

財團法人榮成永續發展環保基金會

補助專題研究計畫期末報告

計畫名稱：

應用陸蟹與梭子蟹科視覺感官特行進行生態保育之研究

本年度計畫：自 114 年 1 月 1 日至 114 年 12 月 31 日

計畫主持人：藍國璋

研究人員：李維祐、曾莉雅、徐維品、梁婷滄

計畫期程：自 113 年 1 月 1 日至 114 年 12 月 31 日

中 華 民 國 114 年 11 月 19 日

# 目錄

摘要.....	I
壹、前言.....	1
(一) 經濟性蟳蟹類概況.....	1
(二) 經濟性蟳蟹類相關保育規範.....	1
(三) 經濟性蟳蟹類趨光性相關文獻.....	2
(四) 經濟性蟳蟹類基因體定序相關文獻.....	3
(五) 計畫目標.....	4
貳、材料與方法.....	6
(一) 螃蟹籠具保育型漁具的開發與改良.....	6
(二) LED 燈光應用於陸蟹保育.....	18
(三) 不同光源對蟹類眼球影響包埋切片實驗.....	22
(四) 梭子蟹 DNA 萃取.....	24
參、結果.....	30
(一) 螃蟹籠具逃脫環海上實驗結果.....	30
(二) 自製 LED 燈光測試組應用於陸蟹保育.....	45
(三) 不同光源對梭子蟹眼球影響.....	55
(四) 梭子蟹科全基因組定序與 SNP 分子標誌清單建構.....	59
肆、討論.....	65
(一) 籠具逃脫環的設計.....	65
(二) 不同色光對梭子蟹捕獲率的影響與陸蟹路殺防治之應用.....	67
(三) 不同光源對蟹類眼球影響.....	69
(四) 梭子蟹科螃蟹遺傳多樣性.....	70
伍、工作內容進度與結論.....	73
陸、參考文獻.....	76

## 摘要

本研究過去已完成籠具餌料選擇性實驗、改良設計籠具逃脫環、抱卵母蟹標識方法建置與放流等成果，而對於陸蟹陸殺之保護方式則是透過LED發光二極體燈光組分析陸蟹之趨光特性。後續通過設計逃脫環尺寸與不同波長光源對捕獲率影響之海實驗，以及不同波長光源下對陸蟹行為的影響相關實驗，根據逃脫環實驗結果顯示S3尺寸逃脫物種，甲殼寬度介於36~80 mm，S5則介於48~96 mm，逃脫環的裝設可讓體型較小之螃蟹逃脫。研究期間於澎湖海域進行海上實驗中結果以主要捕獲物種善泳蟬為例，對照組所捕獲小於9 cm之樣本數佔該組別善泳蟬捕獲量的82.5%、S1組、S3組與S5捕獲小於9 cm之樣本數分別各佔該組別善泳蟬捕獲量之65.2%、57.7%和53.3%，各組別間檢定結果具有顯著之差異。實驗結果顯示設置逃脫環所捕獲蟹類之平均甲殼寬較大，具有減少籠具漁業中小型蟹類的捕獲作用。整體而言，保育型籠具可由政府單位提供並加強推廣加裝逃脫環，供漁民漁捕網時換上，以減少25%以上小型蟹之捕撈比例，亦可間接減少漁民於海上作業需挑選出小型蟹之所需時間。在海上不同波長光源海上實驗結果顯示，以藍色燈光組為最高(0.867隻/籠)，其次為綠色燈光組(0.680隻/籠)，接續為控制組(0.695隻/籠)，捕獲率最差為紅色燈光加餌料組(0.613隻/籠)，經卡方分析不同波長光源的LED組別對於捕撈量具有顯著影響。

另陸蟹造成路殺的主因為陸蟹的遊蕩及抱卵母蟹降海遷徙行為，本研究透過自製LED發光二極體燈光組分析陸蟹之趨光特性，室內實驗研究結果顯示，陸蟹對不同波長光源實驗中以藍光正趨性反應最好，紅光在實驗中多次使蟹類逃出實驗場域，透過觀察發現有對光源攻擊之行為，顯示紅光對蟹類本身可能為一種威脅，而藍光則為相對較穩定的誘因；野地實驗中無光組與藍光組陸蟹以3-5分鐘完成涵洞爬行為大宗，兩組光源下陸蟹逆行率皆存在一定比例，利用卡方統計結果為無顯著差異，又此次發現逆行之陸蟹不論原先為無光或藍光組，皆在通過涵洞後會再次返回無光組，推測自然環境下較不易使陸蟹通過涵洞後順利到達海測釋幼區，另藍光組有少數出現停留於涵洞現象，推測原因為不熟悉光源。後續將透過不同光源對蟹類眼球影響進行包埋切片實驗，解析不同色光對於蟹類行為影響機制，供作未來做為籠具漁業管理與陸蟹保育政策的基礎科學研究資訊。此外在不同光源對梭子蟹眼球影響實驗中，成功建立高成功率（70%）之甲殼類眼柄組織切片技術，突破以往樣本固定與定位困難的瓶頸。結果顯示藍光能夠顯著的眼球細胞組織反應，其中藍光組顯現眼球組織比例最高（57.86%），顯示其對視覺系統刺激最強。此結果提供蟹類視覺生理學的重要依據，並可作為未來探討光感受基因表現與神經內分泌系統（XO-SG complex）定位的基礎。最後，遺傳多樣性分析揭示梭子蟹科物種具高度遺傳多樣性與清晰的族

群分化。PCA與系統發育分析結果明確區分出梭子蟹屬 (*Portunus*) 與蟬屬 (*Charybdis*) 兩大演化支系，並顯示跨海域族群間存在頻繁的基因流動。研究團隊建立之135,593個高品質SNP分子標誌清單具良好物種鑑別力，未來可應用於水產品溯源、族群監測及漁業資源管理，為亞洲海域甲殼類之遺傳保育提供關鍵工具。綜上所述，本研究從行為、生理與分子層面探討不同環境與設計因素對梭子蟹科物種之影響，證實逃脫環結構與光源選擇對漁具選擇性及物種行為具顯著作用，並首度建立甲殼類眼柄切片與SNP遺傳標誌之標準化技術流程。研究成果不僅有助於提升捕撈作業的選擇性與永續性，也為後續跨領域研究(如視覺生理學與資源遺傳管理)奠定重要科學基礎。

## 壹、前言

### (一) 經濟性蟳蟹類概況

臺灣周邊海域生物樣貌是由多樣性棲地和生態系統所組成，因此螃蟹種類繁多。依據國際農糧組織全球漁獲資料庫統計資料顯示，西北太平洋區至印度洋為全球三大洋區梭子蟹科主要漁獲海域，且臺灣為梭子蟹類物種之主要漁業資源利用國，依據 2014~2015 漁業統計年報資料顯示，經濟性蟳蟹類每年的總產量將近 9,700 公噸，總產值高達 16.8 億新臺幣(王等，2015)。重要高經濟性物種包含遠海梭子蟹(*Portunus pelagicus*, Linnaeus, 1766)、鏽斑蟳(*Charybdis feriatus*, Linnaeus, 1758)和紅星梭子蟹(*Portunus sanguinolentus*, Herbst, 1783)。然根據漁業統計年報顯示 2014~2021 年臺灣經濟性蟹類產量及產值呈現衰退趨勢，產量從 2014 年 22,621 公噸到 2021 年 3,330(公噸/年)呈現大幅度下降，總產值也從 2014 年下滑到 2021 年只剩約 20~25% (Figure 1)。

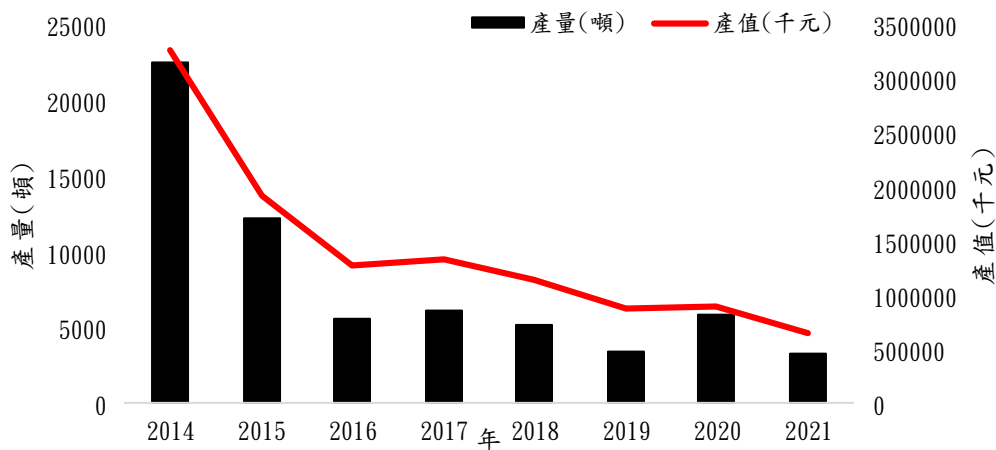


Figure 1. 2014~2021 年臺灣經濟性蟳蟹類產量及產值(資料來源:漁業統計年報)

### (二) 經濟性蟳蟹類相關保育規範

因此蟹類保育之相關措施及法規規範為刻不容緩之制定項目，為使螃蟹資源可持續發展，農業部漁業署公佈了「沿近海漁船捕撈蟳蟹類漁獲管制措施」，自2014年4月1日起實施。規定全年禁止漁民捕撈，甲殼寬度小於8公分的鏽斑蟳、紅星梭子蟹與遠海梭子蟹，以及甲殼寬度小於6公分的善泳蟳跟甲殼長度小於6公分的旭蟹。此外，每年8月16日至11月15日，禁止漁船捕撈將受精卵抱於體外腹側之母蟹(俗稱開花母蟹)。另2022年3月23日為進一步促進螃蟹資源永續利用，預告修正「沿近海漁船捕撈蟳蟹類漁獲管制措施」，除將鏽斑蟳、紅星梭子蟹、遠海梭子蟹與善泳蟳的甲殼寬禁捕寬度增加1公分外，亦延長禁止漁船捕撈開花母蟹時間至每年8月1日至12月30

日，同時考量從銷售端管制販賣管制蟹類之行為，強化及提升捕撈端禁止捕撈之效益，禁止任何人販售上述禁止捕撈的蟹類管理對象。有鑑於此除了法規上的加強外，相關科學研究及保育措施等配套方法需盡快補足，以達到產業永續發展之目的。

本研究過去進行保育型漁具的開發已針對籠具漁業完成籠具餌料選擇性實驗並改良設計籠具逃脫環(Figure 2)，更在111~112年間透過國際合作進一步赴馬來西亞登嘉樓大學周邊海域以及泰國宋卡王子大學以北的出海口以當地籠具漁業方式投放籠具，實際收集海上作業時逃脫環之逃脫率數值並加以分析。另外在東南亞等國包含如泰國、馬來西亞、柬埔寨、越南近年來政府推動螃蟹銀行概念計畫，進行抱卵母蟹保育與幼體放流，雖各國間執行細節略有不同，但核心理念為讓被捕獲的抱卵母蟹能夠孵育幼蟹，使得族群有新加入資源量能夠讓螃蟹類進行永續利用。本研究透過國際交流經驗將相關訊息傳遞給漁政單位，並於112年協助漁業署辦理抱卵母蟹培育、放流暨科學研究活動，過程中嘗試參考登嘉樓大學與Meynecke et al. (2015) 所用方法，將標籤標識於泳足與身體連接肌肉處，進行標識梭子蟹存活率研究，並於活動當日協助標示1,293隻抱卵母梭子蟹。

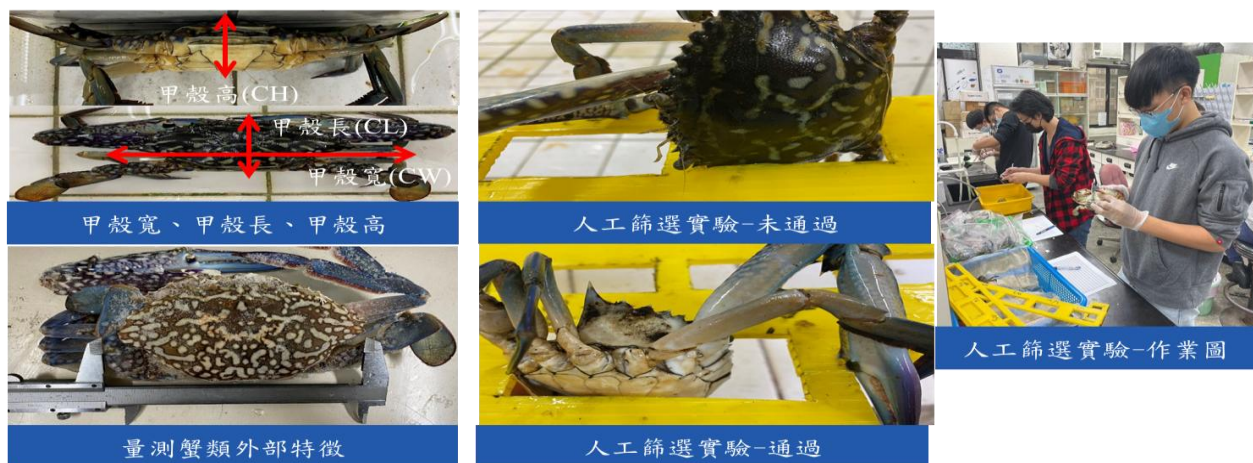


Figure 2. 比較不同尺寸逃脫環應用於幼蟹蟹籠的逃脫設置實驗過程

### (三) 經濟性螃蟹類趨光性相關文獻

蟹類對於光的敏感度可與具有高敏銳的昆蟲相媲美(Stowe, 1980)，如Nguyen et al. (2017)研究灰眼雪蟹對不同顏色的LED集魚燈的趨光特性，結果顯示灰眼雪蟹對不同波長光反應具有趨光與躲避之行為出現。Susanto et al. (2022)研究遠海梭子蟹眼球中橫紋肌層在不同波段光照下的敏感度差異，結果顯示在藍色LED燈光照後橫紋肌呈深紫色，比綠色、紅色結果更為強烈，表示遠海梭子蟹的眼球受到藍色燈光強烈影響，此結果從蟹類生理學角度證實了不同波段色光對於梭子蟹



