

# 行政院國家科學委員會專題研究計畫 成果報告

## 台灣海生底棲性圓形動物系統分類學研究 研究成果報告(精簡版)

計畫類別：個別型  
計畫編號：NSC 95-2621-B-002-017-  
執行期間：95年08月01日至96年07月31日  
執行單位：國立臺灣大學生命科學系

計畫主持人：施秀惠

計畫參與人員：大學生-兼任助理：蕭敦仁  
臨時工：林麗玉

處理方式：本計畫可公開查詢

中華民國 96年10月23日

一、計畫主持人：施秀惠（國立臺灣大學生命科學系）

二、計畫名稱：台灣海生底棲性圓形動物系統分類學研究

三、計畫摘要：

本研究已採集淡水河口和曾文溪口保護區兩處沿岸之底質，過濾萃取其中圓形動物，進行系統分類學研究。初步查明兩處之海生底棲性圓蟲各有 5 至 7 種，而其圓蟲相組成則完全不同。圓蟲之密度分別為淡水河口海域 0.14~2.40 隻/cm<sup>3</sup>，而曾文溪口者則為 0.895 隻/cm<sup>3</sup>。分析樣本發現淡水河口僅有一優勢圓蟲物種-*Parodontophora limnophila*，豐富度在四次採樣中皆佔 50%以上。

關鍵詞：底棲性圓蟲、系統分類學、環境指標。

Abstract

The sediment samples had been taken from estuaries of Danshuei River and Tzengueu River. Washing away the mixtures of slit, clay and the others, free-living nematodes contained were collected. Systematic study of the extracted, benthic nematodes has been proceeded. Preliminary study showed that there are 5 to 7 species appeared in these two localities but with different fauna. Identification of all nematodes is still carried out. Nematode density in Danshuei River is 0.14~2.40 worms/cm<sup>3</sup> and 0.895 worms/cm<sup>3</sup> from Tzengueu River. Single dominant species, *Parodontophora limnophila* accounting for over 50% of the individuals in each four samplings, was recovered from Danshuei River.

Keywords: Benthic nematodes, Systematics, Environmental indicators.

四、引言、研究方法：

微小動物相(Meiofauna)具備獨特之演化與生態特徵，足以與其他海洋底棲性生物區別，因而成為監測環境緊迫性極有用之指標(indicators of environmental stress)。由於陸地資源日漸耗竭，人類愈益仰賴海洋資源之持續供應；然而長期以來人類生活產生之大量汙水與廢棄物，以及工業產生之各類污染物等盡皆排放累積於周圍海域，因此近年來世界各國日益重視海洋底棲性微小動物相之研究，其中尤以俗稱線蟲或圓蟲(round worms)、在海洋沈積物微小動物相中占優勢之圓形動物(nematodes)為首要。

台灣為一海島，海岸線全長一千多公里，數百條河川攜帶各種人類產物和工業廢棄物入海，持續改變著台灣沿岸的底質，並進而影響台灣周圍海域的生

態環境。然而對於海洋底棲性圓蟲多樣性研究—此項科學界已確定乃監測環境緊迫之理想指標，同時多國政府致力支持之研究項目—至今仍付闕如。綜觀國際上重視且愈益蓬勃之生物多樣性研究，固有許多模式和經驗足供參考學習甚至延用，然而外國數據與資訊卻對了解台灣生物多樣性無所助益。基於生物多樣性研究之起始實為極度地域性之本質，查明台灣沿岸海洋底棲性圓形動物乃刻不容緩之研究課題。

此外，從海洋生產力以及海洋食物網角度觀察，海生性圓蟲實為前二者之基礎且屬極其重要之成員。多種浮游動物常以圓蟲幼蟲為食，此所以在醫用與臨床寄生蟲學研究上，建構多種感染人類之重要寄生線蟲—例如 *Anisakis simplex* (Smith, 1983), *Hysterothylacium aduncum* (Koie, 1993), *Porrocaecum decipiens* 等—的生活史時發現橈足類、磷蝦類、端足類、等足類、十足類之幼生以及多毛類等往往擔任中間寄主角色之緣由。準此益發顯現本研究之重要性。

