06			

表 5(續)、利用 COI 比對 BOLD 資料庫鑑定之結果與形態鑑定之比對(“：表示同上；--：表示未比對到任何成魚序列)

類型	形態鑑定之結果	序列包含種數	BOLD	相似度
Opd01	OphichthidaeType01	“	<i>Pseudomyrophis</i> sp.	85.46%
Ser01	Serrivomeridae Gen. sp.	1 屬 1 種	--	--
Syn01	<i>Dysomma anguillare</i>	6 屬 8 種	<i>Meadia abyssalis</i>	99.06%
			<i>Dysomma anguillare</i>	99.04%
Syn02	Synphobranchidae Gen. sp.	“	--	--
Un01	Type01		--	--
Un02	Type02		<i>Anguilla japonica</i>	99.09%
Un03	Type03		--	--
Un04	Type04		<i>Conger myriaster</i>	99.50%

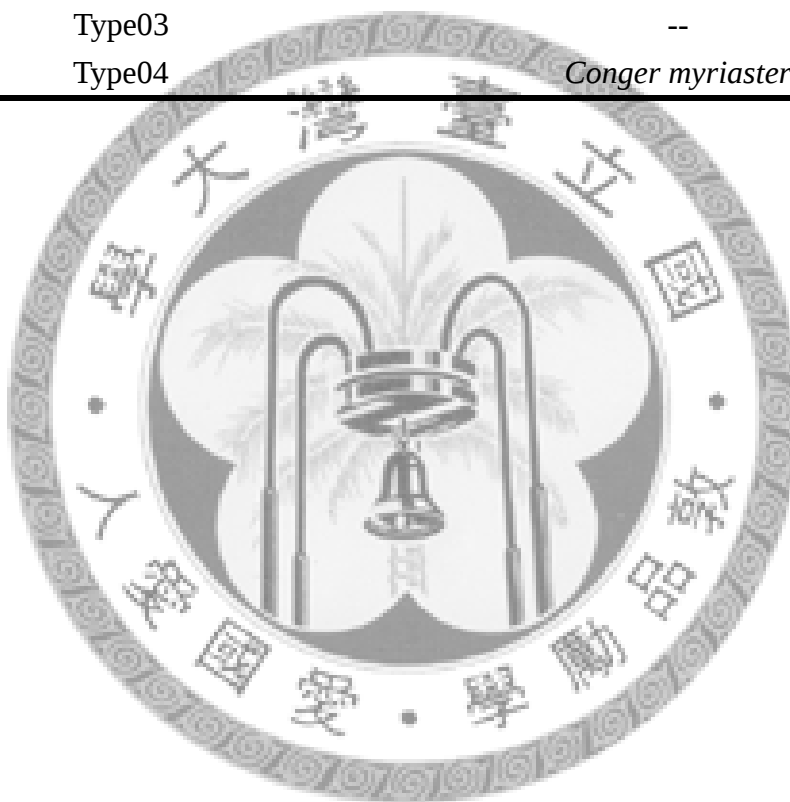


表 6、利用中央研究院生物多樣性中心魚類生態及演化研究室建構之成魚序列
資料庫鑑定之結果與形態鑑定之比對(“：表示同上；--：表示未比對到任何
成魚序列)

類型	形態鑑定之結果	序列包含種數	自有序列	K2P distance
Chl01	<i>Chlopsis</i> sp.	0	<i>Kaupichthys</i> sp.	0.240
Chl02	<i>Kaupichthys</i> sp.	“	<i>Kaupichthys</i> sp.	0.219-0.221
Con01	<i>Ariosoma</i> sp.	9 屬 13 種	<i>Ariosoma meeki</i> <i>Ariosoma</i> sp.	0.000-0.007 0.000-0.005
Con02	<i>Bathycongrus</i> sp.	“	<i>Bathycongrus wallacei</i>	0.000-0.004
Con03	Congrinae Gen. sp.	“	--	--
Con04	<i>Conger</i> spp.	“	--	--
Con05	<i>Gnathophis</i> spp.	“	--	--
Con05-1	<i>Gnathophis nystromi ginango</i>	“	<i>G. nystromi nystromi</i>	0.047
Con05-2	<i>G. nystromi nystromi</i>	“	<i>G. nystromi nystromi</i>	0.047
Con06	<i>Rhechias</i> sp.	“	<i>Conger cinereus</i>	0.202
Con07	Gen. sp.	“	--	--
Mur01	Muraenidae Gen. sp.	8 屬 31 種	--	--
Mur02	<i>Gymnothorax</i> sp2.	“	--	--
Mur03	<i>Uropterygius</i> sp.	“	--	--
Mur04	Muraenidae Gen. sp.	“	--	--
Mur05	Muraenidae Gen. sp.	“	--	--
Nem01	Nemichthyidae Gen. sp.	“	<i>Gavialiceps taiwanensis</i>	0.000
Net01	<i>Saurenhlys</i> sp.	2 屬 2 種	<i>Saurenhlys fierasfer</i>	0.000-0.002
Myro01	MyrophinaeType01	2 屬 3 種	--	--
Myro02	MyrophinaeType02	5 屬 9 種	--	--
Myro03	MyrophinaeType03	“	--	--
Myro04	MyrophinaeType04	“	--	--
Opn01	OphichthinaeType01	“	--	--
Opn02	OphichthinaeType02	“	--	--
Opn03	OphichthinaeType03	“	<i>Enchelus uropterus</i>	0.004
Opn04	OphichthinaeType04	“	--	--
Opn05	OphichthinaeType05	“	--	--
Opn06	OphichthinaeType06	“	--	--
Opd01	OphichthidaeType01	“	--	--
Ser01	Serrivomeridae Gen. sp.	“	<i>Stemonidium hypomelas</i>	0.091-0.186

表 6(續)、利用中央研究院生物多樣性中心魚類生態及演化研究室建構之成魚序列資料庫鑑定之結果與形態鑑定之比對(“：表示同上；--：表示未比對到任何成魚序列)

類型	形態鑑定之結果	序列包含種數	自有序列	K2P distance
Syn01	<i>Dysomma anguillare</i>	“	<i>Dysomma anguillare</i>	0.009
Syn02	Synphobranchidae Gen. sp.	“	<i>Dysomma anguillare</i>	0.105-0.165
Un01	Type01	“	--	--
Un02	Type02	“	<i>Anguilla japonica</i>	0.004
Un03	Type03	“	--	--
Un04	Type04	“	<i>Conger myriaster</i>	0.210



表 7、西南海域及東北海域柳葉鰻之時空分佈

Family	Taxon	SW Taiwan		NE Taiwan		Dong-Gong	
		Jul-07	Nov-07	Jun-08	May-Jul-09	Nov-09	
Chlopsidae	<i>Kaupichthys</i> sp.		2	1			
	<i>Chlopsis</i> sp.						
Congridae	Gen. spp.		5	1			
	Congrinae sp.3		1				
	<i>Ariosoma meeki</i>				2		2
	<i>Ariosoma</i> spp	1			4		17
	<i>Bathycongrus wallacei</i>				8		
	<i>Conger</i> spp.	11	1		5		
	<i>Conger japonicus</i>		1				
	<i>Gnathophis</i> spp.	5	2				
Muraenesocidae	<i>Gavialiceps taiwanensis</i>	6	1				
Muraenidae	Gen. sp.		1	2			
	<i>Uropterygius</i> sp.		1				
	<i>Gymnothorax richardsonii</i>		1				
Serrivomeridae	Gen. spp.		6				
Synaphobranchidae	Gen. sp.				1		
	<i>Dysomma</i> sp.		1				
Anguillidae	<i>Anguilla japonica</i>		1				
Unknown			2				