影響是具有差異性。針對陸蟹的保育則是因陸蟹的遊蕩及抱卵母蟹降海遷徙行為造成大量路殺，本研究透過自製LED發光二極體燈光組分析陸蟹之趨光特性，研究結果顯示陸蟹對不同波長光源實驗中以藍光正趨性反應最好，紅光在實驗中多次使蟹類逃出實驗場域，透過觀察發現有對光源攻擊之行為，顯示紅光對蟹類本身可能為一種威脅，而藍光則為相對較穩定的誘因(Figure 3)。目前墾丁國家公園管理處於台26線車道下共挖掘36處地下涵洞，本研究過去亦嘗試使用燈光對陸蟹進行吸引實驗，誘導陸蟹通過模擬管道，以提高陸蟹的通過率降低遭到陸殺的數量。



Figure 3. 本計劃 2022 年於墾丁國家公園管理處台 26 線車道現場實驗結果

#### (四) 經濟性蟬蟹類基因體定序相關文獻

另外隨著基因體定序技術的快速發展，近年來有越來越多研究利用基因體定序作為梭子蟹的研究工具，其中Tang et al. (2020)發表了三疣梭子蟹(*Portunus trituberculatus*)的全基因組的定序資料，研究數據顯示三疣梭子蟹的基因組大小約為918.52Mb、由50對染色體組成(Figure 4)，其中包含了16,796個蛋白質編碼基因(protein-coding genes)。用多種節肢動物的DNA資料比對顯示，梭子蟹的演化速度相對於昆蟲較慢，推測可能是他們生活環境相對於昆蟲更加穩定，此研究對於梭子蟹屬基因體相關研究提供了重要的基礎。除此之外，亦有大量的研究利用梭子蟹的粒線體DNA及微衛星標記作為工具，研究發現梭子蟹在不同地理區域和族群之間存在著遺傳差異，梭子蟹族群結構會受到地理距離和海流的影響，因地理位置限制進而導至族群分化，進一步解釋，這些遺傳多樣性分佈會受到天擇與遷徙的影響。

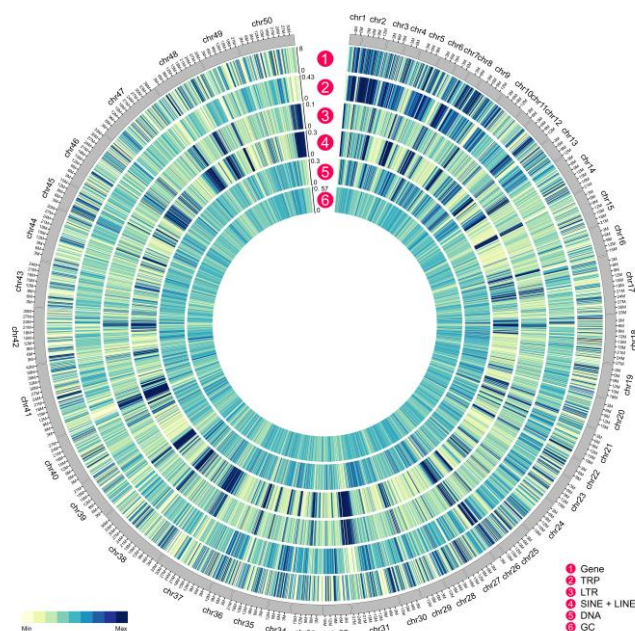


Figure 4. Genome characteristics of swimming crab. From outer circle to inner circle: gene distribution, tandem repeats (TRP), long tandem repeats (LTR), long inter-spersed nuclear elements (LINE) and short interspersed nuclear elements (SINE), the DNA elements, and the GC content of the genome (Cited from: Tang et al, 2020).

## (五) 計畫目標

本研究過去於108~110年度完成臺灣沿岸海域之漁業廢棄物組成、漁具遺失主要原因並提供漁業廢棄物源頭減量以及後續利用之建議等全盤性的調查分析，且在執行期間因海洋廢棄物議題已成為社會大眾關注之重要議題，因此各政府權責單位無論在海岸廢棄物監測、移除、回收再利用管道建置、政策規範與環境教育等面向其人力與經費投入皆有顯著提升。後續110~112年度除持續分析臺灣沿岸海域漁業活動所產生的漁船廢棄物組成與時空間差異外，整合現行國內外廢棄漁具回收獎勵措施與再利用方式，了解漁網製造過程及後端回收再利用之可行性，同時持續蒐集漁具生命週期之相關數據，並針對臺灣漁具購買、使用階段、維護修補完成漁網源頭現存量問卷設計，進一步探討源頭漁網產出等相關現況，並將問卷結果嘗試進行漁具產出與回收之數量物質流分析，顯示漁業廢棄物相關研究已完成階段性之任務。

另除源頭減廢管理能有效減少海洋垃圾污染對海洋環境所造成之破壞外，保育型漁具的開發與改良亦為減少非目標魚種混獲與幽靈漁具等對海洋生態系統之威脅有效方法之一。本研究過去已完成籠具漁業完成籠具餌料選擇性實驗、改良設計籠具逃脫環、抱卵母蟹標識方法建置與放流等成果，而對於陸蟹陸殺之保護方式則是透過LED發光二極體燈光組分析陸蟹之趨光特性。因此本研究研究目的如下：1)除了持續進行螃蟹籠具逃脫環相關研究外，為降低漁民因裝設逃脫環



後造成的經濟損失與加裝逃脫環之意願，將嘗試在籠具中加入不同波長光源的LED集魚燈，以提升單一籠具的捕獲量，增加漁民的收入，減少進行保育時對第一線從業人員生計之的影響。2)陸蟹陸殺保育實驗則是延續進行LED發光二極體燈光組分析陸蟹之趨光特性，透過室內與現場實驗，協助墾丁國家公園管理處增加陸蟹於台26線車道下所挖掘36處地下涵的通過率，3)再透過不同光源對蟹類眼球影響進行包埋切片實驗，以了解不同波段光源對於眼球中橫紋肌運動之差異，能加以佐證不同色光對於蟹類行為影響機制，能夠更加客觀提供蟹類決策模式的參考資料。4)最後盼透過所收集的梭子蟹與陸蟹樣本，進行核酸萃取、建立基因資料庫與定序後建立DNA管理資料庫，可供作未來梭子蟹之生物資源評估及生態風險分析調查所需之基礎科學研究資訊。

## 貳、材料與方法

### (一) 螃蟹籠具保育型漁具的開發與改良

#### (1) 螃蟹樣本逃脫環人工篩選實驗

本研究係自計畫執行期間，按月於台南龍山漁港、澎湖第三漁港與新北市萬里漁港，隨機採集標本船所捕獲梭子蟹樣本 30~50 隻，將現場採集所得之梭子蟹經冷凍後低溫寄回實驗室，以進行外部型態之測量(Figure 5)及逃脫環最適尺寸實驗。

##### A. 外部形態測量

遠海梭子蟹(*Portunus pelagicus*)外部型態中，利用游標尺量測甲殼寬(Carapace width, CW)與甲殼長(Carapace length, CL)以及甲殼高(Carapace height, CH)至最小單位 1mm。

##### B. 籠具逃脫環製作

矩形逃脫環的製作，長邊以樣本收集量測後之平均殼長(7.0cm)設定為逃脫環長邊基礎值，寬邊以樣本收集量測後之平均殼高(2.8cm)設定為逃脫環寬邊基礎值。

經樣本收集發現與外部型態關係式計算後，遠海梭子蟹甲殼長變化比例較大，因此逃脫環長邊以每 0.5cm 遞增；蟹類甲殼高變化比例較小，因此逃脫環短邊以每 0.2cm 遞增，製作長邊介於 7.0~9.0cm 和寬邊 2.8~3.6cm 組合變化之矩形逃脫環(Figure 6)。

##### C. 甲殼寬、甲殼長與甲殼高之關係

將量測得到的遠海梭子蟹之甲殼寬、甲殼高與甲殼長之資料，利用直線迴歸求出其關係式。

##### D. 邏輯曲線之繪製

本實驗之數據係利用邏輯曲線方程式(Logistic function)計算各尺寸逃脫環之各體長組距梭子蟹之滯留率，評估如下：

$$P = [1 + e^{-r(CW - CW_{50})}]^{-1}$$

P: 各組距中未通過個體佔比

L: 體長(mm)，可置換為 CL 或 CH

L<sub>50</sub>: 未通過個體佔比達 50%之理論體長(mm)

r: 常數

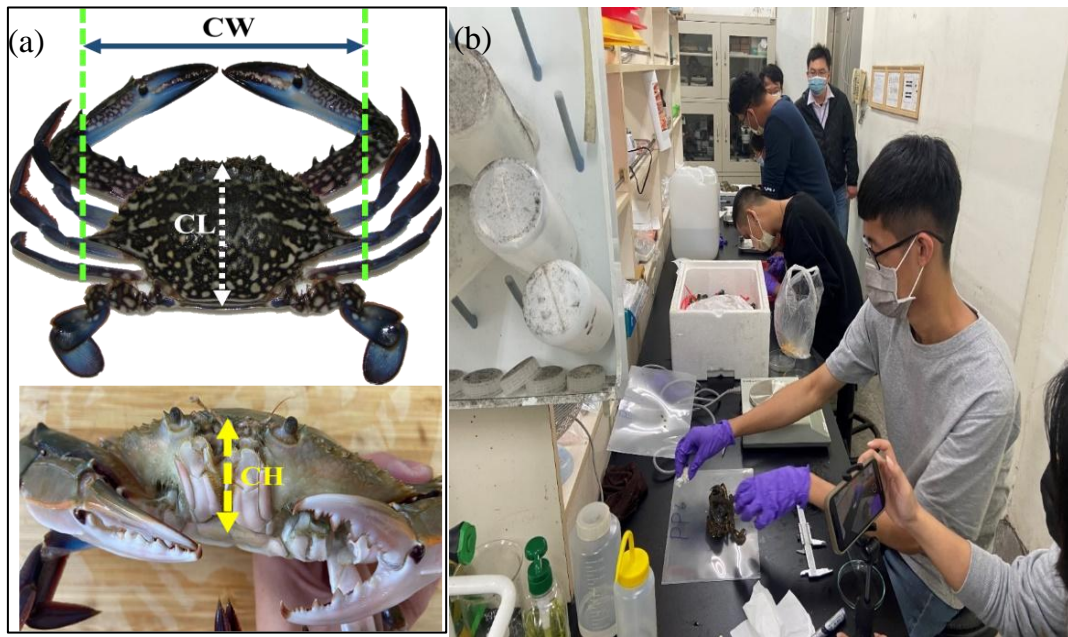


Figure 5. (a)螃蟹外部形態特徵包含甲殼寬(CW)、甲殼長(CL)、甲殼高(CH)；(b)量測遠海梭子蟹外部形態特徵實驗照片

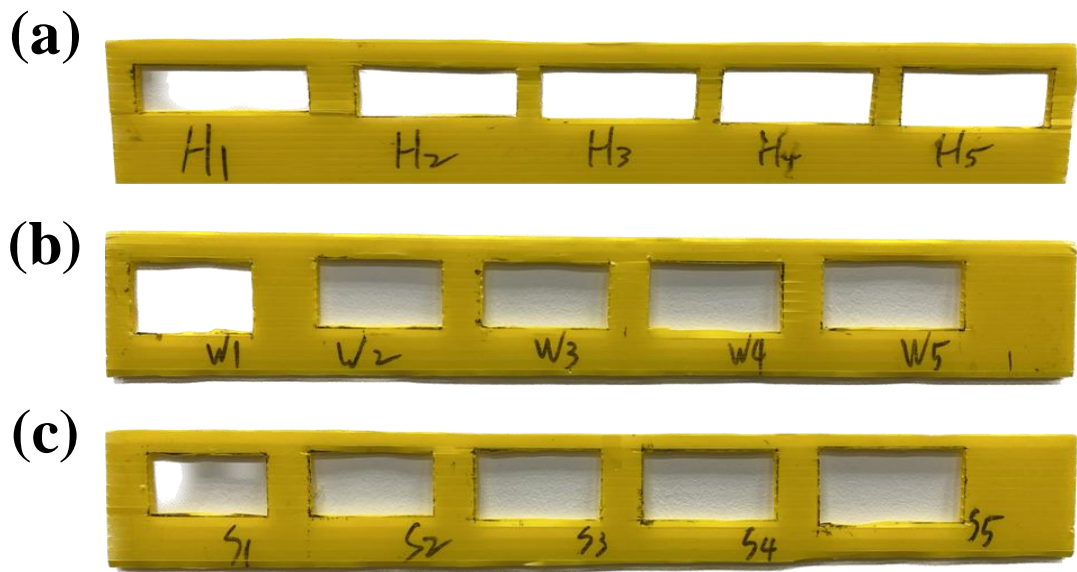


Figure 6. 人工篩選實驗模擬逃脫環示意圖 (a)逃脫環編號H，長邊固定為8 cm，短邊範圍為2.8 - 3.6 cm。(b)逃脫環編號W，長邊範圍為7 - 9 cm，短邊固定為3.2 cm。(c)逃脫環編號S，長邊範圍為7 - 9 cm，短邊範圍為2.8 - 3.6 cm

## (2) 活蟹室內與海上實驗

**活蟹室內實驗：**經過上述人工篩選實驗後，本研究進一步進行活蟹實驗，係先使用遠海梭子蟹為實驗物種，並以人工篩選實驗中最適尺寸之結果作為活蟹實驗逃脫環尺寸的參考，活蟹實驗中，樣本將放置於裝置逃脫環之擬蟹籠具(長：30cm，寬：15cm，高：7.5cm)，並在與畜養水槽同規之水槽中(內徑 132cm；高 74cm)，以同畜養之水體(水溫 23℃；水深 9cm)進行實驗(Figure 7)。實驗中擬將蟹籠具放置於水槽底部，於籠具逃脫環出口前方放置餌料吸引蟹類出籠，並於水槽上方架設攝影記錄是否逃出籠中。