目前已知圓蟲種類約 2 萬種，由於其體型小、構造簡單、幼蟲型態極相似於成體等特質以致分類困難，至今僅區分為兩綱。估計海水生圓蟲種類約有 4000 種，英國學者在此研究領域居於領先地位，至今已從聯合王國海域檢獲並發表分屬 170 屬之 450 種海生自由生活圓蟲，多屬於 Chromadorid, Draconema, Desmoscolex, Daptonema, Enoplus 等科。隨研究之進展發現，圓形動物門之物種組成愈趨龐大，除已由多年來認定之 12,000 種增長至 20,000 種以上，而在動物界中僅次於節肢動物門和脊索動物門外，學者們基於此門動物分布之無所不在而推測其待鑑定之物種數可能有已知者之十倍甚至百倍之多。本土圓蟲物種之多樣性研究實需戮力以迎頭趕上。

為解決圓蟲分類之困難，近年來學者們引進分子分類法，除傳統使用之型態學特徵外，藉著對核酸分子之分析而解析其多樣性與演化(Dorris et al., 1999)。至今使用之分析對象有：核糖體之 18S rRNA (Aleshin et al., 1998) 或 28S rDNA (Litvaitis et al., 2000)，以及 internal transcribed spacer region (ITS) (Powers et al., 1997)，粒線體 DNA (Blouin et al., 1998)等，並準此建立親緣演化關係。

本研究之目標首在查明台灣沿海底棲性圓蟲之多樣性，建立基本生態資訊作為基準線，而後始得以開始追蹤研究人類以及工業之產物或廢棄物等排放海洋後，對區域性圓蟲多樣性及豐富度之效應，藉此探討人類生活產物對環境之影響，進而協助政府訂定區域管理辦法，以免斷傷當地海域之漁業、養殖業和觀光事業之經營與發展。

本研究室乃國內極少投入海生動物寄生性圓蟲和複殖吸蟲研究且持續發表成果之團隊，基於建構寄生蟲生活史之需要而擴展研究對象於以台灣海峽為主要範疇之自由生活性圓蟲，至今已有相當基礎且已培養出具備圓蟲分類能力之研究團隊，無論基於傳統型態學特徵或現代分子分類學方法兩方面(Shih and Jeng, 2002; Shih, 2004)，皆足以確實執行本研究並達成預訂目標。

本研究第一年之階段性目標，擬從台灣沿岸多個河口和非河口處採樣，經

由 "Extraction of the fauna" 流程洗去底質沉積物中之淤泥黏土，以福馬林固定後經細孔濾網淘洗篩選，沉降後傾去沙粒，以 Ludox TM 漂浮法萃取圓蟲，製成玻片標本在顯微鏡下鑑定分類之。所獲海生底棲性圓蟲相資料，將根據已知之河口污染資料而區分為基礎背景和污染海域兩類數據分別分析並比較之。上述為傳統研究方法，而 Ludox TM 實為最理想之懸浮用試劑，不致如 NaCl 和蔗糖溶液會有滲透壓過高導致微小樣本脫水的影響，此所以原規劃中擬採用此試劑之緣由。然而在進行實驗時卻難以避免 Ludox TM 含矽、少量濺出易揮發而產生矽塵(silica dust)之潛伏性危險，因而在逐步修改與嘗試後採用兩種濾網、先大後小之篩選法，如今已可安全有效率的收集圓蟲樣本。

## 五、研究成果與討論：

自由生活之海生底棲性圓蟲研究，對專長於寄生蟲學的我們而言實為新領域。研究動機起源於我們在海水魚寄生性圓蟲之研究過程中，除檢獲寄生蟲樣本外，往往還有若干體型微小可能僅為魚類食物之圓蟲，顯示無論是從研究特定魚種之生物學以致於探索整個生態系的生物結構時，皆必須涵蓋自由生活圓蟲物種，因而在國科會「配合生物多樣性行動方案推動計畫」之支持下開始研究本課題。

首先為防範矽塵之危害而修改方法，屢經試驗後決定使用兩種濾網篩選法：底泥經靜置去除沉沙後再連續通過孔徑分別為 2000  $\mu\text{m}$  和 105  $\mu\text{m}$  之濾網，前者可濾去無法沉降之細沙與雜質，後者則可濾去粒徑極小之懸浮微粒而留下仍有活動力之微小動物，在解剖顯微鏡下挑出圓蟲並鑑定種類。此法雖耗時費力但極為安全。