表 8、東海海域柳葉鰻之空間分佈

Family	Taxon	St.2	St.5	St.12	St.16	St.24	St.27	St.28	St.31	St.33	St.34	St.35	St.39
Congridae	<i>Conger</i> sp.	1		1									
Nettastomatidae	<i>Saurenhlys fierasfer</i>			1			1		1	1			
Ophichthidae	Gen. sp.												
	MyrophianeT01			21	3								
	MyrophianeT02						2						
	MyrophianeT03						1	1					
	MyrophianeT04				3								
	OphichthinaeT01		1	2									
	OphichthinaeT03						1						
	OphichthinaeT04											1	
	OphichthinaeT05			1	1					1	2		
	OphichthinaeT06				1						1		

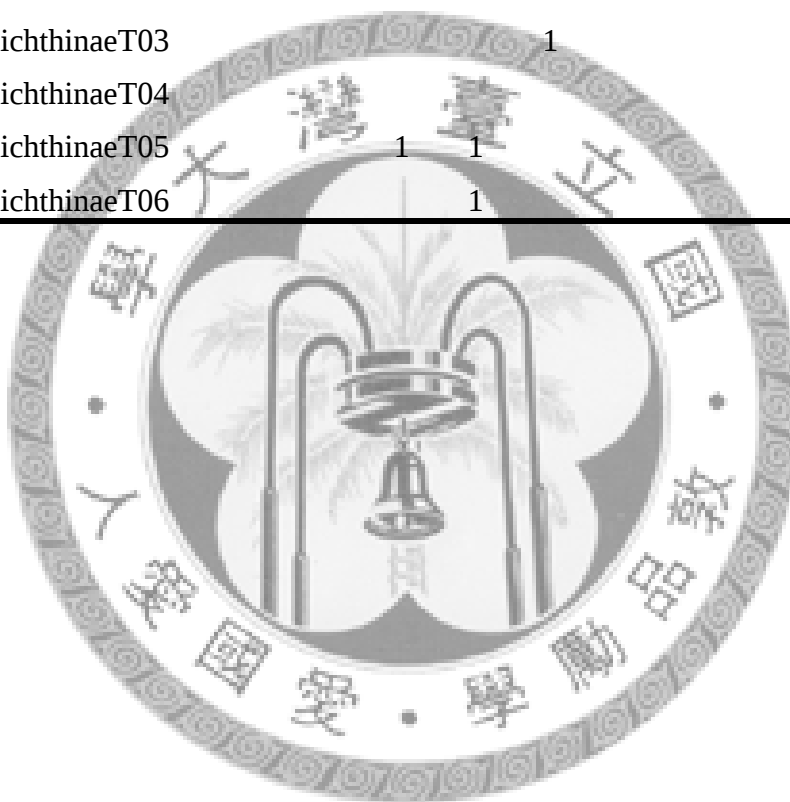


表 9、各採樣海域採集之不同科別柳葉鰻體長範圍(單位:mm)

	SW Taiwan	Dong-Gong	NE Taiwan	CR905
Chlopsidae	31.55-48.00			
Congridae	21.05-89.10	123.53-182.26	75.60-168.26	24.80-25.00
Muraenidae	31.85-55.35			
Muraensocidae	97.25-143.95			
Nettasomatidae				31.40-41.90
Ophichthidae				14.55-62.80
Serrivomeridae	31.40-51.20			
Synaphobranchidae	46.90		67.90	