**國外海上實驗：**另本研究研究團隊進一步與馬來西亞登嘉樓大學(Universiti Malaysia Terengganu)和泰國宋卡王子大學跨國合作並進行移地研究，實驗進行時間分別為 2022 年 9~11 月與 2023 年 6 月期間分別於馬來西亞登嘉樓、柔佛、霹靂與泰國北大年府海域進行。海上實驗所使用之逃脫環為人工篩選實驗及活蟹逃脫實驗結果之 S3(長 8.0cm；寬 3.2cm)，再加入較大尺寸之 S5(長 9.0cm；寬 3.6cm)比較逃脫結果，並使用臺灣圓形籠具縫製逃脫環於登嘉樓大學周邊海域以及泰國宋卡王子大學以北的出海口以當地籠具漁業方式投放籠具，出海試驗時間為每日下午五點至六點，並於隔日上午六至七點收回籠具進行紀錄。本次研究於登嘉樓省周邊海域共進行 6 次海上試驗，每次試驗投入 60 個籠具，總籠具數共 360 個，於北大年府共進行 4 次海上試驗，每次試驗投入 60 個籠具，總籠具數共 240 個，投放實驗結束後收籠並記錄逃脫環外囊袋中逃出之生物體長、重量等生物資訊。

**國內海上實驗：**於澎湖東南海域進行逃脫環籠具實驗，逃脫環尺寸選用尺寸 S1(長 7.0cm；寬 2.8cm)、S3(長 8.0cm；寬 3.2cm)與 S5(長 9.0cm；寬 3.6cm)共三種尺寸逃脫環，並加入無加裝逃脫環之對照組進行比較實驗。本實驗逃脫環裝設位置如(Figure 8)所示，每單一籠具設置兩個逃脫環，分別置於籠具側面上方及對角下方，所使用籠具為我國沿近海螃蟹籠具船常使用之規格，網目大小 3.4 cm，籠具直徑 55 cm、高 23 cm，每個籠具皆有三個寬 30 cm、高 20 cm 之入口，並延伸 15 cm 往內縮口。於 2024 年 8 月 14 日至 19 日進行 6 次海上實驗，此 6 次實驗逃脫環外側裝設覆蓋網袋(Figure 8b)，以收集從逃脫環逃脫之物種與體長資料。

另外，為比較逃脫環外側裝設覆蓋網袋是否會影響螃蟹之逃脫比例，本團隊另外於同年 9 月 26 至 10 月 1 日進行 5 次海上實驗，此 5 次實驗逃脫環外側均未裝設覆蓋網袋(Figure 8a)，以進行比較滯留於籠具內之螃蟹物種數與甲殼寬大小之差異(Figure 8a)。每次出海作業分別投放加裝逃脫環 S1 尺寸 27 個、S3 尺寸 27 個、S5 尺寸 27 個與對照組之籠具 29 個，兩次實驗各組皆交

錯設置，每條幹繩置放 55 個籠具，使用兩條幹繩，共計 110 個籠具，11 趟次海上實驗總投放籠具數為 1,210 個(Figure 9)。8 月主要出海作業地點位於山水東側海域；而 9 月則有兩天於該處進行實驗，其餘於香爐嶼周邊海域進行實驗(Figure 8)。實驗多於每日清晨下籠，至隔日起籠後再下籠進行下一次實驗，籠具平均浸漬時間約為 20 小時、平均作業水深為 19.5 m(Table 1)。每次作業起籠後採集之樣本依不同逃脫環組別置放，上岸後之採集於漁港秤重(g)取至整數，並量測螃蟹體寬、體長及體高(cm)至小數點後一位。取得籠內經濟性螃蟹漁獲甲殼寬後，使用 Kruskal-Wallis 檢定多組間差異、Wilcoxon rank-sum 檢定兩兩組別間差異及卡方檢定(Chi-square test)各組間個體數差異， $\alpha$  值設為 0.05。

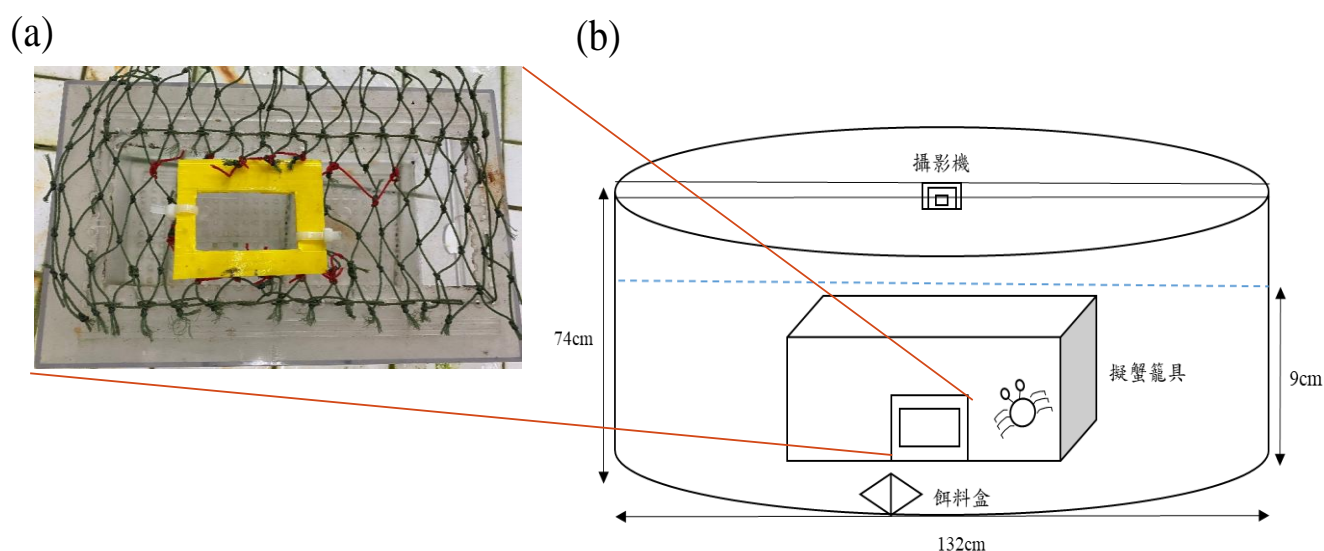


Figure 7. (a) 活蟹實驗中裝置逃脫環之長方盒 (b) 活蟹逃脫環實驗示意圖



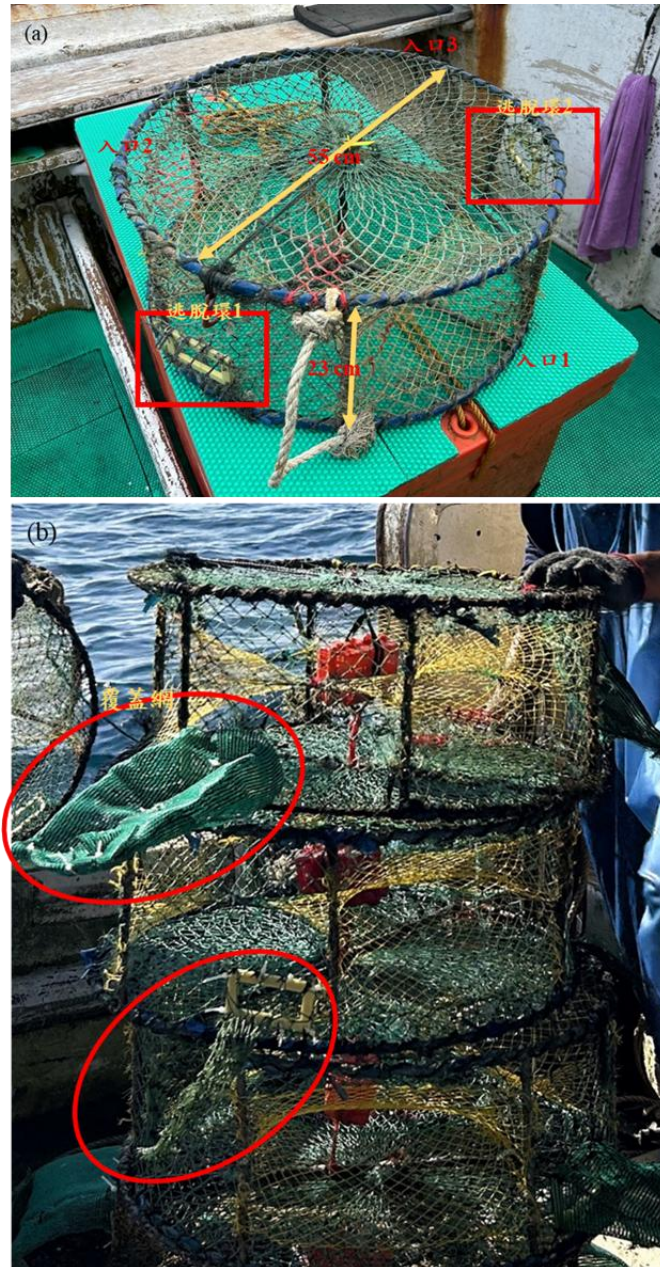


Figure 8. 逃脫環海上實驗之螃蟹籠具示意圖 (a)實驗用籠具 (b)加裝逃脫環覆蓋網之籠具

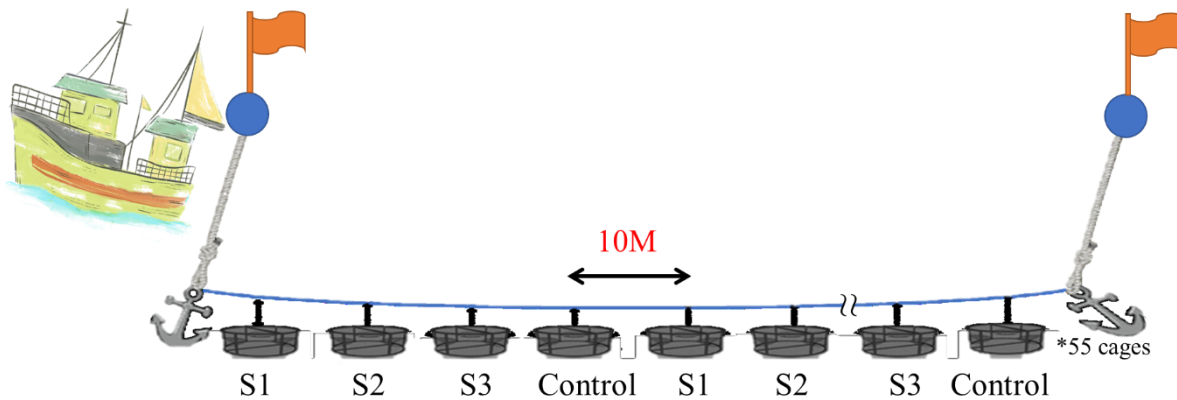


Figure 9. 籠具實驗之籠具投放示意圖

### (3) LED 集魚燈對梭子蟹科補獲率影響研究

為了減少漁民因裝設逃脫環而造成經濟損失，因此希望藉由在籠具中裝設水下LED集魚燈提高梭子蟹補獲率漁民收益，以提高漁民裝設逃脫環之意願。實驗方式將透過裝設不同波長的LED集魚燈於籠具內，每次出海共放置兩組籠具組合，每組由藍色燈光(裝置餌料)15組、紅色燈光(裝置餌料)15組、綠色燈光(裝置餌料)15組與控制組(裝置餌料)15組、一組共60個籠具。每組籠具均縫製兩組逃脫環(長9.0cm；寬3.6cm與長8.0cm；寬3.2cm)交錯排列擺設，並每個籠具間格2公尺加上頭尾連結錨錠10公尺總長度100公尺進行實驗(Figure 9)。投放實驗結束後收籠並記錄各籠具內與逃脫環外囊袋中捕獲螃蟹和魚種之物種、數量、生物體長、重量等資訊幾進行資料庫建置與統計分析。

本研究團隊與馬來西亞登佳樓大學、泰國宋卡王子大學合作，馬來西亞海上實驗於2023年5月16日至18日、6月11-16日在登加樓海域進行(Figure 10a)，實驗使用一艘長6米的玻璃纖維船(配備15馬力的引擎)(Figure 10b)，出海試驗時間為每日下午3點至4點，並於隔日上午6至7點收回籠具並進行紀錄，本次研究於登嘉樓海域共進行6次海上試驗，使用horse mackerel(*Trachurus spp.*)當作餌料，每次試驗投入60個籠具，總籠具數共360個，作業方式以每次出海共放置兩組籠具組合，每組籠具設置了四種處理方式:(1)餌料組15組(C)；(2)紅色燈光加餌料15組(R)；(3)綠色燈光加餌料15組(G)；(4)藍色燈光加餌料15組(B)，在馬來西亞一組共60個籠具排列以穿插擺設並每個籠具間格2公尺加上頭尾連結錨錠10公尺總長度130公尺(Figure 10c)

在泰國海上實驗於2023年6月2日至6日在北大年府海域進行(Figure 10d)，實驗使用一艘長8米的玻璃纖維船(配備15馬力的引擎)(Figure 10e)，本次研究於北大年府共進行4次海上試驗，使用

sardine (*Sardinella gibbosa*)當作餌料，每次試驗投入60個籠具，總籠具數共240個，作業方式以每個陷阱均用繩子固定，並加浮標以便追蹤其位置。設置了四種處理方式:(1)餌料組15組(C)；(2)紅色燈光加餌料15組(R)；(3)綠色燈光加餌料15組(G)；(4)藍色燈光加餌料15組(B)，每個陷阱之間的距離約為20米(Figure 10f)。

另外在國內於2024年8月14日至19日在澎湖海域進行海上實驗(Figure 10g)，實驗使用一艘長13M的玻璃纖維船(配備380馬力的引擎)(Figure 10Figure 10h)，在臺灣澎湖海域，出海試驗時間為每日上午7點至8點，並於隔日上午7至8點收回籠具並進行紀錄，本次研究於澎湖海域共進行6次海上試驗(Figure 11)，使用扁舵鰹Frigate tuna (*Auxis thazard thazard*)當作餌料，每次試驗投入110個籠具，總籠具數共660個，每次出海共放置兩組籠具組合，每組籠具設置了四種處理方式(Figure 12): (1)餌料組29組(C)；(2)紅色燈光加餌料27組(R)；(3)綠色燈光加餌料27組(G)；(4)藍色燈光加餌料27組(B)，一組共55個籠具排列以穿插擺設並每個籠具間格2公尺加上頭尾連結錨錠10公尺總長度140公尺(Figure 10Figure 10i)。三個區域的海上實驗皆在當地捕蟹漁民的指導下完成。