研究遭遇之主要困難一如計畫書中之預計乃鑑別物種。檢索文獻顯示，本主題在國內尚屬空白，而國外則以英國之成果最為突出。英國環境運輸與國土部 (Department of the Environment, Transport and the Regions) 資助之 Darwin Initiative Projects 內包括 Darwin Nematode Project (2000)，專研圓蟲並在網路上建立 Darwin Taxonomy on the Internet - "Nematode Key"，提供資料庫與檢索系統，以協助各地區自由生活海生圓蟲之鑑定。然而在執行計畫後發現此工具和系統並無助於本研究，因為採樣與分類研究至今顯示：台灣海峽(西北太平洋海域)之圓蟲種類完全不同於該資料庫中源自北大西洋海域者。此現象益發突顯生物多樣性實具備極度地域性之本質，台灣海峽內之物種有其獨特性，此外我們則必須回歸傳統之分類檢索系統。

計畫執行至今已在兩個地區多次採樣以查明海生底棲性圓蟲相：污染程度屬於中高度之台北縣淡水河口以及黑面琵鷺保護區之台南縣七股溪與曾文溪海域，前者採樣 4 次，後者僅 1 次。圓蟲相各有 5~7 種，但兩處之圓蟲相組成完全不同，合計至少包含 17 種圓蟲；主要屬於下列各屬：*Parodontophora*、*Pierrickia*

與 *Paracyatholaimus*。分布密度淡水河口者為 0.14~2.40 隻/cm<sup>3</sup>，而七股海域者則為 0.895(表 1)。圓蟲之體型皆極微小，體長在 1.0~1.5 mm 間，需以 1000 倍光學顯微鏡或掃描式電子顯微鏡觀察其型態特徵。淡水河口之優勢圓蟲物種為食性屬於攝食非選擇性沉積物(nonselective deposit feeder)之 *Parodontophora limnophila* (圖 1)，其豐富度在各次採樣中皆佔 50%以上，此圓蟲屬於廣鹽性物種生活環境除海水外亦曾於淡水湖泊內發現，實為研究淡水河中下游及河口之理想種類。

由於目前國際上開始推動生命條碼系統(Barcode of life)，線蟲部分亦已建立資料漸豐之 database; 因此本研究後期已結合傳統型態分類法和根據核糖體(18S) rRNA 序列之分子分類法，期能相輔相成正確且快速進行物種鑑定分類。

表 1. 台灣海域底棲性圓形動物分布密度與蟲種豐富度

| 採樣海域   | 分布密度(隻/cm <sup>3</sup> ) | 蟲種豐富度(種) | 優勢蟲種數(種) |
|--------|--------------------------|----------|----------|
| 淡水河口-1 | 0.238                    | 5        | 1        |
| 淡水河口-2 | 0.507                    | 6        | 1        |
| 淡水河口-3 | 0.141                    | 5        | 1        |
| 淡水河口-4 | 2.400                    | 7        | 1        |
| 曾文溪口*  | 0.895                    | 6        | -        |