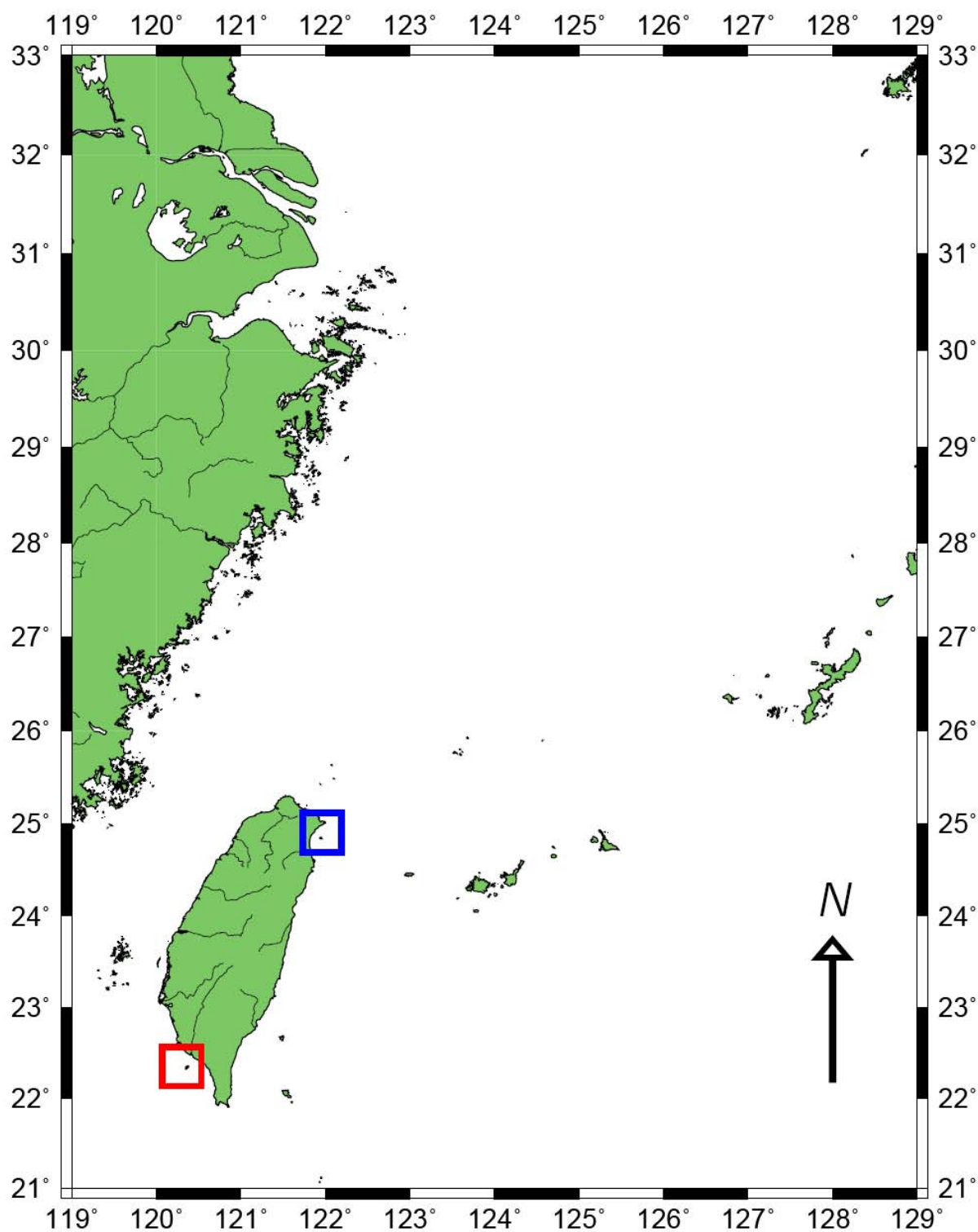


圖1、台灣西南海域(紅色框)及東北海域(藍色框)採集柳樣鰻之位置圖

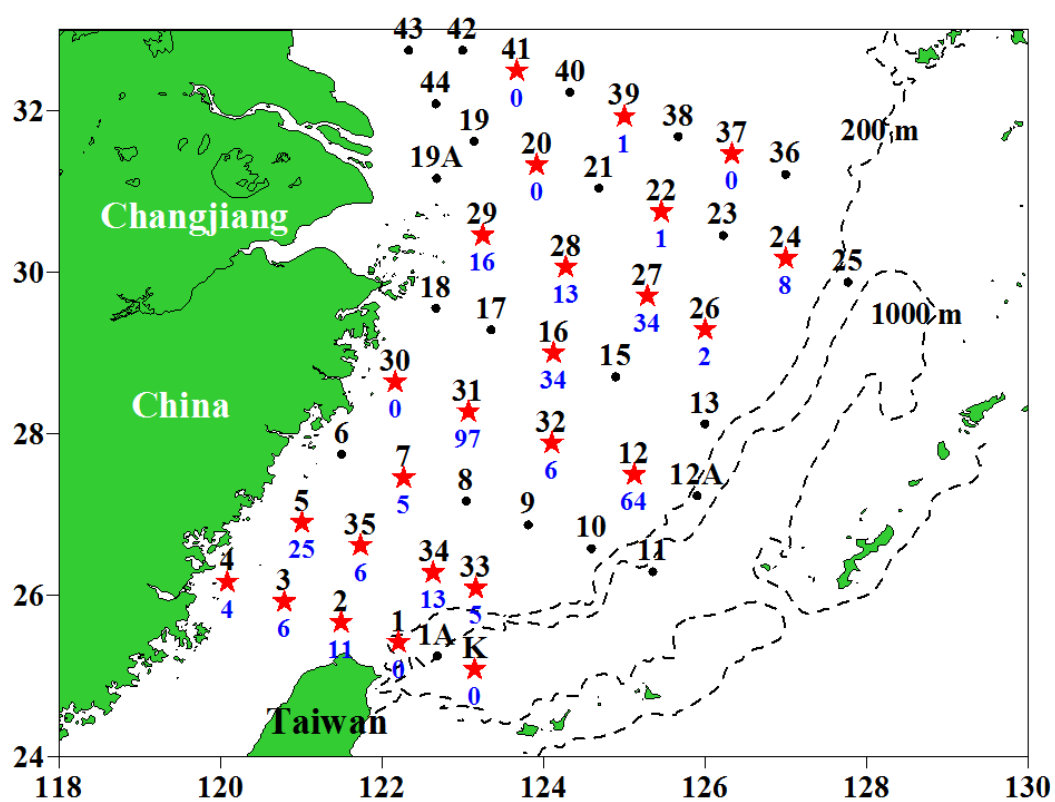


圖2、東海海域採集柳葉鰻之樣站位置圖(★示有進行拖網採集的測站，黑色字體表示測站代號，藍色字體表示採獲之柳葉鰻樣本數)

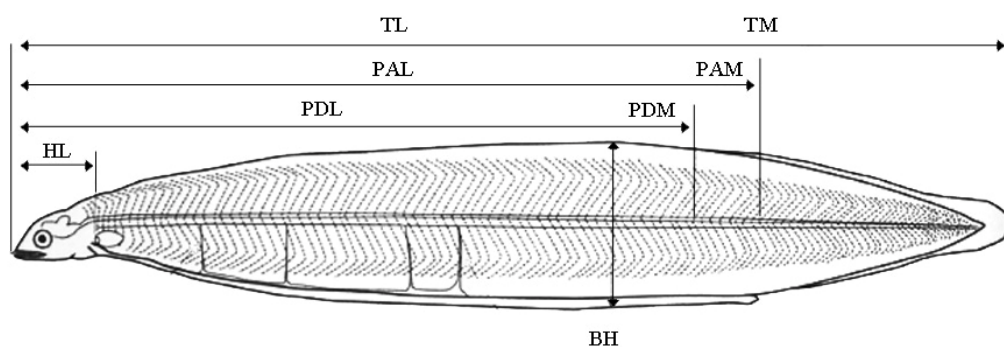


圖3、柳葉鰻計數形質及測量形質示意圖(修改自Miller and Tsukamoto, 2004)



Chl01



36.45mm TL

Chl02



48.00 mm TL

Kaupichthys diodontus



圖片來源：台灣魚類資料庫

圖4、擬鯔科柳葉鰻2種外部形態型及其成魚圖 (以下各科照片中淺藍色框內為類型編號，綠色框內為成魚學名，黃色框內為生命條碼所鑑定之物種名)

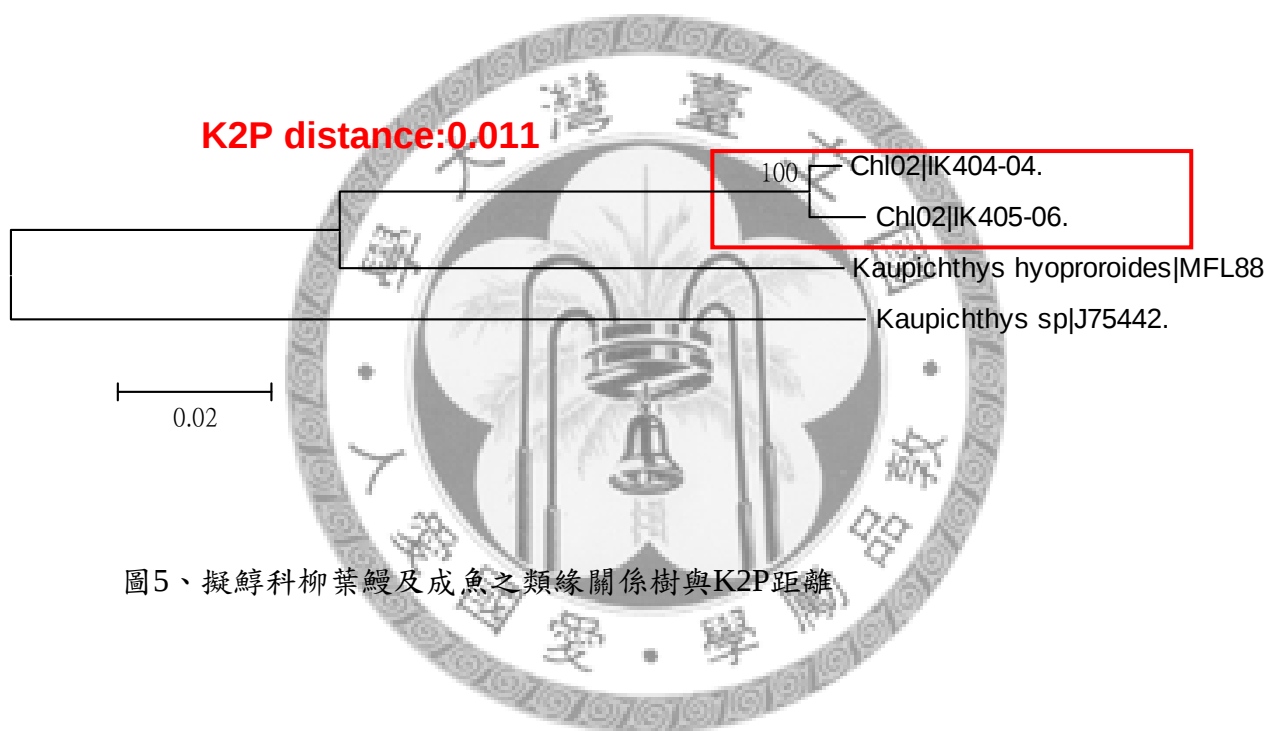


圖5、擬鯔科柳葉鰻及成魚之類緣關係樹與K2P距離

Con01-1

Ariosoma sp.