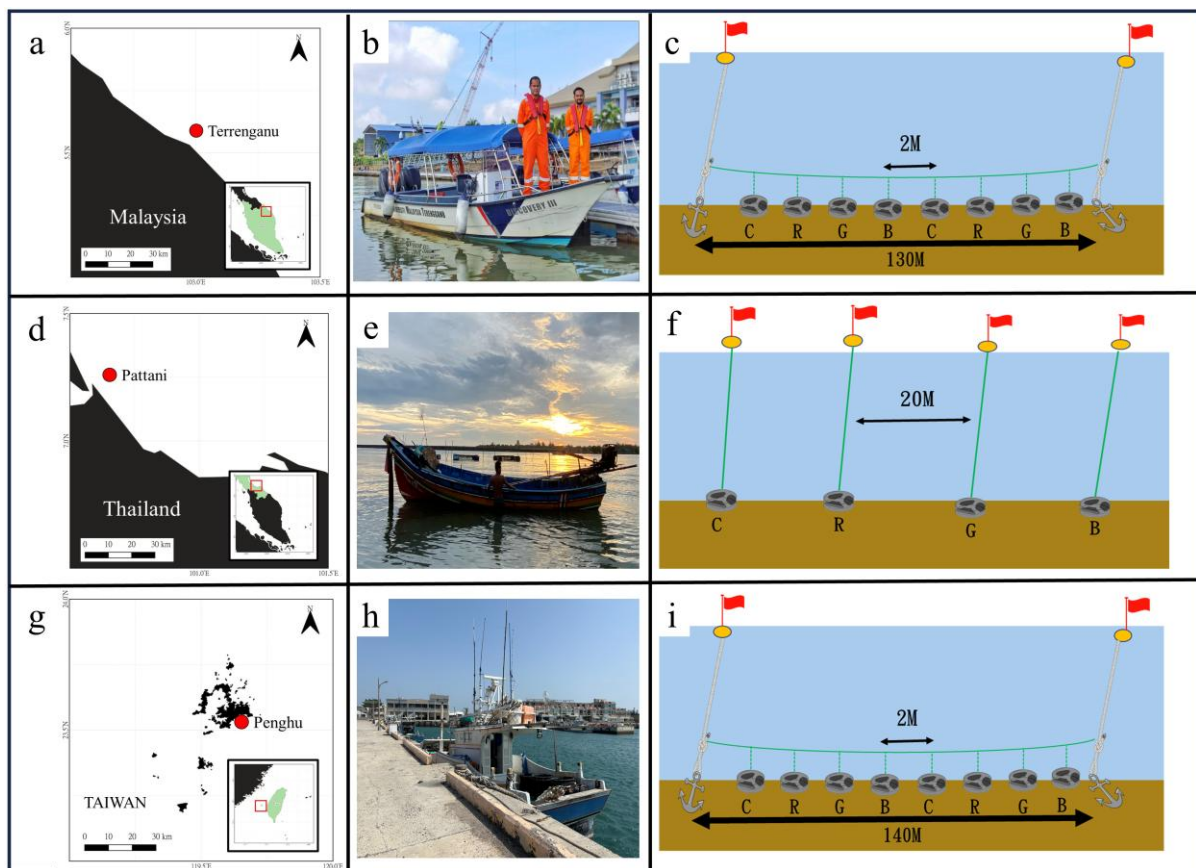


Figure 10. 各區域海上實驗位置圖、實驗用船圖和籠具排列方式示意圖(a)馬來西亞登加樓海域作業位置圖(b) 登加樓海域海上實驗用船(c) 登加樓海域籠具排列方式(d)泰國北大年府海域作業位置圖(e) 北大年府海域海上實驗用船(f)北大年府海域籠具排列方式(g)臺灣澎湖海域作業位置圖(h) 澎湖海域海上實驗用船(i)澎湖海域籠具排列方式



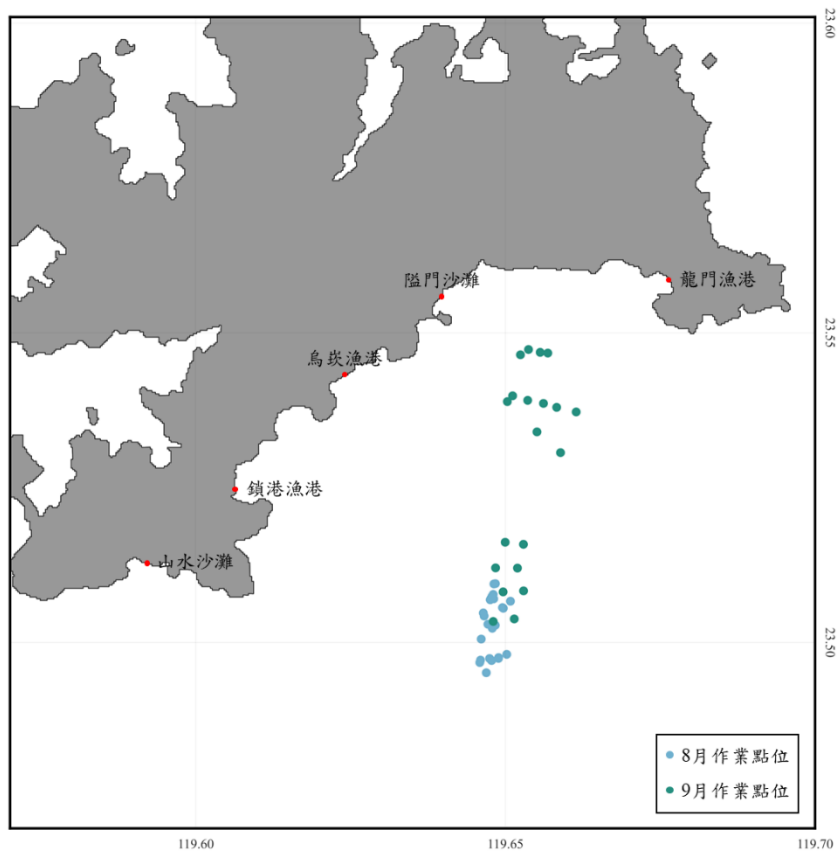


Figure 11 逃脫環籠具海上實驗作業地點

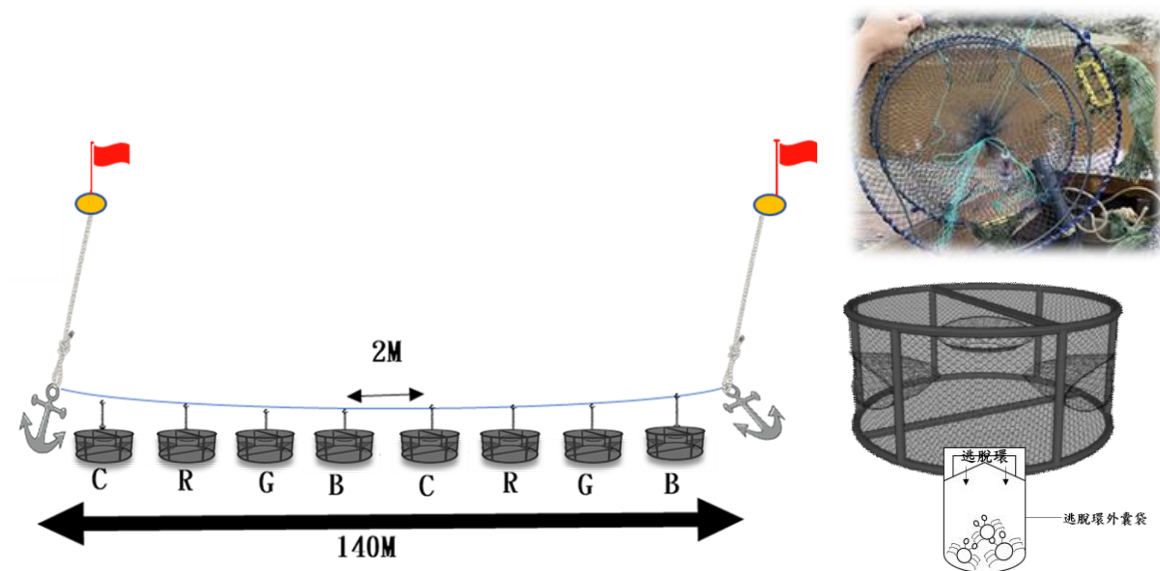


Figure 12. (a) 籠具組合排列方式及間格距離與總長度，每組籠具均縫製兩組逃脫環 (b)本研究使用逃脫環與外囊袋裝設位置。藍色燈光與餌料組(B)、紅色燈光與餌料組(R)、綠色燈光與餌料組(G)、控制組(C)

為使現場實驗螃蟹籠具相同，因此統一使用臺灣圓形籠具，於臺灣當地購買後帶至馬來西亞與泰國進行實驗。籠具為可折疊的圓形陷阱由鍍鋅鋼條組成(直徑 50 cm;高 25cm;鋼條直徑 0.6cm)，配有 3 個狹縫式入口，由兩塊網片形成水平的 V 字形外寬內窄的入口處(外寬尺寸 18cm；內寬尺寸 15cm)，5 厘米孔徑的綠色聚乙烯編織網，動物進入陷阱時會進入入口(Figure 13)。

海上實驗餌料依照當地漁民習慣，馬來西亞海上實驗使用使用竹筴魚，泰國海上實驗使用沙丁魚，臺灣海上實驗使用鯖魚，放置於餌料盒中被綁在陷阱中間的底部位置，LED 燈則使用掛勾固定於籠具頂部，以防止其陷入沙子或泥中。

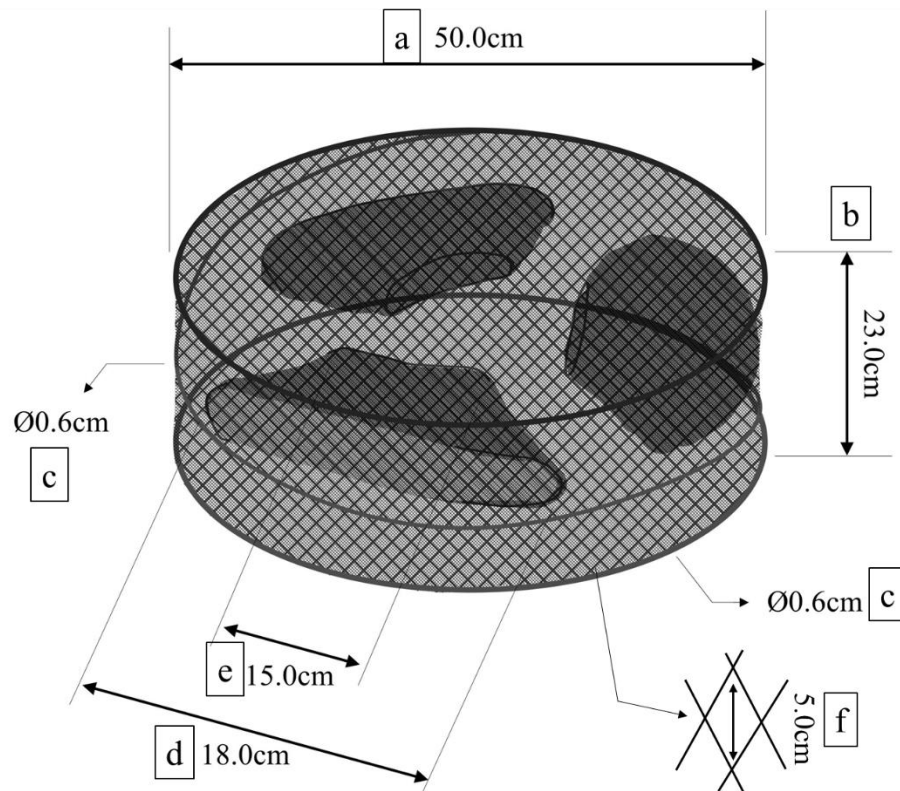


Figure 13. 海上實驗使用螃蟹籠具模型圖(a)螃蟹籠具直徑(b)螃蟹籠具高度(c)鍍鋅鋼條直徑(d)外入口處尺寸(e)內入口處尺寸(f)網目尺寸

所有捕獲物均被記錄，對於捕獲的蟹類，記錄其物種、性別及背甲殼寬度(CW)。單位捕撈量(CPUE)定義為每次籠具提取中捕獲的每種物種數量。針對每種物種、性別和處理方式，平均CPUE按以下公式計算：

$$\overline{CPUE} = \frac{\sum Catch_i}{\sum Trap_i}$$

式中，i為捕撈試驗的序號，Catch為每次試驗捕撈的梭子蟹個數，Trap為每次試驗的籠具個數。



$$R = \frac{\sum Catch_i}{\sum Total_i}$$

式中，i為捕撈試驗的序號，Catch為每次試驗捕撈的梭子蟹個數，Total為每次試驗採取不同 treatment 的籠具中包含混獲物種的漁獲總數。

海上捕撈試驗中，本研究使用了兩個廣義線性混合模型(GLMM)來評估不同波長的光對梭子蟹的影響，以及在不同光源下所捕獲的梭子蟹(*Portunidae*)甲殼寬度的變化。我們使用GLMMTMB套件進行GLMM分析，並使用tidyverse套件進行數據處理與視覺化(Naimullah 等人，2022)。

GLMM第一個模型中採用Poisson 分布的GLMM模型，以每個陷阱捕獲的梭子蟹數量作為應變數，固定效應包括：誘餌類型(控制組、藍光、綠光、紅光)與取樣海域(澎湖海域、丁加奴海域、巴塔尼海域)。此外，模型中也納入了隨機效應，包括：試驗次數(例如田野實驗中的第一次捕撈試驗編為1)與每次試驗所使用的陷阱數，以考量資料的時間相關結構。

模型表示如下：

$$\mu_{ij} = \beta_0 + \text{Light}_{ij} + \text{Sea}_{ij} + \text{Trials}_i + \text{TrapNumber}_i \tag{2}$$

其中，total catch<sub>ij</sub>表示第 iii 次試驗中第 jjj 筆觀察數據的總捕獲量。

在第二個常態分布的GLMM模型中，梭子蟹的甲殼寬(CW, 單位：mm)為應變數，固定效應包括：光源類型、取樣海域與性別(雄性、雌性)，而「試驗次數」則作為隨機效應。此模型如式(3)所示，其中 carapacewidth<sub>ijk</sub>表示第 iii 次試驗中第 jjj 個陷阱中的第 kkk 筆觀察資料。我們的建模方式如下：

$$\mu_{ijk} = \beta_0 + \text{Light}_{ij} + \text{Sea}_{ij} + \text{Sex}_{ij} + \text{Trials}_i \tag{3}$$

所有固定變項的統計顯著性透過卡方檢定(chi-squared tests)進行計算，以判斷分類變項之間是否具有顯著關聯。我們亦對GLMM模型進行離群值與變異數齊性檢查。所有數據整理、GLMM建模與視覺化分析皆使用 R 軟體(版本 4.3.2)執行。