\*圓形動物相與淡水河口者不同

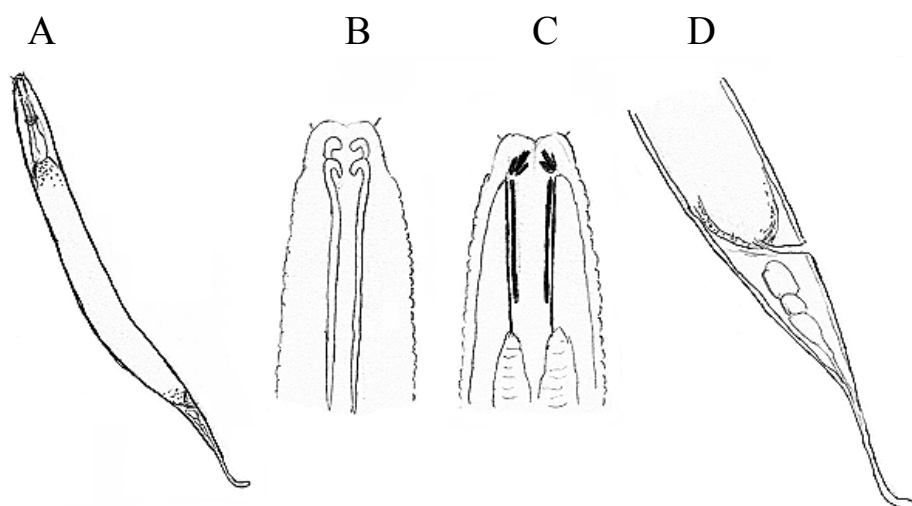


圖 1. 淡水河口優勢圓蟲物種 *Parodontophora limnophila* 之型態圖  
(A) 體長 1177  $\mu$ m, (B) 體前端之前感器, (C) 體前端之口囊, (D) 尾端

## 六、參考文獻：

- Aleshin VV, Kedrova OS, Milyutina IA, Vladychenskaya NS, Petrov NB (1998). Secondary structure of some elements of 18S rRNA suggests that stronglyid and a part of rhabditid nematodes are monophyletic. *FEBS Letters* 429, 4-8.
- Blouin MS, Yowell CA, Courtney CH, Dame JB (1998). Substitution bias, rapid saturation, and the use of mtDNA for nematode systematics. *Molecular Biology and Evolution* 15, 1719-1727.
- Dorris M, De Ley P, Blaxter ML (1999). Molecular analysis of nematode diversity and the evolution of parasitism. *Parasitology Today* 15, 188-193.
- Koie M (1993). Aspects of the life cycle and morphology of *Hysterothylacium aduncum* (Rudolphi, 1802) (Nematoda, Ascaridoidea, Anisakidae). *Canadian Journal of Zoology* 71, 1289-1296.
- Litvaitis MK, Bates JW, Hope WD, Moens T (2000). Inferring classification of the Adenophorea (Nematoda) from nucleotide sequences of the D3 expansion segment (26/28S rDNA). *Canadian Journal of Zoology* 78, 911-922.
- Powers TO, Todd TC, Burnell AM, Murray PC, Fleming CC, Szalanski AL, Adams BA, Harris TS (1997). The rDNA internal transcribed spacer region as a taxonomic marker for nematodes. *Journal of Nematology* 29, 441-450.
- Shih HH (2004). Parasitic helminth fauna of the cutlass fish, *Trichiurus lepturus* L., and the differentiation of four anisakid nematode third-stage larvae by nuclear ribosomal DNA sequences. *Parasitology Research* 93, 188-195.
- Shih HH and Jeng MS (2002). *Hysterothylacium aduncum* (Nematoda: Anisakidae) infecting a herbivorous fish, *Siganus fuscescens*, off the Taiwanese coast of the Northwest Pacific. *Zoological Studies* 41, 208-215.
- Smith JW (1983). *Anisakis simplex* (Rudolphi, 1809, det. Krabbe, 1878) (Nematoda: Ascaridoidea): Morphology and morphometry of larvae from euphausiids and fish, and a review of the life-history and ecology. *Journal of Helminthology* 57, 205-224.
- Ullberg J and Ólafsson E (2003). Free-living marine nematodes actively choose habitat when descending from the water column. *Marine Ecology Progress Series* 260, 141-149.
- Wu JH, Somerfield PJ, Austen MC and Liang YL (2000). The freeliving nematode genus *Parodontophora* Timm 1963 (Nematoda: Axonolaimidae) is not exclusively marine: *Parodontophora limnophila* sp. nov. from freshwater in China.

Hydrobiologia 431, 205-210.

## 七、對本計畫有何建議：

### 計畫成果自評

研究進展符合計畫書內容，至今已完成之工作項目如下：開始查明淡水河口附近海生底棲性圓蟲之多樣性、初步發現污染程度屬於中高度之淡水河口的圓蟲相和曾文溪口保護區者全然不同、鑑別且釐清淡水河口之優勢圓蟲物種為 *Parodontophora limnophila*，此外已成功培育出數位有能力之研究人員，並將建立優勢種圓蟲之分子分類方法。