158.67 mm TL

Con01-2



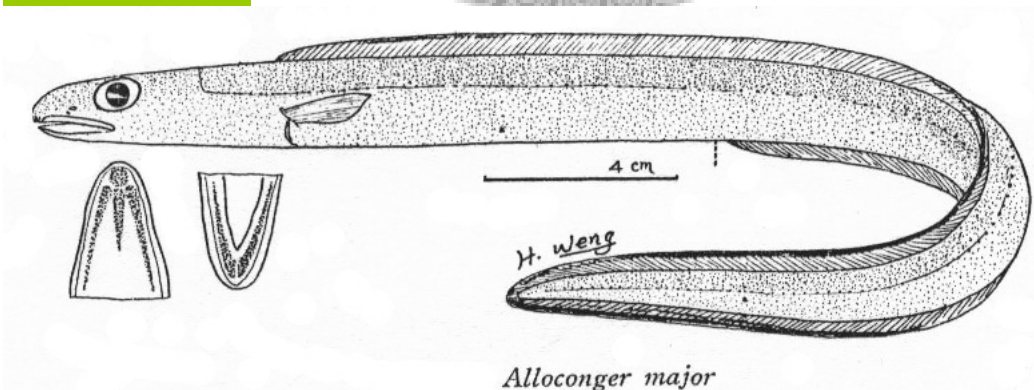
99.60mm TL

Con01-2



89.10mm TL

Ariosoma major



圖片來源：FishBase

圖6、糯鰻科柳葉鰻美體鰻屬2種外部形態型及其成魚圖

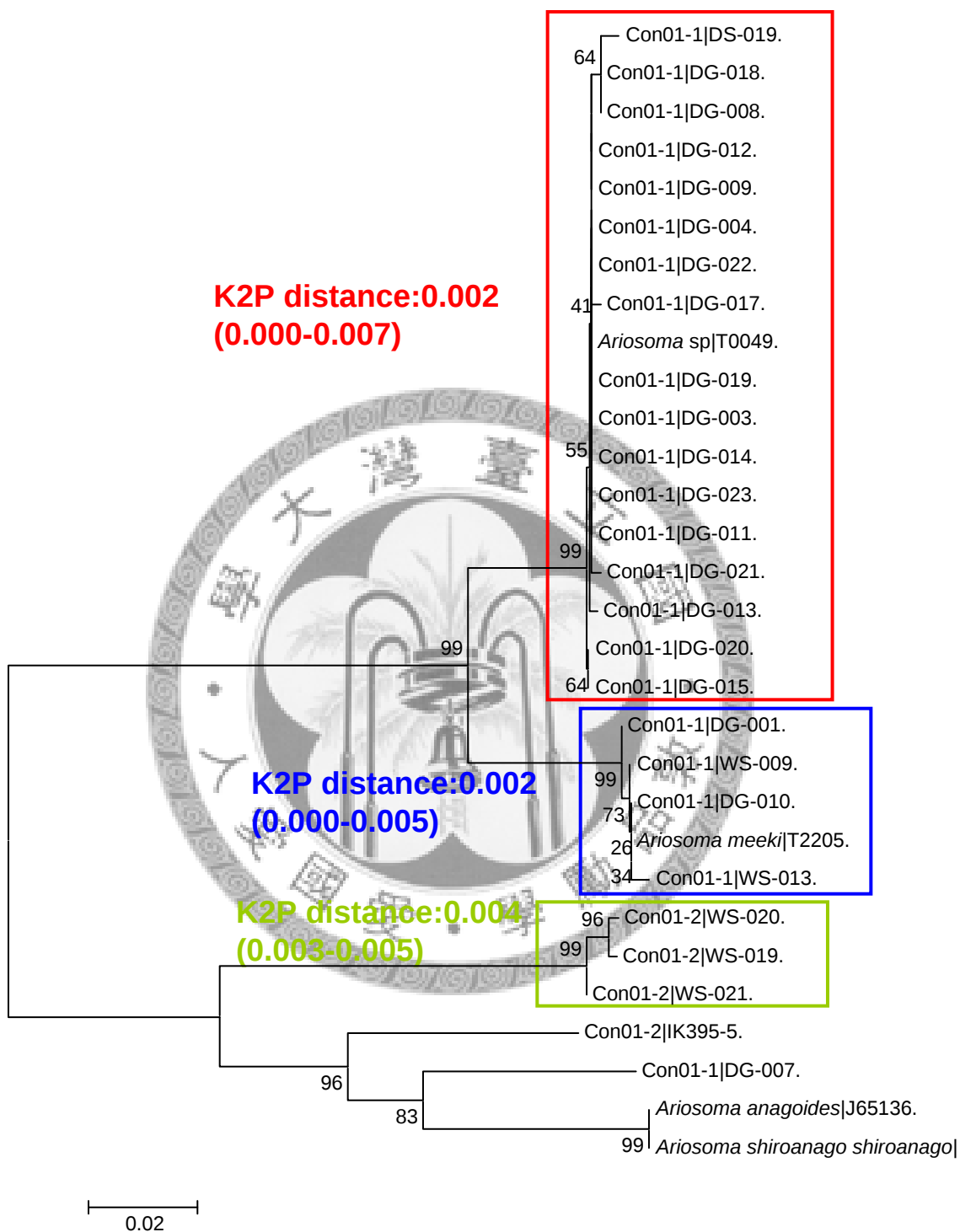


圖7、糯鰻科美體鰻屬柳葉鰻及成魚之類緣關係樹與K2P距離

Con02

Bathycongrus wallacei



155.40mm TL