Table 1. 本研究團隊進行螃蟹籠具實驗出海資訊表

Working dates	Deployment Time	Retrieval Time	Soaking duration (hr)	Trap Depth (m)	Deployment Latitude	Deployment Longitude	End Latitude	End Longitude
14-Aug	2024/8/13	2024/8/14	21	20	23°30.139 N	119°38.872 E	23°30.571 N	119°38.902 E
	10:00	07:00		20	23°30.034 N	119°38.765 E	23°30.258 N	119°38.793 E
15-Aug	2024/8/14	2024/8/15	23	19	23°30.424 N	119°38.886 E	23°30.168 N	119°38.901 E
	08:00	07:00		20	23°30.568 N	119°38.888 E	23°29.807 N	119°38.751 E
16-Aug	2024/8/15	2024/8/16	23	22	23°29.826 N	119°38.865 E	23°29.847 N	119°38.932 E
	08:00	07:00		20	23°30.287 N	119°38.785 E	23°29.830 N	119°38.758 E
17-Aug	2024/8/16	2024/8/17	23	21	23°30.415 N	119°38.852 E	23°30.431 N	119°38.861 E
	08:00	07:00		20	23°30.449 N	119°38.870 E	23°30.467 N	119°38.881 E
18-Aug	2024/8/17	2024/8/18	23	20	23°29.846 N	119°38.846 E	23°29.855 N	119°38.933 E
	08:00	07:00		20	23°30.339 N	119°38.971 E	23°30.333 N	119°38.979 E
19-Aug	2024/8/18	2024/8/19	23	20	23°30.178 N	119°38.830 E	23°29.708 N	119°38.814 E
	08:00	07:00		21	23°30.401 N	119°39.048 E	23°29.886 N	119°39.012 E
27-Sep			15	21	23°30.229 N	119°39.085 E	23°30.722 N	119°39.116 E

28-Sep	2024/9/26	2024/9/27	23	20	23°30.205 N	119°38.881 E	23°30.724 N	119°38.904 E
	15:00	06:00						
	2024/9/27	2024/9/28		22	23°30.501 N	119°39.175 E	23°30.952 N	119°39.174 E
	07:00	06:00		22	23°30.491 N	119°38.977 E	23°30.972 N	119°38.997 E
29-Sep	2024/9/28	2024/9/29	23	21	23°31.840 N	119°39.533 E	23°32.279 N	119°39.496 E
	07:00	06:00		14	23°32.839 N	119°39.223 E	23°32.391 N	119°39.069 E
30-Sep	2024/9/29	2024/9/30	23	19	23°32.234 N	119°39.685 E	23°32.041 N	119°39.305 E
	07:00	06:00		15	23°32.812 N	119°39.336 E	23°32.347 N	119°39.215 E
30-Sep	2024/9/30	2024/9/30	8	12	23°32.788 N	119°39.145 E	23°32.335 N	119°39.018 E
	07:00	15:00		16	23°32.805 N	119°39.410 E	23°32.317 N	119°39.368 E

---

## (二) LED 燈光應用於陸蟹保育

本研究過去在實驗室及墾丁野地現場均做過模擬蟹類通道之實驗，不論是實驗室室內及野地實驗相顯示藍光對於陸蟹移動行為具有正趨性影響，2023 年墾丁國家公園管理處於台 26 線車道下共挖掘 36 處地下涵洞，現況為陸蟹經由涵洞的通過率不高。本研究已嘗試於室內實驗中模擬陸蟹棲地環境特性，以常見路殺影響之毛足特氏蟹(*Tuerkayana hirtipes*)為主要研究對象，透過自製之 LED 發光二極體燈組，並經由分光光度計測量其波長值分別為藍色 458nm、綠色 526nm、紅色 630nm、白色 460nm，進一步觀察在光線照射下對螃蟹行為的影響，再以動物軌跡追蹤軟體 Noldus Ethovision XT 系統，分析不同的光對陸蟹驅性及色覺影響，探討螃蟹的趨光性、辨色的行為及其順行/逆行率(Figure 14a)，其順行/逆行率計算公式如下：

$$\text{逆行率} = \frac{\text{以人眼辨識之逆行個體}}{\text{實驗個體隻數}} * 100\%$$
$$\text{順行率} = \frac{\text{總實驗個體扣掉逆行個體}}{\text{實驗個體隻數}} * 100\%$$

然本研究實驗使用之陸蟹係自分別於 2022 與 2023 年 7~9 月間，於新北市卯澳灣沿岸進行採集母蟹，為模擬野外棲息環境，將其圈養於方形畜養箱中並以椰土為底質並布置石頭、樹枝、水窪等天然遮蔽物，每日投餵一次，以維持蟹類的正常活動與排泄，並設置一長方形箱子(長 406cm；寬 99cm；深 18cm)進行陸蟹於不同光源波長下之趨性行為實驗(Figure 14b、Figure 14c)，實驗中紀錄之攝影機型號為 MPCAM D1 攝影機。影像記錄型式是以 1080P 30fps 的影像畫質進行拍攝，並以影片檔的方式儲存。

本研究實驗選擇藍、紅、綠的原色光以及混合光白光和無光對照組，每組光源進行 30 次測試共 150 組，此外，於實驗進行期間為避免在錄製影像時有不必要之光源干擾實驗進行，於實驗室四周使用黑色塑膠布進行遮蓋。實驗開始前 20 分鐘將陸蟹自蓄養箱中移至實驗之長方形箱子中並放置於實驗箱前 30cm 處使用擋板隔開陸蟹，並靜待陸蟹熟悉實驗之環境，靜待時間結束後，將其擋板打開並同時打開燈光，以攝影機錄製陸蟹 20 分鐘中其行為變化，待 20 分鐘過後更換陸蟹進行下一組實驗(Figure 15)。

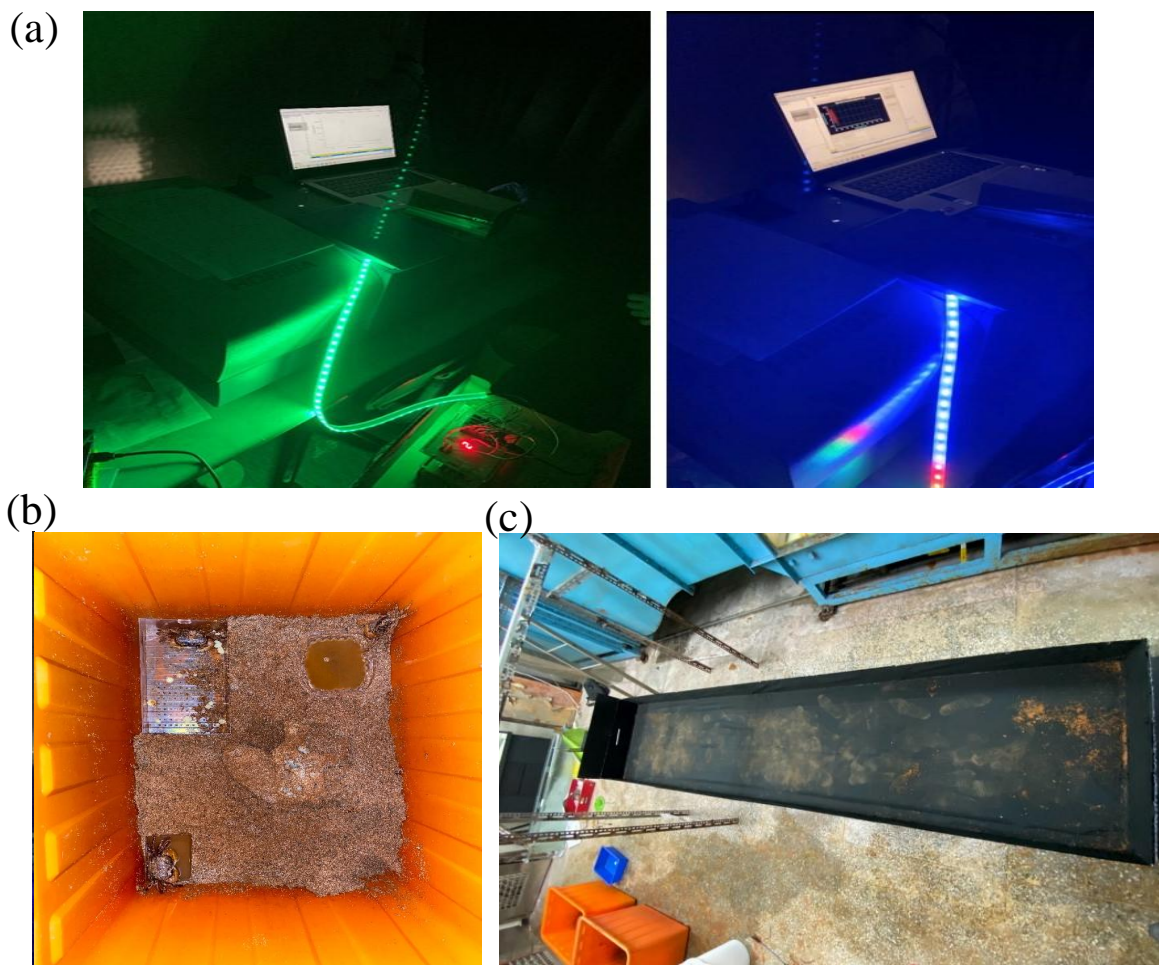


Figure 14. (a) LED 燈光組不同顏色燈源 (b)陸蟹飼養環境 (c)陸蟹在不同光源波長下趨性行為實驗之長方形實驗箱

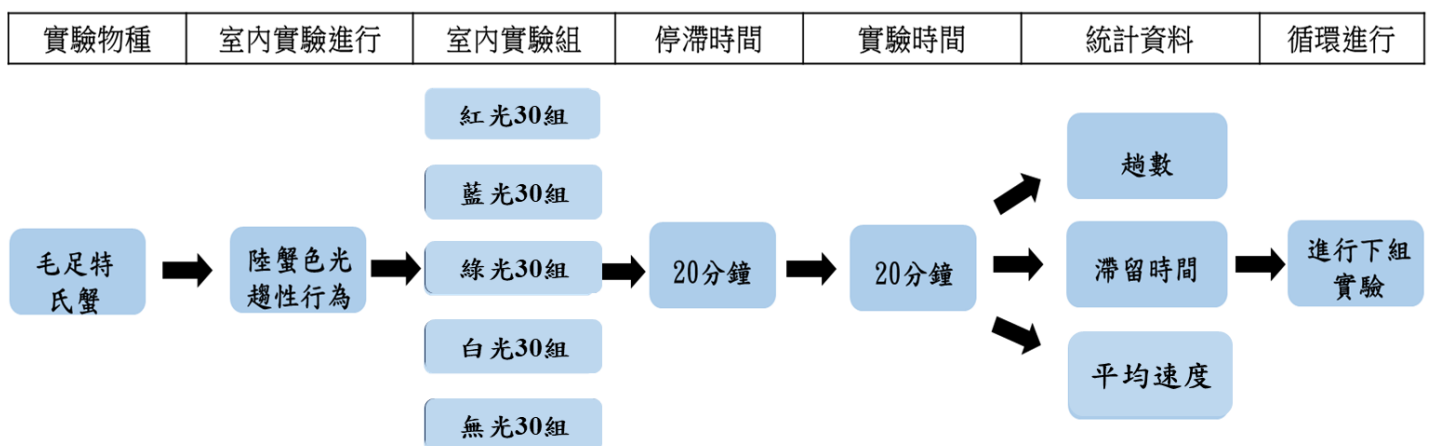


Figure 15. 燈光對陸蟹行為影響之實驗流程，實驗對象為毛足特氏蟹，將分成藍光、紅光、綠光、白光、無光共五種組別，進行燈光對陸蟹行為影響之實驗



為減少台 26 線墾丁香蕉灣路段-砂島路段，陸蟹因生殖遷徙須降海釋幼穿越海岸公路而發生之嚴重的路殺問題，本研究透過上述室內實驗中觀察不同波長光源對陸蟹行為之影響，並發現藍、紅光對陸蟹遷徙行為具有顯著差異。為有效利用人工訊號(LED 燈)實地架設在海岸公路陸蟹地下涵洞中進行現場實驗，實驗開始前 10 分鐘將陸蟹放置於涵洞入口處使用水桶罩住陸蟹，並靜待陸蟹熟悉漆黑環境，靜待時間結束後，將其水桶打開並同時打開燈光，以攝影機錄製陸蟹其行為變化，待通過過後更換陸蟹進行下一組實驗(Figure 16)。

本團隊過去分別於 2022 年與 2023 年 6~9 月在墾丁市砂島生態區沿岸進行採集抱卵母蟹，採樣時間為晚間 6 點後，共捕獲 142 隻抱卵母蟹，實驗地點選擇於墾丁砂島周邊區域地下涵洞進行(Figure 17)，地下涵洞通道洞口尺寸為內徑 1.5 公尺，全長 11 公尺，並於通道的頭尾架設自動 IR 攝影機，並於通道尾端放置一燈光吸引螃蟹爬行，並利用藍光及無光兩組環境進行實驗，藍光波長峰值為 450nm，照度為 1lux，於實驗結束後檢查錄像並記錄陸蟹通過之數據，並於通道的頭尾架設自動 IR 攝影機，並於通道尾端放置一燈光吸引螃蟹爬行，並利用藍光及無光兩組環境進行實驗，藍光波長峰值為 450nm，照度為 1lux，於實驗結束後檢查錄像並記錄陸蟹通過之數據。

另於 2024 年 9、10 月中旬利用在台 26 線墾丁香蕉灣路段的其中兩道地下涵洞進行藍光、無光組現場實驗，今年共採集抱卵母蟹 53 隻與 1 隻雄蟹，實驗方法相較前幾年相異處在於地下涵洞通道的入口及出口處各鋪設 3 米長鈴鐺串，用意為透過螃蟹碰觸到鈴鐺時發出聲響得知已通過地道，並於藍光通道尾端放置一燈光吸引螃蟹爬行，此次錄影器材使用數位日夜兩用紅外線雙筒夜視鏡(Figure 18)，輔助無光環境下的錄影及拍照需求(Table 2)。現場完成數據蒐集後利用通過出入口時間計算平均速度、不同組順逆行比例，及進行獨立樣本 T 檢定(Independent Sample t test)與卡方檢定(Chi-square test)各組間個體數差異， $\alpha$  值設為 0.05。