Bathycongrus wallacei



圖片來源：FishBase

Con03



72.30mm TL

圖8、糯鰻科柳葉鰻深海康吉鰻屬及糯鰻亞科外部形態及其成魚圖

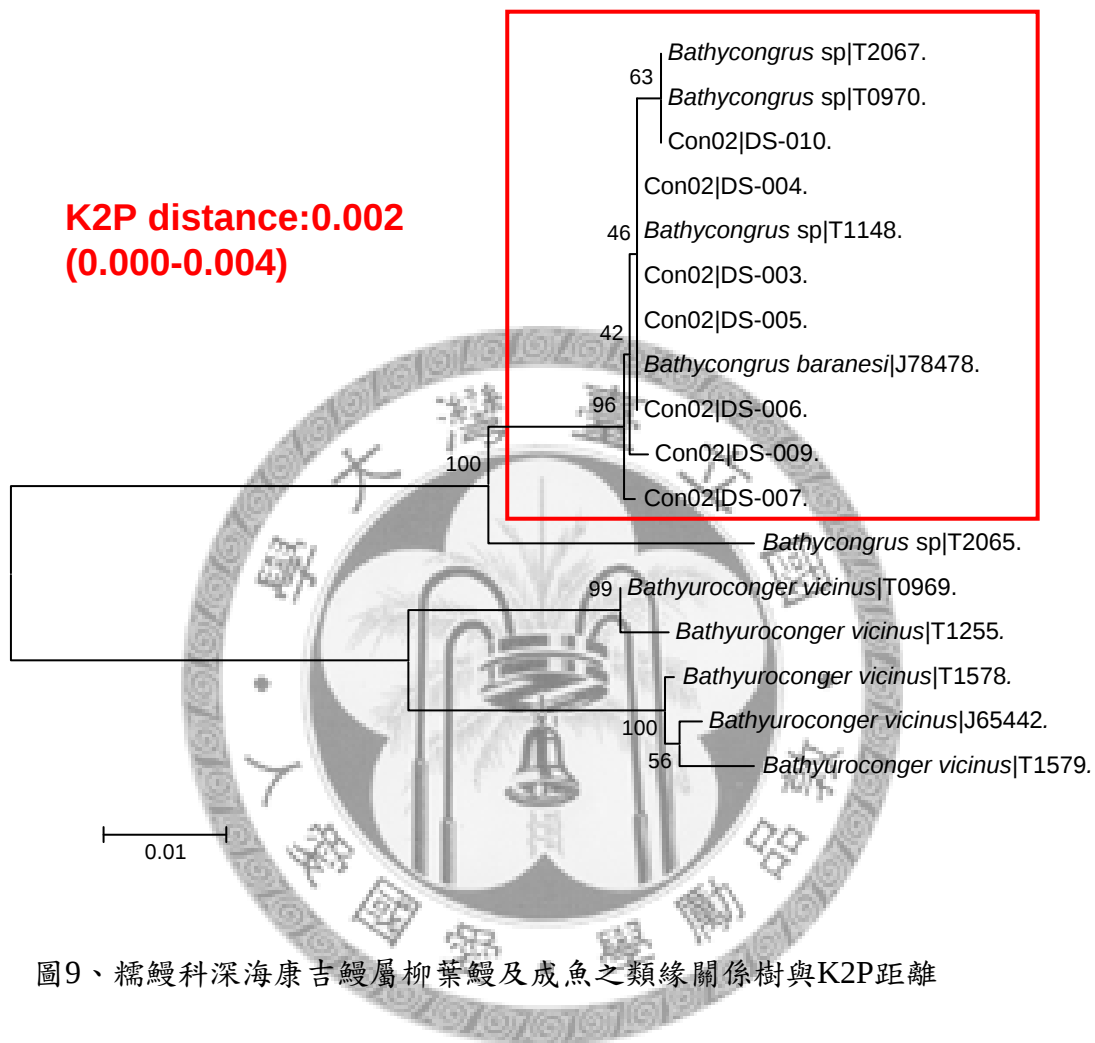


圖9、糯鰻科深海康吉鰻屬柳葉鰻及成魚之類緣關係樹與K2P距離

**K2P distance:0.008
(0.002-0.013)**

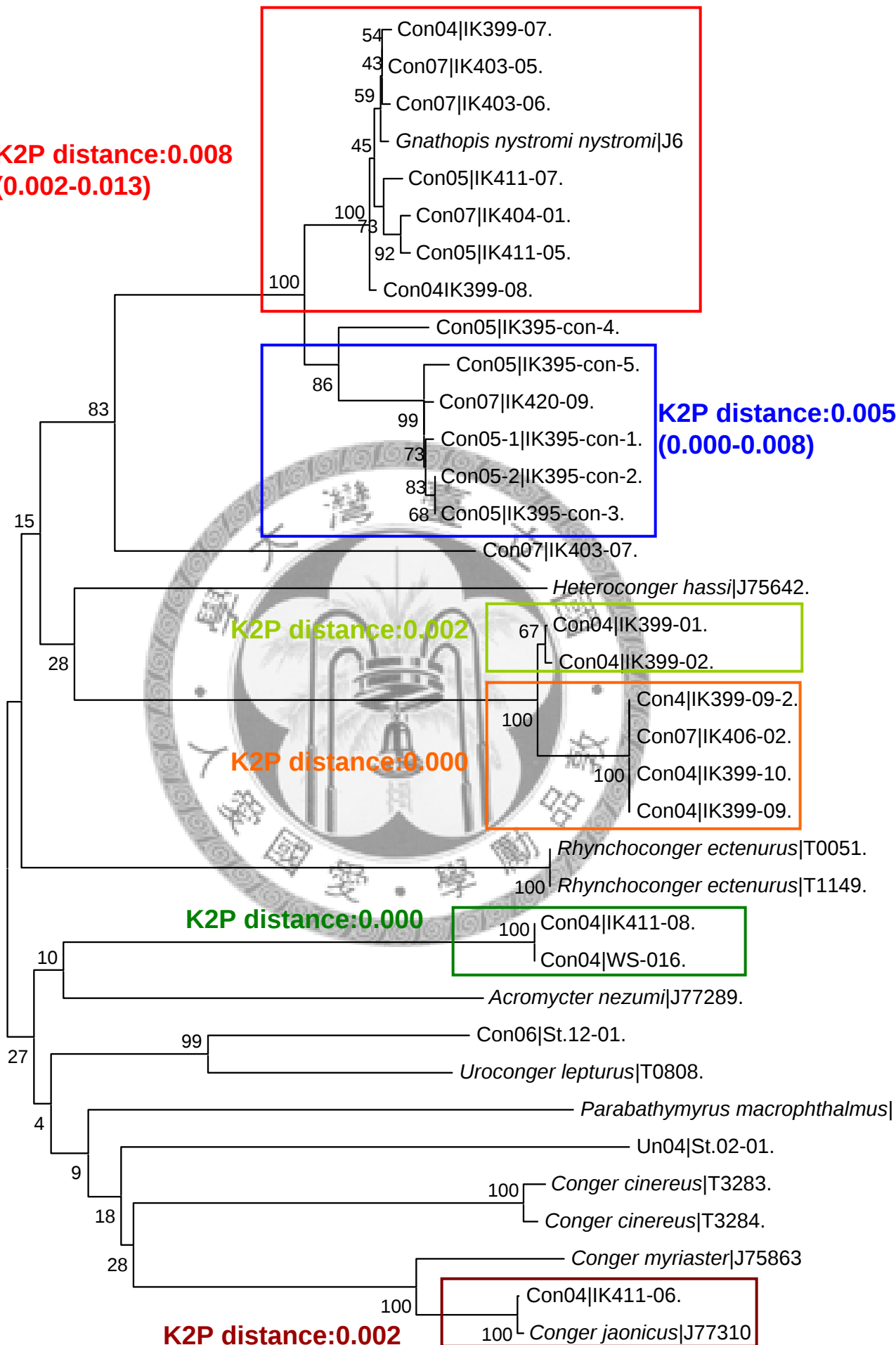


圖10、糯鰻科之類緣關係樹及其K2P距離 63

0.02

Con04

Conger sp.



62.50mm TL

Con04

Conger japonicus



Conger japonicus



圖片來源：台灣魚類資料庫

圖11、糯鰻科日本糯鰻柳葉鰻外部形態型及其成魚圖

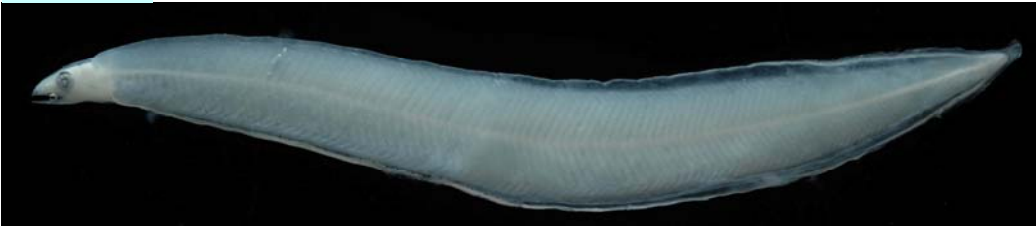
Con05

Gnathophis



73.62mm TL

Con05-1



78.30mm TL

Con05-2



85.00mm TL

圖12、糯鰻科領吻鰻屬柳葉鰻外部形態型圖

Con06



24.80mm TL

Con07



61.30mm TL

圖13、糯鰻科柳葉鰻Con06及Con07外部形態型圖

Mur01



34.40mm TL

Mur02

Gymnothorax richardsonii



31.85mm TL

Gymnothorax richardsonii



圖片來源：台灣魚類資料庫

圖14、鯧科柳葉鰻及李氏裸胸鯧外部形態型及成魚圖

Mur03



41.60mm TL

Mur04



38.90mm TL

Mur05



55.35mm TL

Uropterygius macrocephalus



圖片來源：台灣魚類資料庫

圖15、鯀科柳葉鰻3種外部形態型及成魚圖

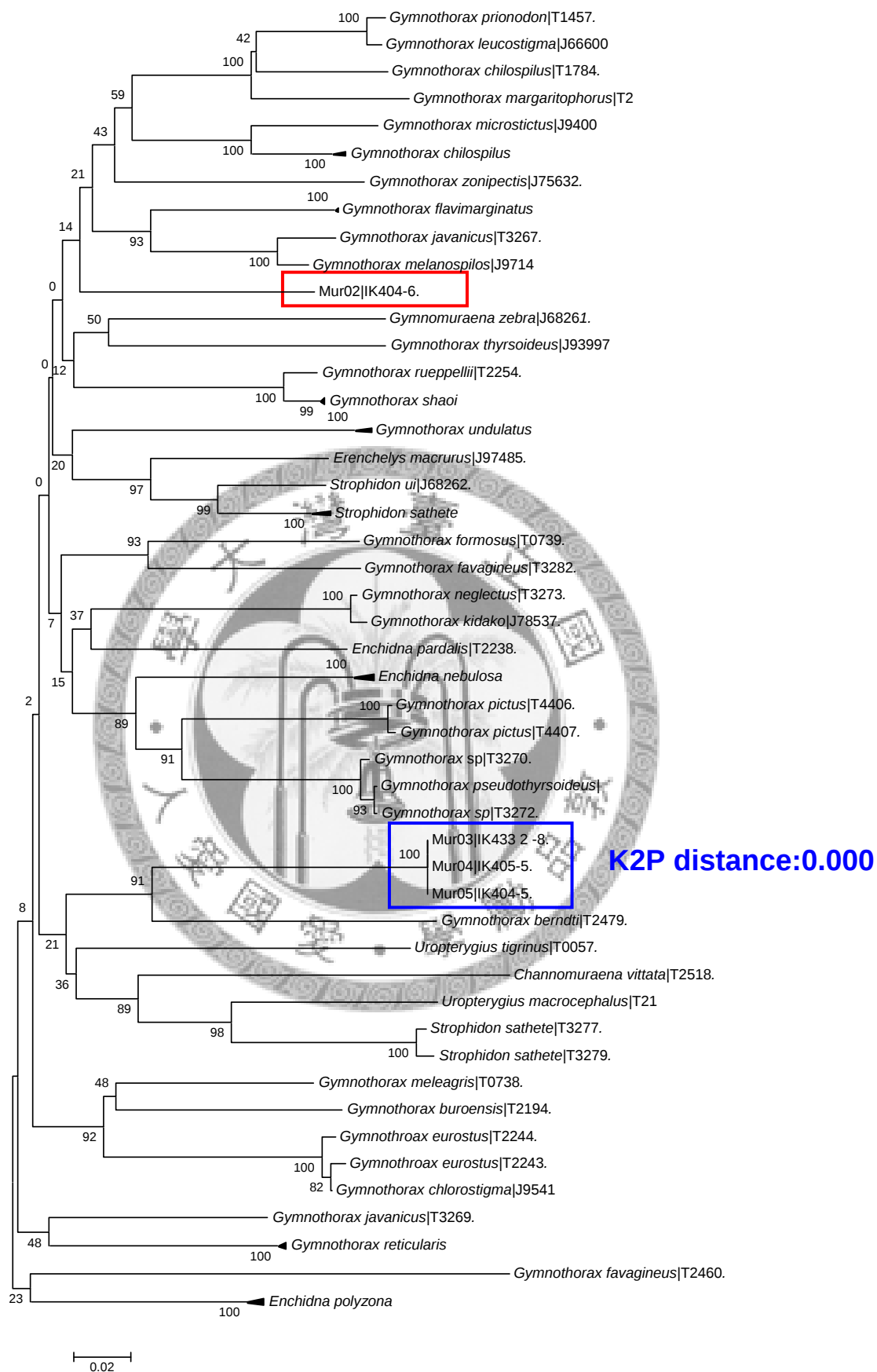


圖16、鯢科 (Muraenidae)柳葉鰻及成魚之類緣關係樹與K2P距離

Nem01

Gavialiceps taiwanensis



109.00 mm TL

Gavialiceps taiwanensis



圖片來源：台灣魚類資料庫

圖17、台灣絲尾海鰻柳葉鰻外部形態及其成魚圖

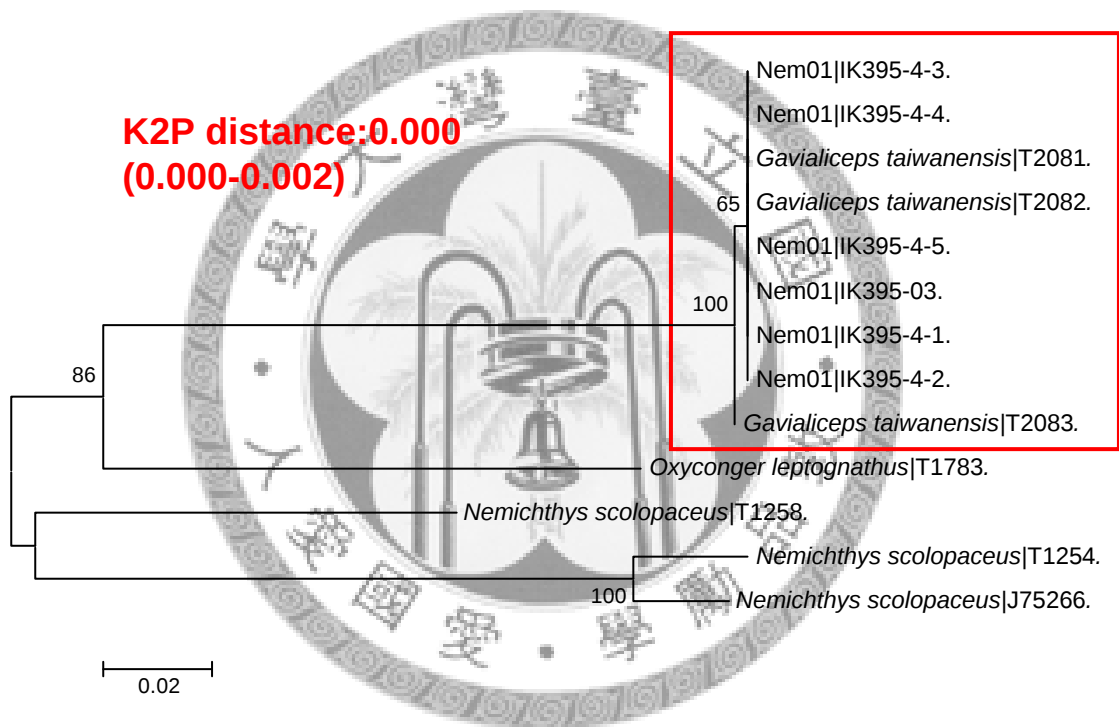


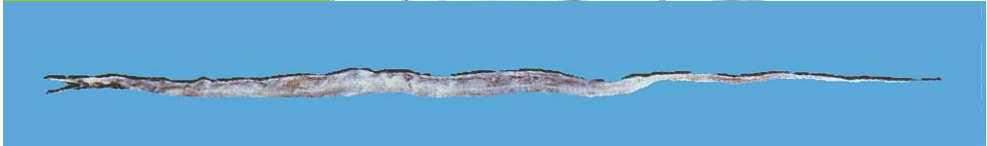