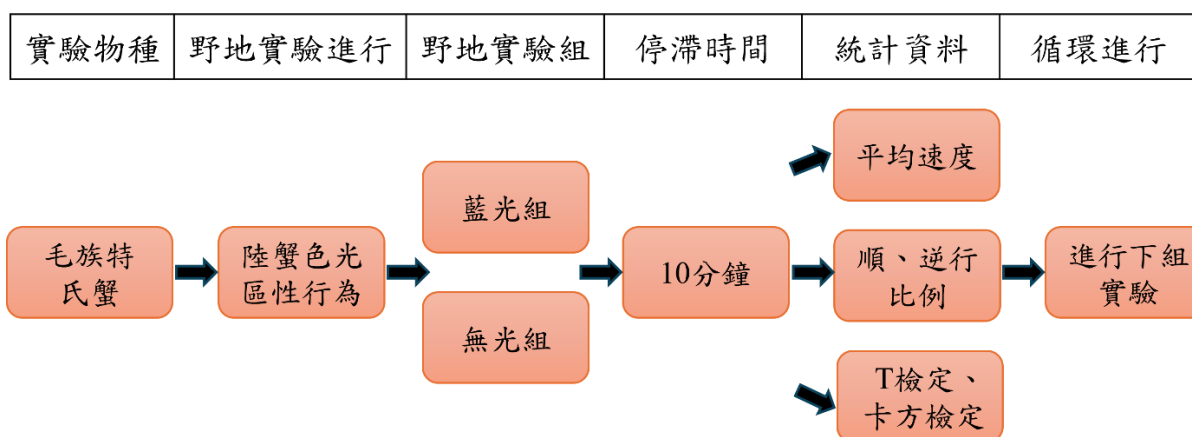


Figure 16. 燈光對陸蟹行為影響之實驗流程，實驗對象為毛足特氏蟹，將分成藍光、無光共二種組別，進行燈光對陸蟹行為影響之實驗。



Figure 17. 本研究團隊於台 26 線車道涵洞出口處之工作照(A)2023 年(B)2024 年



LUNA Digital 5-30X



LN-G3-B50-PRO

Figure 18. 2024 年野地實驗日夜兩用紅外線夜視鏡

Table 2. 日夜兩用紅外線夜視鏡功能表

	LUNA Digital 5-30X	LN-G3-B50-PRO
影像數位變焦倍率	5x-30x	6.5x-39x
可視距離(IR 全黑狀態)	200m	600m
重量	500g	980g

### (三) 不同光源對蟹類眼球影響包埋切片實驗

為了解不同波段光源對於眼球中橫紋肌運動之差異，能加以佐證不同色光對於蟹類行為影響機制，能夠更加客觀提供蟹類決策模式的參考資料，本團隊收集完活體螃蟹樣本後，將螃蟹置於獨立的保麗龍箱並在箱中分別放入藍、綠、紅三色的 LED 發光二極體燈光組，實驗進行 30 分鐘後剪下蟹眼泡入固定溶液中，本種眼球組織切片乃利用常見之蘇木精、伊紅染色法處理，後以光學顯微鏡合照相機觀察眼球內部細胞之形態變化，並利用數位影像處理軟體攝取影像，組織切片之製作過程如下(Figure 19):

#### (1) 固定(Fixation)

眼球樣本均以 Davidson 溶液固定，並浸泡 24 小時後進行後續處理。

#### (2) 脫水(Dehydration)

將組織連同包埋盒以下列步驟進行脫水，各步驟間不可間斷。

#### (3) 清洗(Clearing)

脫水完成後將組織連同包埋盒以二甲苯加以清洗，目的是使石蠟能更快隨二甲苯浸入組織。

#### (4) 浸潤(Infiltration)

將清洗過後的組織連同包埋盒放入預熱之組織包埋機的石蠟(paraffin)中，利用石蠟與二甲苯相容的特性，使石蠟浸潤至組織內。

#### (5) 包埋(Embedding)

將包埋盒打開並去除上蓋，取出組織放置包埋模具的凹槽中，接著使用組織包埋機注入少量石蠟，調整好組織位置，置於冷卻臺使石蠟稍微凝固使組織位置固定後，再將包埋盒開口朝上置於包埋模具上，注入石蠟後放回冷卻臺，待石蠟完全凝固後將組織連同包埋盒與模具分離，即完成組織包埋塊。

#### (6) 切片(Cutting)

將組織包埋塊固定於手動式迴旋切片機(Rotary microtome, Leica RM2235)上，接著將其切成約 5 $\mu$ m 厚之連續切片，然後以毛刷盛起，先置於常溫水面調整避免摺疊，使用乾淨載玻片將其撈起置約攝氏 45 度溫水浴槽水面使其平整展開後，再將其撈起後風乾。

#### (7) 染色(Staining)

風乾後之組織切片以蘇木精與伊紅染色法進行染色，所需溶液以等大方形玻璃容器盛裝。

#### (8) 封片(Mounting)

待染色風乾後，於玻片滴上黏著劑再覆上蓋玻片即完成封片，封片後就可以利用顯微鏡對其進行觀察。眼球樣本後續依照一般組織學切片觀察實驗之流程進行(Figure 20)，將觀察到的細胞相片匯入電腦後，利用圖像辨識軟體計算細胞顯現面積進行比較。

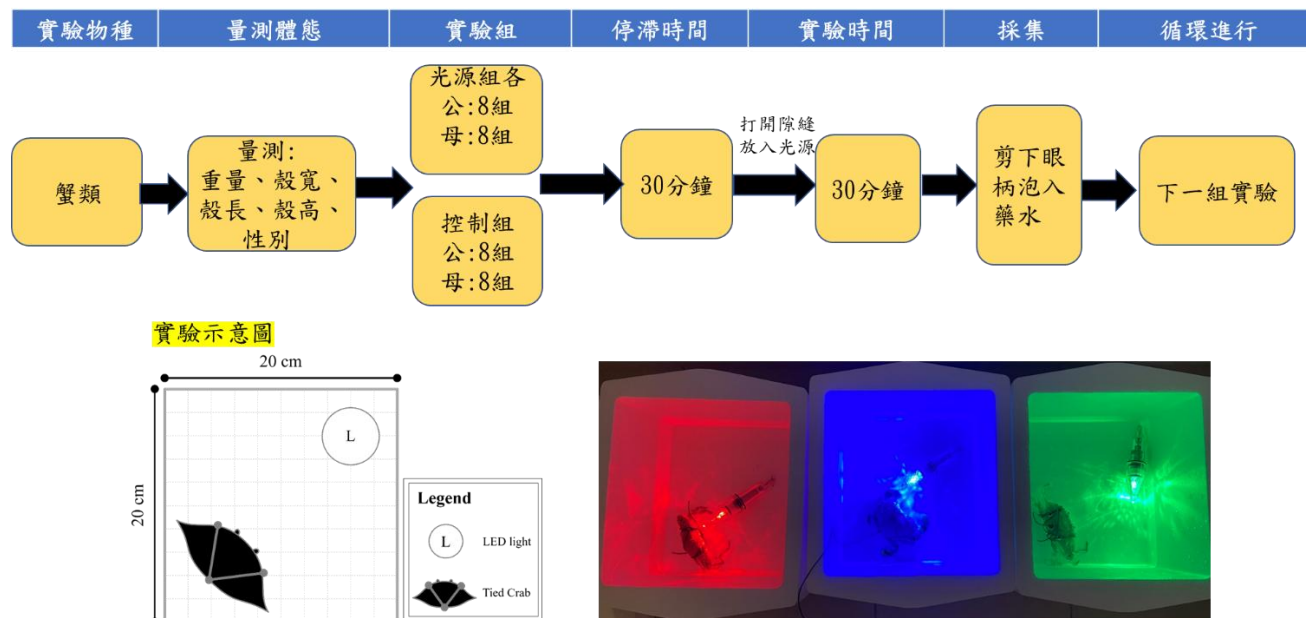


Figure 19. 不同光源對蟹類眼球影響包埋切片實驗流程

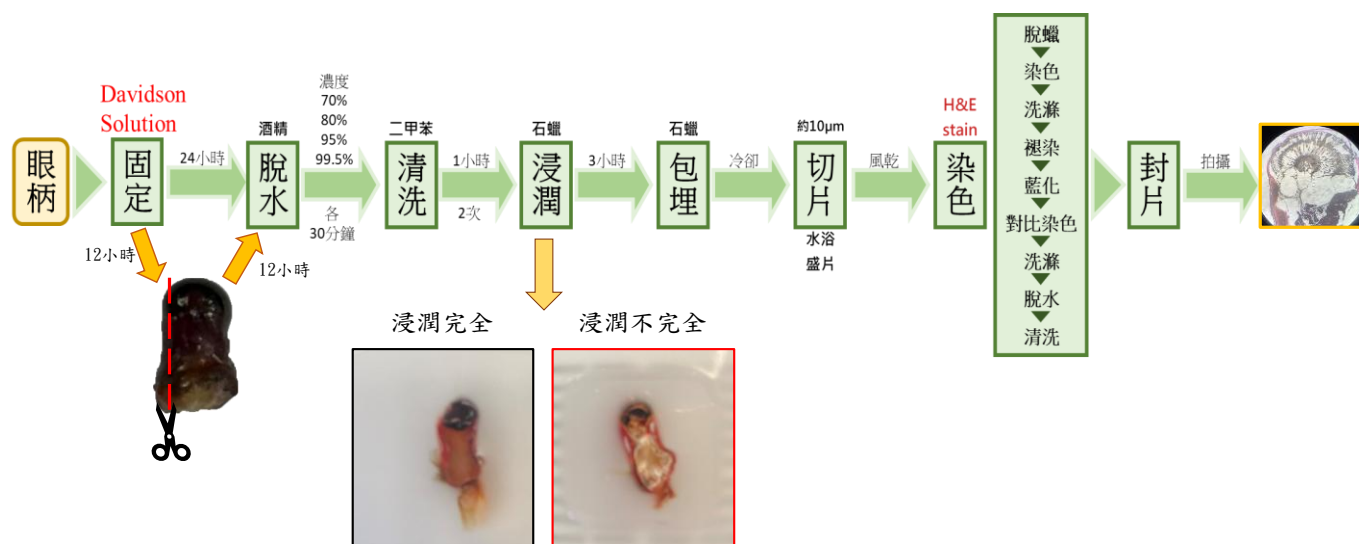


Figure 20. 蟹類眼球包埋組織學切片觀察實驗流程



#### (四) 梭子蟹 DNA 萃取

遠海梭子蟹將分別收集 50-100 mg 蟹腳肌肉組織至 1.5 mL 微量離心管，加入 500 uL 組織裂解液 (400 uL GB buffer (GBB30, Bioman, Taiwan), 80 uL proteinase K (10 mg/uL) (PRK403.500, BioShop, Canada)) 於 65 度反應 30 分鐘。加入 5 uL RNAase A (10 mg/uL) (RNA888.500, BioShop, Canada) 於 37 度反應 15 分鐘後，16,000 g 離心 1 分鐘。吸取 300 uL 上清液至新管，加入 540 uL AMPure XP 核酸純化試劑(A63880, Beckman Coulter, USA)混合均勻於室溫靜置 5 分鐘。初萃液與磁珠混合物置於磁座待磁珠完全沉澱並以 1 mL 80% 酒精(E23, Bioman, Taiwan)清洗，該步驟重複 2 次。完全去除酒精後，以 50 uL 無菌二次去離子水回收核酸。

#### 梭子蟹 DNA 完整度分析

使用 0.8% 瓊脂凝膠(PB1200, BioShop, Canada)、0.5 倍 TBE 緩衝液(TBE055000, Bioman, Taiwan)，110 V 電泳 30 分鐘後於紫外光照膠系統((DI-01 model, Major Science, USA)檢測核酸品質，查看 DNA 完整度，如下圖所示(Figure 21)：

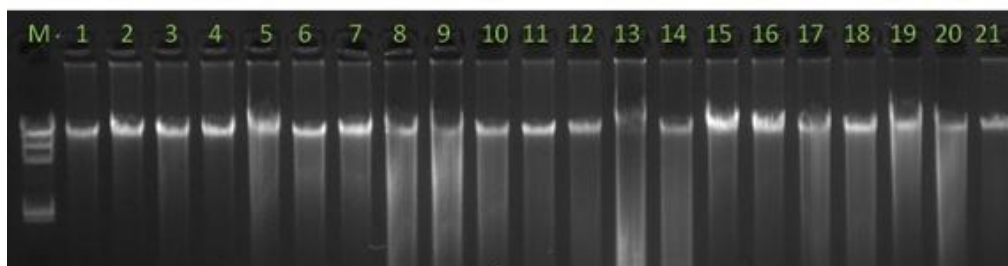


Figure 21 建立 DNA 管理資料庫

Table 3 整理每盤 DNA RackID 的 LayOUT 和對應的原始檢體編號

Sample Layout												
RackID: 2017080701	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	WWW260OB	WWW268OB	WWW266OB									
B	WWW261OB	WWW269OB	WWW267OB									
C	WWW262OB	WWW260OB	WWW268OB									
D	WWW263OB	WWW261OB	WWW269OB									
E	WWW264OB	WWW262OB										
F	WWW265OB	WWW263OB										
G	WWW266OB	WWW264OB										
H	WWW267OB	WWW265OB										
DNA 2D-Tube Layout												
RackID: 2017080701	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	1134380351	1134381049	1134381071									
B	1134381023	1134381048	1134381092									
C	1134381311	1134381047	1134381093									
D	1134384191	1134381068	1134381094									
E	1134385343	1134381089										
F	1134381044	1134381070										
G	1134381045	1134381073										
H	1134381046	1134381072										