圖18、台灣絲尾海鰻柳葉鰻及成魚之類緣關係樹與K2P距離

Saurenhelys fierasfer



41.90mm TL

Saurenhelys fierasfer



圖片來源：台灣魚類資料庫

圖19、線尾蜥鰻柳葉鰻外部形態及其成魚圖

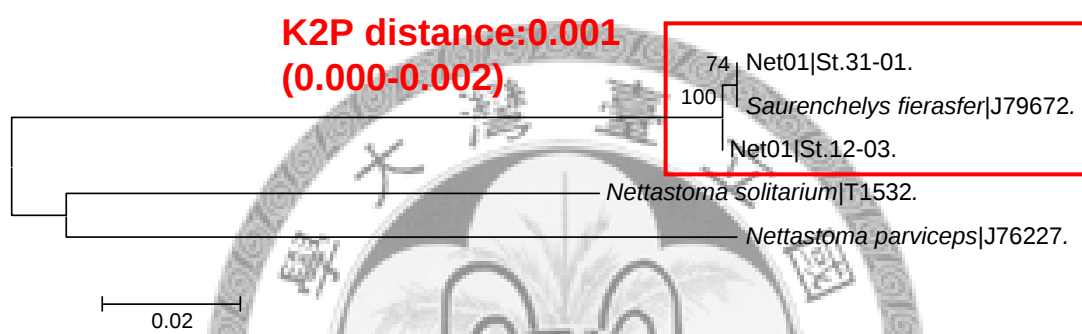


圖20、線尾蜥鰻柳葉鰻及成魚之類緣關係樹與K2P距離

Myr01



23.10mm TL

Myr02



44.35mm TL

Myr03



31.60 mm TL

Myr04



34.15 mm TL

圖21、油鰻亞科柳葉鰻4種外部形態型圖

Opd01



26.20 mm TL

Opn01



31.70 mm TL

Opn02



59.50 mm TL

Opn03



44.45 mm TL

Echelus uropterus



圖片來源：FishBase

圖22、蛇鰻科柳葉鰻4種外部形態型及其成魚圖

Opn04



25.00 mm TL

Opn05



22.70 mm TL

Opn06



36.00 mm TL

圖23、蛇鰻科柳葉鰻3種外部形態型圖

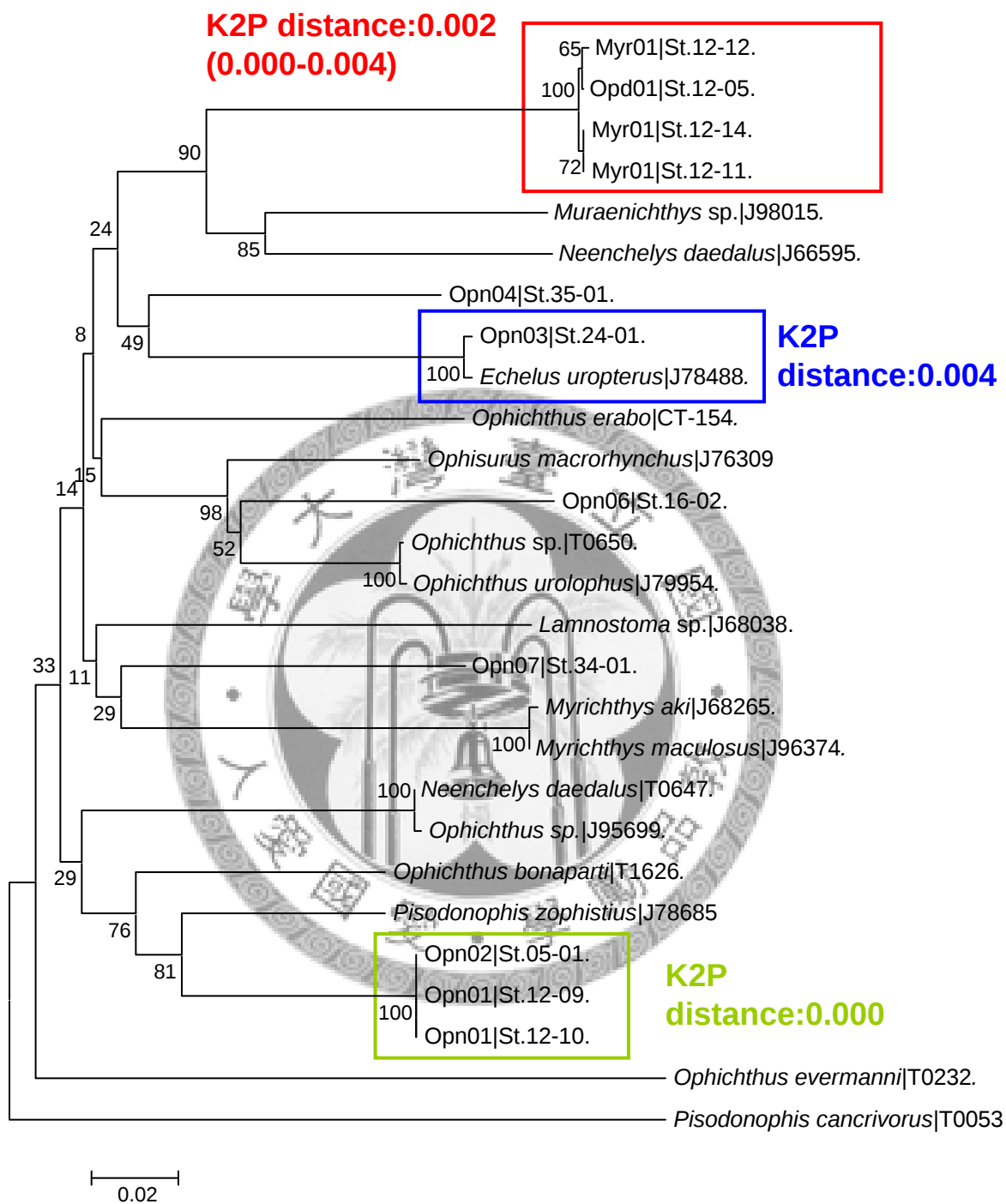


圖24、蛇鰻科(Ophichthidae)柳葉鰻及成魚之類緣關係樹與K2P距離

Ser01



38.25mm TL

Ser01



31.40 mm TL

Ser01



41.10mm TL

Serrivomer sector



圖片來源：台灣魚類資料庫

圖25、鋸齒鰻科柳葉鰻3種外部形態型及其成魚圖

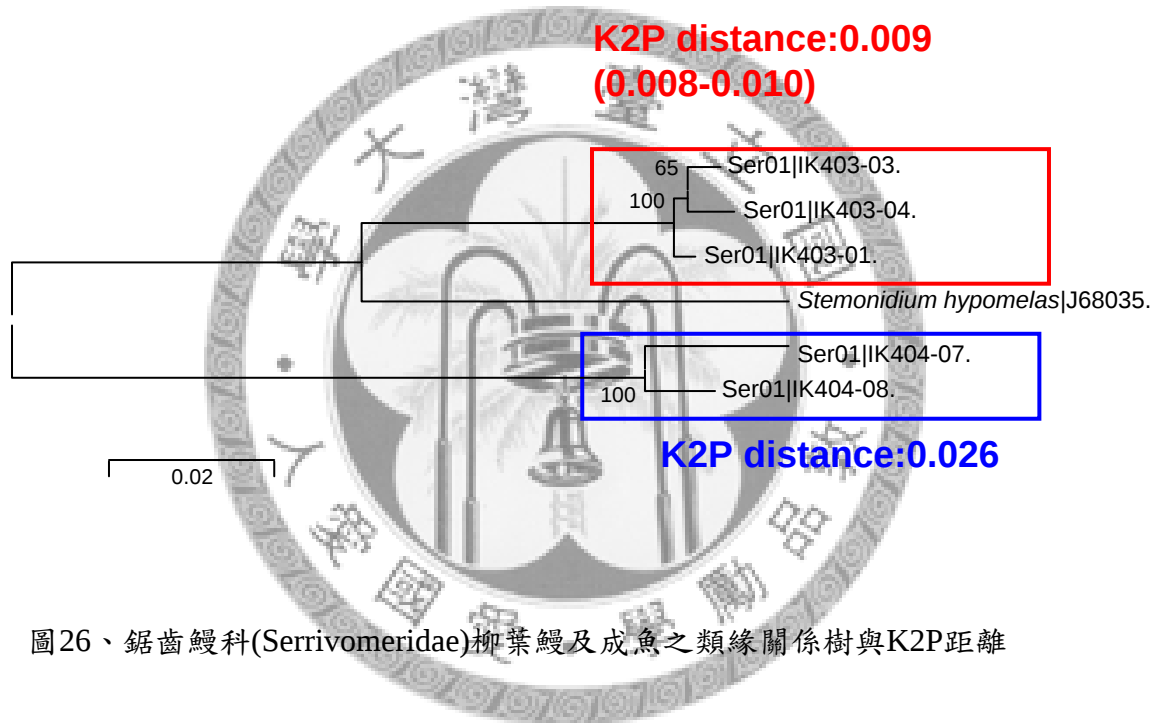


圖26、鋸齒鰻科(Serrivomeridae)柳葉鰻及成魚之類緣關係樹與K2P距離

Syn01

Dysomma sp.



46.90 mm TL

Dysomma anguillare



圖片來源：台灣魚類資料庫

Syn02



46.90 mm TL

圖27、通鰓鰻科柳葉鰻2種外部形態型圖

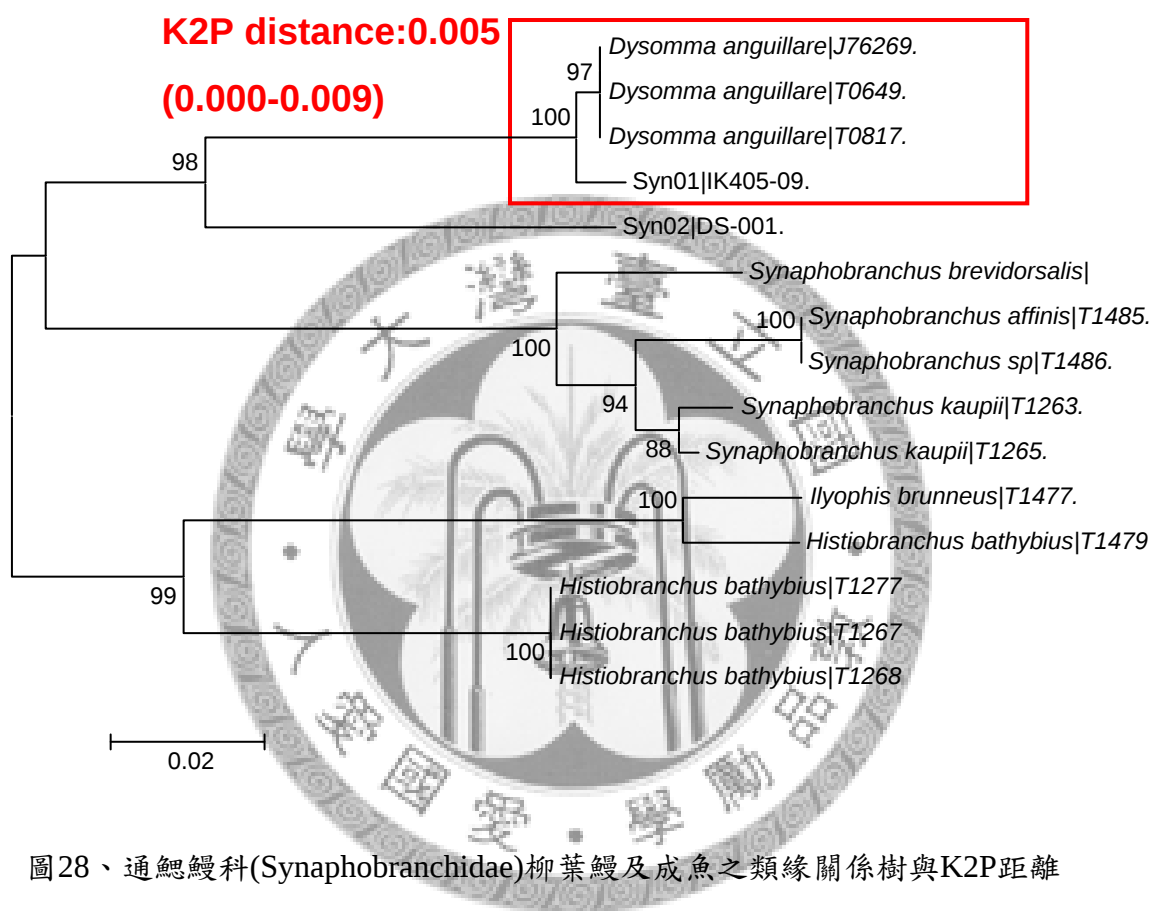


圖28、通鰻鰻科(Synphobranchidae)柳葉鰻及成魚之類緣關係樹與K2P距離

Un01



90.70 mm TL

Un02

Anguilla japonica



48.10 mm TL

Anguilla japonica



圖片來源：台灣魚類資料庫

圖29、形態未知類型柳葉鰻2種外部形態型及成魚圖

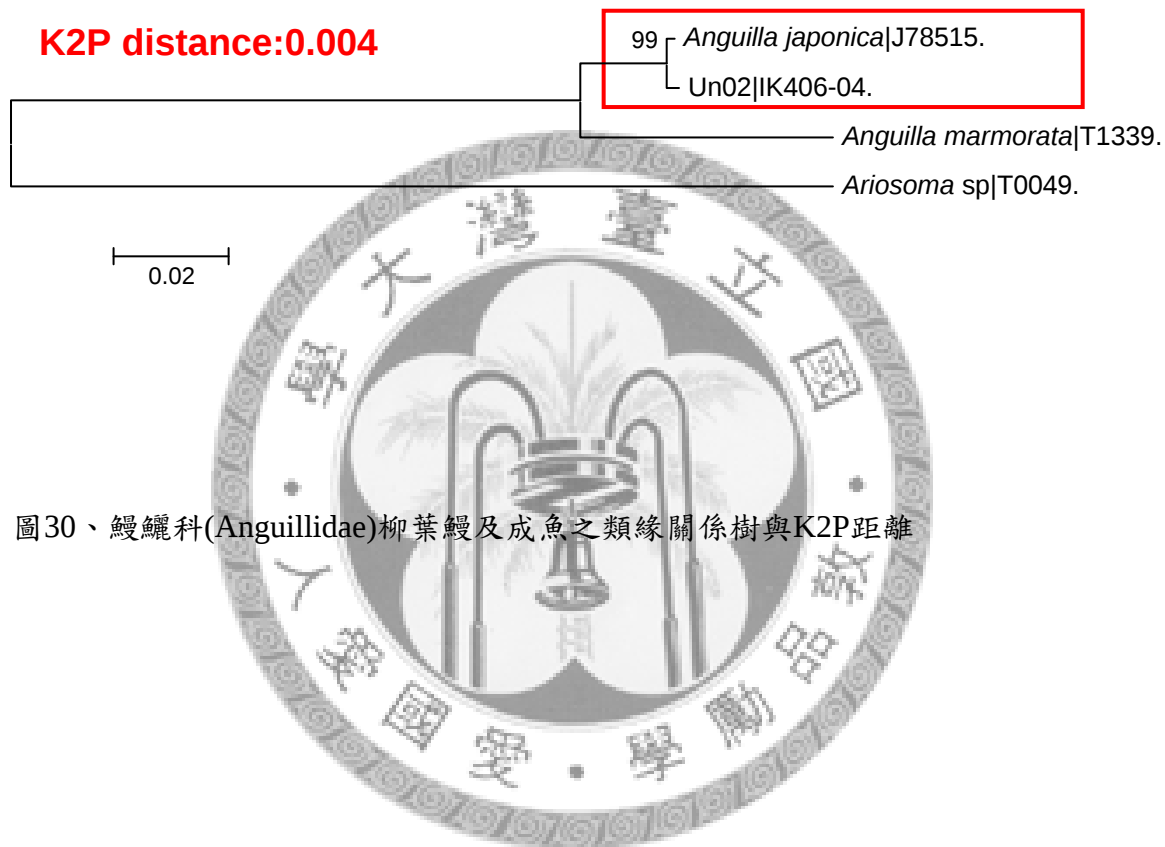


圖30、鰻鱺科(Anguillidae)柳葉鰻及成魚之類緣關係樹與K2P距離

Un03



TL:53.10 mm

Un04



25.00 mm TL

圖31、形態未知類型柳葉鰻2種外部形態型及成魚圖