Table 4 將檢體資訊、DNA 品質分析結果、DNA 放置整整理成 Excel 檔

Barcode	檢體名稱	性別	品系	檢體類型	冷凍庫ID	DNA RackID	DNA 2D Barcode Tube ID	Position	Conc.	Unit	Volume (uL)	Yield (ug)	A260	A280	260/280	260/230	Sample Type	Factor
WWW260OB	Sample0001	F	A	血液	Hair202-A	2017080701	1134380351	A01	89.6	ng/ul	40	3.584	2.241	1.091	2.05	0.63	RNA	40
WWW261OB	Sample0002	M	A	組織	Hair202-A	2017080701	1134381023	B01	80.1	ng/ul	40	3.204	2.003	0.989	2.02	0.56	RNA	40
WWW262OB	Sample0003	F	A	組織	Hair202-A	2017080701	1134381311	C01	90.7	ng/ul	40	3.628	2.266	1.115	2.03	0.61	RNA	40
WWW263OB	Sample0004	F	B	血液	Hair202-A	2017080701	1134384191	D01	70.2	ng/ul	40	2.808	1.756	0.859	2.04	0.51	RNA	40
WWW264OB	Sample0005	M	B	血液	Hair202-A	2017080701	1134385343	E01	99.4	ng/ul	40	3.976	2.485	1.22	2.04	0.57	RNA	40
WWW265OB	Sample0006	M	A	血液	Hair202-A	2017080701	1134381044	F01	90.9	ng/ul	40	3.636	2.272	1.152	1.97	0.55	RNA	40
WWW266OB	Sample0007	F	C	血液	Hair202-A	2017080701	1134381045	G01	72.9	ng/ul	40	2.916	1.822	0.881	2.07	0.5	RNA	40
WWW267OB	Sample0008	F	C	組織	Hair202-A	2017080701	1134381046	H01	96.4	ng/ul	40	3.856	2.409	1.175	2.05	0.6	RNA	40
WWW268OB	Sample0009	M	A	組織	Hair202-A	2017080701	1134381049	A02	95.4	ng/ul	40	3.816	2.385	1.164	2.05	0.53	RNA	40
WWW269OB	Sample0010	M	B	組織	Hair202-A	2017080701	1134381048	B02	85.9	ng/ul	40	3.436	2.148	1.043	2.06	0.55	RNA	40

## 梭子蟹高通量基因型鑑定

簡化基因體定序(Genotyping by sequencing, GBS)技術原理與文庫建構流程如下圖(Figure 22)所示，後續將以 Illumina Novaseq 機型進行定序。下機後的定序片段資料會經過 FastQC 分析，移除不佳的定序片段，並使用 Picard-tools 標記 PCR 過量放大片段，再以 Burrows-Wheeler Aligner 對梭子蟹的參考序列進行比對和 GATK 找出變異位點。本技術平臺可以被廣泛的應用在非模式物種的基因多型性分析，現今大多數的經濟生物並沒有完整的全基因體參考資料(Reference genome)，透過 GBS 技術應用技術開發，可以較快速且符合經濟效益的條件下取得其基因多型性資料，詳細的技術流程如下：

### (a) DNA 消化

取 DNA 樣品(500 ng, 體積為 10 ul)與 *ApeKI* (New England Biolabs)限制酵素混合，總體積 20 ul 在 37°C下作用消化 1 小時。

### (b) Adapter 接合

第一個 Adpater 的序列為帶有限制酵素切位與 barcode 的 5'-ACACTCTTTCCCTACACGACGCTCTTCCGATCTxxxx 和 5'-GAATTCyyyyA GATCGGAAGAGCGTCGTGTAGGGAAAGAGTGT，其中“xxxx”和“yyyy”分別表示 barcode 正向序列與互補序列。第二個 Adapter 只有一個與 EcoRI 兼容的粘性末端：5'-GAATTCAGATCGGAAGAGCGGTTCAGC AGGAATGCCGAG 和 5'-CTCGGCATTCCTGCTGAACCGCTCTTCCGATCT。將個別 adapter 加在 TE (50  $\mu$ M)中混合好在熱循環儀中退火(95°C，2 分鐘；以 0.1°C/s 下降到 25°C，30 分鐘後保持 4°C)形成雙股的 Adapter。將消化完 DNA 取 5 ul、帶有 barcode 的 Adapter、1x buffer 和 T4 連接酶(New England Biolabs)混合，總體積 30 ul 在 16°C下作用 2 小時(Fig. 13)。

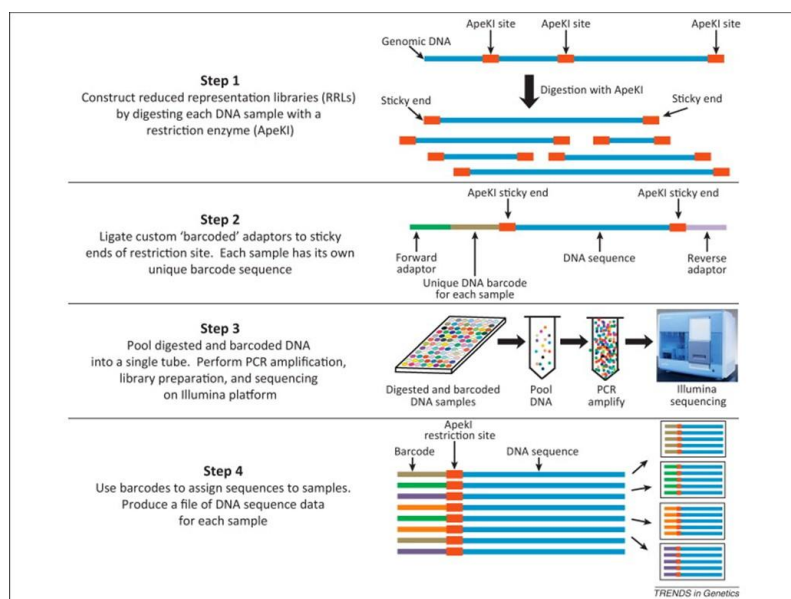


Figure 22. GBS 技術原理與文庫建構實驗流程(圖片引用自 <https://scienceon.kisti.re.kr>)

### (c) 產物純化及擴增

以每 8 個為一組將接合完樣品各取 5 ul 混合以 PCR Purification Kit (Qiagen, Valencia, CA) 進行純化，最終回溶 30 ul 體積。取純化好的 DNA 2 ul、1x Tag Master Mix (New England Biolabs)、25 pmol 的引物：

(A)

5'-AATGATACGGCGACCACCGAGATCTACACTCTTTCCCTACACGACGCTCTTCCGATCT

(B)

5'-AAGCAGAAGACGGCATACGAGATCGGTCTCGGCATTCCTGCTGAACCGCTCTTCCGATCT，總體積為 50 ul，PCR 條件為 72°C 5 分鐘、98°C 30 秒，接著 18 個循環 98°C 30 秒、65°C 30 秒、72°C 30 秒，最後 72°C 延伸步驟 5 分鐘。完成擴增產物可用於 Illumina 測序平臺進行定序。

### 梭子蟹次世代高通量基因體定序

將擴增樣品用 AMPure XP (Beckman Coulte) 篩選 150-400 bp 之間的片段，篩選之後的 DNA 文庫將進行次世代全基因體定序，定序平臺為 Novaseq6000-2x150 bp (Illumina) 進行高通量定序，預計產出資料量約每 300 隻蟹獲得約 600Gb 定序資料。由於 GBS 技術藉由限制酶切位及限制酶甲基化的敏感度這兩個隨機過程來降低基因體的複雜度，致使最終個體間可測得的位點

並不完全一致。研究顯示未經篩選的原始資料基因分型率(Genotyping rate)約為 20~32% (意即缺失率為 68~80%)，在參考不同研究使用之篩選條件後，取位點缺失率<80%、最小基因等位頻度>1%為初步查核標準；並於分析後期將位點缺失率優化下降至 50%、最小基因等位頻度>5%，以利位點缺值補全的演算。樣本資料缺失率>90%之樣本將認定為瑕疵樣本與以捨棄。

## 梭子蟹高通量數據分析

### (a) 質量控制

本計畫導入簡化基因體定序資料，為了得到較高的 mapping rate 及後續分析的正確性，首先進行 FASTQ read adapters 去除及濾除品質較差的 read base，並使用 FastQC 來檢查每一筆 FASTQ 的品質。經過生物資訊分析後會濾除無法辨別的 N 鹼基及 read 兩端 Q20 以下的鹼基。得到高品質的 read 之後，使用 Burrows-Wheeler Aligner(BWA, v0.7.15)將 read 與梭子蟹的參考基因體比對。在建庫過程中，由於 PCR 放大過程會使得有些序列被過量放大，而這些完全相同的 read 在比對的時候會比對到基因體上的同一個位置，但這些放大的 read 並不能作為變異檢驗的證據，因此藉由 Picard-tools 來標記這些 read。QC 後序列片段提供定序產量及質量統計表，包括：Q30%，定序深度，總片段數、總鹼基數，QC 後總片段數、總鹼基數，比對總片段數、總鹼基數，並計算各樣本平均/中位數等。

### (b) 變異檢驗(Variant calling)

計畫中使用了被大量引用的工具，這些工具包括二世代定序最常使用的序列比對軟體 BWA、Broad Institute 團隊開發的 GATK 及 Picard 變異將以 VCF 格式輸出(Figure 23)，變異種類包括 SNP、插入缺失標記(Indel)及結構變異(Structure variant)的位點資料，內容記錄位點所在染色體、位點相對於參考序列的所在位置、參考序列鹼基和對偶鹼基、位點品質指標、前處理過濾條件及其他註解等，完整的變異位點分析將遵循 GATK Best Practices - Germline short variant discovery (SNPs + Indels, Figure 24)。

```
##fileformat=VCFv4.1
##fileDate=20090805
##source=myImputationProgramV3.1
##reference=file:///seq/references/1000GenomesPilot-NCBI36.fasta
##contig=<ID=20,length=62435964,assembly=B36,md5=f126cdf8a6e0c7f379d618ff66beb2da,species="Homo sapiens",taxonomy=x>
##phasing=partial
##INFO=<ID=NS,Number=1,Type=Integer,Description="Number of Samples With Data">
##INFO=<ID=DP,Number=1,Type=Integer,Description="Total Depth">
##INFO=<ID=AF,Number=A,Type=Float,Description="Allele Frequency">
##INFO=<ID=AA,Number=1,Type=String,Description="Ancestral Allele">
##INFO=<ID=DB,Number=0,Type=Flag,Description="dbSNP membership, build 129">
##INFO=<ID=H2,Number=0,Type=Flag,Description="HapMap2 membership">
##FILTER=<ID=q10,Description="Quality below 10">
##FILTER=<ID=s50,Description="Less than 50% of samples have data">
##FORMAT=<ID=GT,Number=1,Type=String,Description="Genotype">
##FORMAT=<ID=GQ,Number=1,Type=Integer,Description="Genotype Quality">
##FORMAT=<ID=DP,Number=1,Type=Integer,Description="Read Depth">
##FORMAT=<ID=HQ,Number=2,Type=Integer,Description="Haplotype Quality">
#CHROM POS ID REF ALT QUAL FILTER INFO FORMAT NA000001 NA000002 NA000003
20 14370 rs6054257 G A 29 PASS NS=3;DP=14;AF=0.5;DB;H2 GT:GQ:DP:HQ 0/0:48:1:51,51 1/0:48:8:51,51 1/1:43:5:..
20 17330 . T A 3 q10 NS=3;DP=11;AF=0.017 GT:GQ:DP:HQ 0/0:49:3:58,50 0/1:3:5:65,3 0/0:41:3
20 1110696 rs6040355 A G,T 67 PASS NS=2;DP=10;AF=0.333,0.667;AA=T;DB GT:GQ:DP:HQ 1/2:21:6:23,27 2/1:2:0:18,2 2/2:35:4
20 1230237 . T . 47 PASS NS=3;DP=13;AA=T GT:GQ:DP:HQ 0/0:54:7:56,60 0/0:48:4:51,51 0/0:61:2
20 1234567 microsat1 GTC G,GTCT 50 PASS NS=3;DP=9;AA=G GT:GQ:DP 0/1:35:4 0/2:17:2 1/1:40:3
```

Figure 23. 基因變異儲存格式(Variant call format, VCF)範例。資料結構包含標題區塊(Header)和資料主

體(Body)，標題區塊有強制性及非必要的後設資料(Meta-data)兩部分，資料主體含固定及選擇性格式註解欄位。

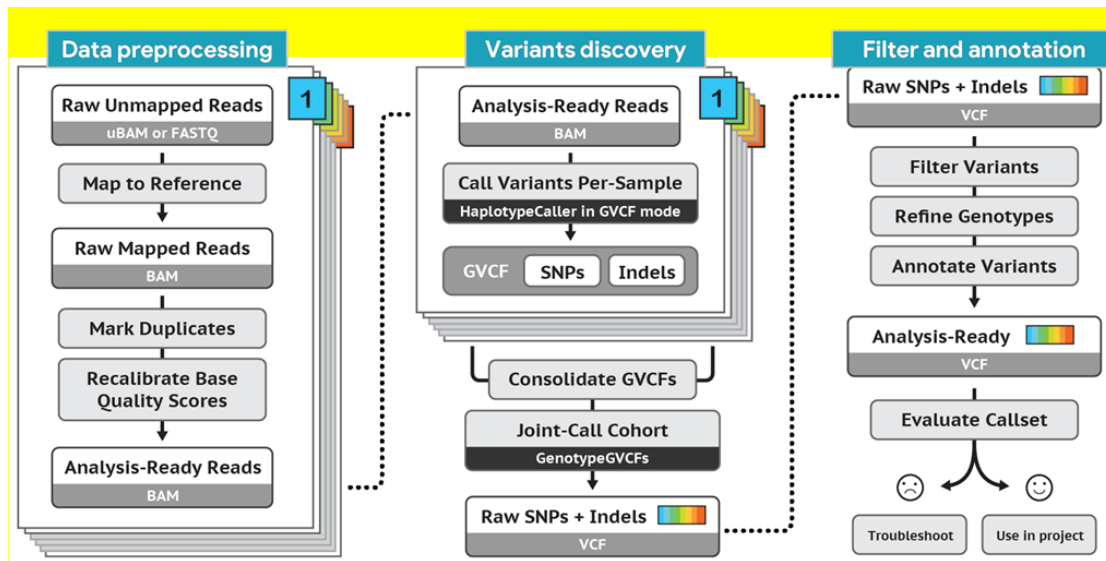


Figure 24. 變異位點分析 GATK Best Practices - Germline short variant discovery

### (c)變異註解

為了從全基因組序列資料中得到尚未被發現的基因變異，計畫將 VCF 中的 SNP 與 dbSNP (Build 150)資料庫比對，同時也使用 ANNOVAR 來註解已知的基因變異。所註解的變異資訊包括了：變異位於基因位置的 5'UTR, exon, intron, 3'UTR 或 intergenic region，如果 SNP 位於 exon 之內，再區分是屬於 Nonsynonymous 或 synonymous；變異是否位於 conserved region;另外，將整合 SNP 基因型資訊製成摘要圖表，包含定序深度、樣本資料缺失率(Missing rate by sample)、多型性位點資料缺失率(missing rate by site)、異結合率(Hetrozygosity rate)、最小等位基因頻度(MAF)、基因型頻度(Genotypes frequency by site)、及多型性位點於全基因組的分布圖(Figure 25)

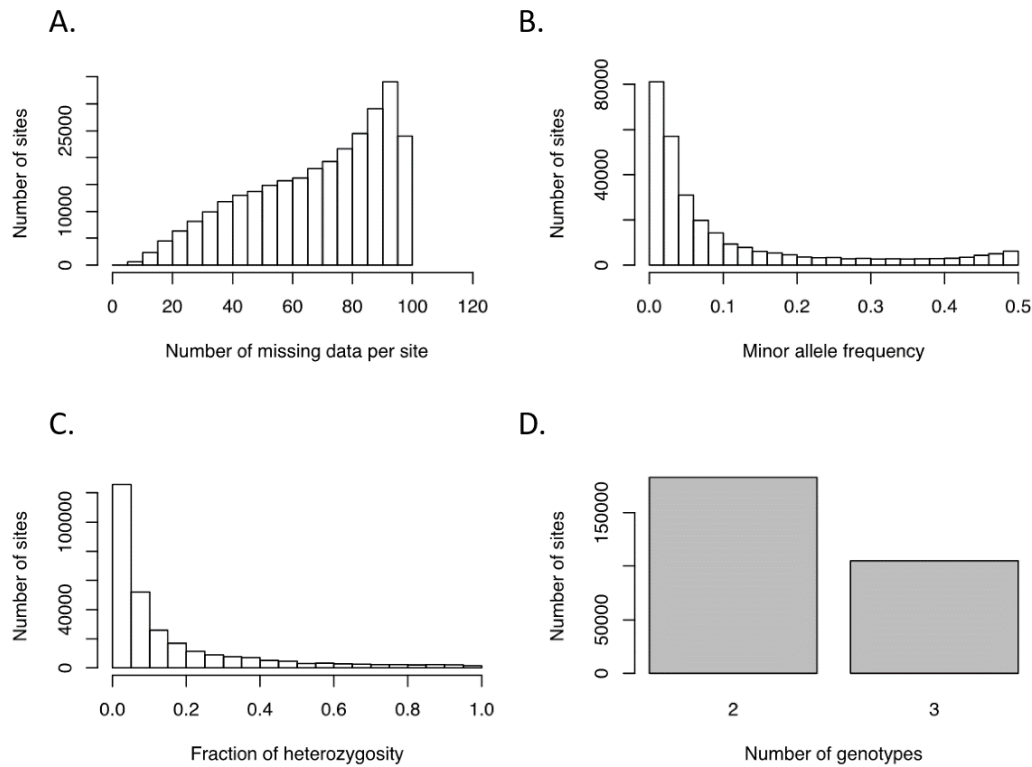


Figure 25 基因型摘要圖表。A. 樣本資料缺失率、B. 最小等位基因頻度、C. 異結合率、及 D. 基因型頻度。

#### (d) 基因型位點補全

基因型填補(Genotype imputation)是一種基於觀察物件已有基因型，對未進行基因分型(Genotyping)的位點之等位基因(Allele)進行預測的方法。填補能增加基因組資料庫中 SNP 的完整性，使得在已經發現的關聯性位點周圍尋找重要性狀位點成為可能，同時也能提高對採用了不合適的標籤(Tagger)SNP 進行標記的 SNP 的檢驗效能，由於不同的批次及方法取得的 SNP 密度和個數也不盡相同，對現有資料採用同一資料庫作為範本進行填補，可以將各研究得到的資料放大到相同尺度和密度上，從而在同一個位點整合多個研究的資訊。



## 參、結果

### (一) 螃蟹籠具逃脫環海上實驗結果

#### (1) 國外海上實驗

本研究研究團隊與馬來西亞登嘉樓大學和泰國宋卡王子大學跨國合作並進行移地研究，海上實驗所使用之逃脫環為人工篩選實驗及活蟹逃脫實驗結果之 S3(長 8.0cm；寬 3.2cm)，再加入較大尺寸之 S5(長 9.0cm；寬 3.6cm)比較逃脫結果，並使用臺灣圓形籠具縫製逃脫環於登嘉樓大學周邊海域以及泰國宋卡王子大學以北的出海口以當地籠具漁業方式投放籠具。2023 年 5~7 月期間海上實驗於登嘉樓周邊海域共投入 360 個籠具，共捕獲 374 隻螃蟹，另經由逃脫環逃出籠具之數量為 21 隻，逃出物種如 Figure 26 所示。比較 S3 與 S5 兩組不同尺寸逃脫環之結果顯示 S3 共逃出 8 隻螃蟹，物種包含遠海梭子蟹、紅星梭子蟹、頑強黎明蟹、紅線黎明蟹(*Matuta planipes*)，甲殼寬介於 3.6~8.0cm，S5 組共逃出 13 隻樣本，物種包含紅星梭子蟹、頑強黎明蟹、紅線黎明蟹，甲殼寬介於 4.8~9.6cm。

於北大年府周邊海域共投入 240 個籠具，共捕獲 72 隻螃蟹，另經由逃脫環逃出籠具之數量為 4 隻，逃出物種如 Figure 27 所示。比較 S3 與 S5 兩組不同尺寸逃脫環之結果顯示 S3 共逃出 3 隻螃蟹，物種包含遠海梭子蟹、變態蟬(*Charybdis variegata*)、赫氏蟬(*Charybdis hellerii*)，甲殼寬介於 3.2~7.8 cm，S5 組共逃出 1 隻樣本，物種包含隆背哲蟹(*Menippe mercenaria*)，甲殼寬為 6.5 cm。

經由海上試驗證實，逃脫環的裝設可讓體型較小之螃蟹逃脫，而針對梭子蟹科物種，S5 逃脫環的甲殼寬範圍較 S3 寬(Figure 28)，S3 介於 3.6~8.0cm，S5 介於 4.8~9.6 cm，與人工篩選實驗及實驗室實驗的結果相同。本年度計畫後續於 2024 年 6~8 月間於澎湖海域進行 3 次海上試驗，海上實驗分為 S3 與 S5 尺寸逃脫環組別逃脫率與逃脫螃蟹尺寸比較，同時設計逃脫環放置於籠具不同位置對逃脫率之影響，實驗後將對每籠具內漁獲物記錄其物種、體長、體重等基礎外部型態資料。

#### (2) 國內海上實驗

本研究在 8 月第一次國內實驗中於各逃脫環外側皆裝設覆蓋網袋，以利收集逃脫螃蟹之甲殼長、寬、高及體重等資訊。然 6 次實驗中所投放有裝設逃脫環之籠具共計 660 個中，只有 4 隻螃蟹分別由 S3(2 隻)及 S5(2 隻)逃脫環逃出。其中 S3 組覆蓋網中所收集到的螃蟹樣本為善泳蟬 1 隻

(甲殼寬為 7.2cm，甲殼長為 5.5cm，甲殼高為 2.7cm)與紅星梭子蟹 1 隻(甲殼寬為 11cm，甲殼長為 4.7cm，甲殼高為 2.9cm)；而 S5 組覆蓋網中所收集到的螃蟹樣本為 2 隻紅星梭子蟹，分別為甲殼寬 12.8cm、甲殼長 5.4cm、甲殼高 3.3cm 與甲殼寬 12.3cm、甲殼長 5.7cm、甲殼高 3.2cm 之樣本。此實驗結果顯示所投放有裝設逃脫環之籠具共計 660 個中，共捕獲 733 隻甲殼類，然只有 4 隻螃蟹於逃脫環逃脫，且滯留於籠具內甲殼寬小於 9cm 之經濟性蟹類共有 60 隻，顯示於各逃脫環外側裝設覆蓋網袋會影響螃蟹從逃脫環逃出之意願與比例。

另外於 2024 年 9 月以及 2025 年 7 月進行 8 次海上實驗中，實驗逃脫環外側均未裝設覆蓋網袋，以進行比較滯留於籠具內之螃蟹物種與甲殼寬大小之差異。實驗結果顯示經濟性螃蟹物種，包括善泳蟳、紅星梭子蟹、鑄斑蟳、漢氏梭子蟹、遠海梭子蟹等之甲殼寬介於 0.58~16.9 cm，平均甲殼寬為 10.71 cm、S1 組甲殼寬介於 2.9~16.9cm，平均甲殼寬為 9.8 cm、S3 組甲殼寬介於 0.5~13.3cm，平均甲殼寬為 9.9 cm、S5 組甲殼寬介於 2.6~15.7 cm，平均甲殼寬為 9.2 cm，對照組甲殼寬介於 1.1~16.1 cm，平均甲殼寬為 10.1 cm；體重 S1、S3、S5 及對照組分別介於 5.7~308 g、3~350 g、8~249 g、5~416 g，平均體重為 96.1g、126.2 g、136.8 g、91.5g。本次實驗的主要捕獲物種為紅星梭子蟹與善泳蟳。整體而言，紅星梭子蟹在各組的捕獲量分別為：對照組 178 隻、S1 組 61 隻、S3 組 32 隻、S5 組 12 隻。其中，對照組捕獲小於 9 cm 之個體 6 隻，佔該組紅星梭子蟹總捕獲量的 3.4%；S1 組捕獲 1 隻，佔 1.6%；S3 組與 S5 組皆未捕獲小於 9 cm 之個體。綜觀各組結果，以對照組捕獲之小於 9 cm 紅星梭子蟹比例最高。

透過甲殼寬組間盒鬚圖(Figure 29a)可看出，無加裝任何逃脫環之對照組有較小的中位數值 8.3 cm、S1 組之中位數為 8.9 cm、S3 組為 9.0 cm，而 S5 組之中位數值為 9.3 cm。對照組之甲殼寬多分布於 7~12cm 之間，S1 組甲殼寬主要分布於 7~13cm 之間、S3 組主要分布於 9~13cm 間、S5 組之甲殼寬則主要分布於 7~13cm 之間(Figure 30a)。在甲殼寬與甲殼高的橢圓分布圖(Figure 31a)中，對照組的分布範圍相對較廣，且集中於較小的甲殼寬與甲殼高；S1 與 S3 兩組則呈現分布範圍收斂的現象；S1 組的分布範圍略大於 S3 組，但整體仍集中於較高的甲殼寬區段。為比較不同逃脫環組別之經濟性螃蟹甲殼寬分布差異，本研究以 Kruskal-Wallis 檢定 進行四組間(Control、S1、S3、S5) 之非母數比較。結果顯示，四組間甲殼寬之差異未達顯著水準 ( $\chi^2=6.310$ ,  $df=3$ ,  $p=0.097$ )，表示整體而言，逃脫環設計對甲殼寬的影響趨勢雖有差異，但尚未達統計顯著。

進一步以 Wilcoxon rank-sum 檢定進行兩兩組間比較，結果顯示：Control 組與 S5 組之間存在顯著差異 ( $W=41367.5$ ,  $p=0.008<0.05$ )，S3 組與 S5 組間亦呈顯著差異 ( $W=3786.0$ ,  $p=0.049<0.05$ )，顯示 S5 組捕獲之螃蟹甲殼寬顯著不同於其他組別。此外，針對甲殼寬是否達到 9 cm 法定最小尺寸進行 卡方檢定，結果顯示不同逃脫環組別間達法定尺寸比例無顯著差異

( $\chi^2 = 5.047$ ,  $df = 3$ ,  $p = 0.168$ , Table 5)。

進一步觀察善泳蟬之甲殼寬 (Figure 29b)，對照組中位數為 7.9 cm，S1 組為 8.4 cm，S2 組為 8.8 cm，而 S3 組為 8.7 cm，顯示加裝逃脫環後之捕獲個體略大。對照組甲殼寬多分布於 7.1–8.8 cm 之間，S1 組介於 7.4–9.5 cm，S2 組主要集中於 8.4–9.9 cm，S3 組則介於 7.8–9.8 cm (Figure 30b)。由甲殼寬與甲殼高橢圓分布圖 (Figure 31b) 可見，S3 組之善泳蟬分布範圍相對較廣，顯示其捕獲的個體體型較多樣；而對照組則集中於較小甲殼寬與甲殼高區域，呈現體型偏小的趨勢。以 Kruskal–Wallis 檢定顯示四組甲殼寬分布具有顯著差異 ( $p = 0.038^*$ )。兩兩比較結果指出：Control 與 S3 ( $p < 0.01^{**}$ ) 以及 S1 與 S3 ( $W = 1512.0$ ,  $p < 0.01^{**}$ ) 達顯著，其餘組合未達顯著。以 9 cm 為門檻的達法定尺寸比例，Control、S1、S3、S5 分別為 19.5%、26.7%、41.9%、41.2%，卡方檢定達顯著 ( $p = 0.033^*$ )，顯示不同逃脫環組別在達法定尺寸之比例上亦有顯著差異，其中 S3 與 S5 較高 (Table 6)。

此外，就紅星梭子蟹而言 (Figure 29c)，對照組中位數為 12.8 cm，S1 組為 13.3 cm，S2 組為 13.0 cm，而 S3 組則為 14.2 cm，顯示逃脫環的安裝對小型個體捕獲有降低效果。對照組甲殼寬分布於 10.0–15.0 cm 之間，S1 組範圍較廣 (約 7.0–16.5 cm)，S2 組集中於 13.0 cm 左右，S3 組則介於 12.0–15.5 cm (Figure 30c)。從甲殼寬與甲殼高橢圓分布圖 (Figure 31c) 可觀察到，四組分布大致重疊，但 S3 組的分布範圍稍向右上延伸，代表其捕獲螃蟹整體體型較大。以 Kruskal–Wallis 檢定比較四組甲殼寬分布，結果達顯著 ( $p < 0.01^{**}$ )，顯示不同逃脫環組別之甲殼寬存在顯著差異。兩兩比較的 Wilcoxon rank-sum 檢定顯示：Control 與 S1 ( $p < 0.01^{**}$ )、Control 與 S5 ( $p < 0.01^{**}$ ) 以及 S3 與 S5 ( $W = 645.0$ ,  $p = 0.049^*$ ) 呈顯著差異；其餘比較未達顯著。就是否達 9 cm 法定尺寸的比例而言，各組分別為 Control 96.6%、S1 96.7%、S3 100%、S5 100%，卡方檢定不顯著 ( $p = 0.678$ , Table 7)。



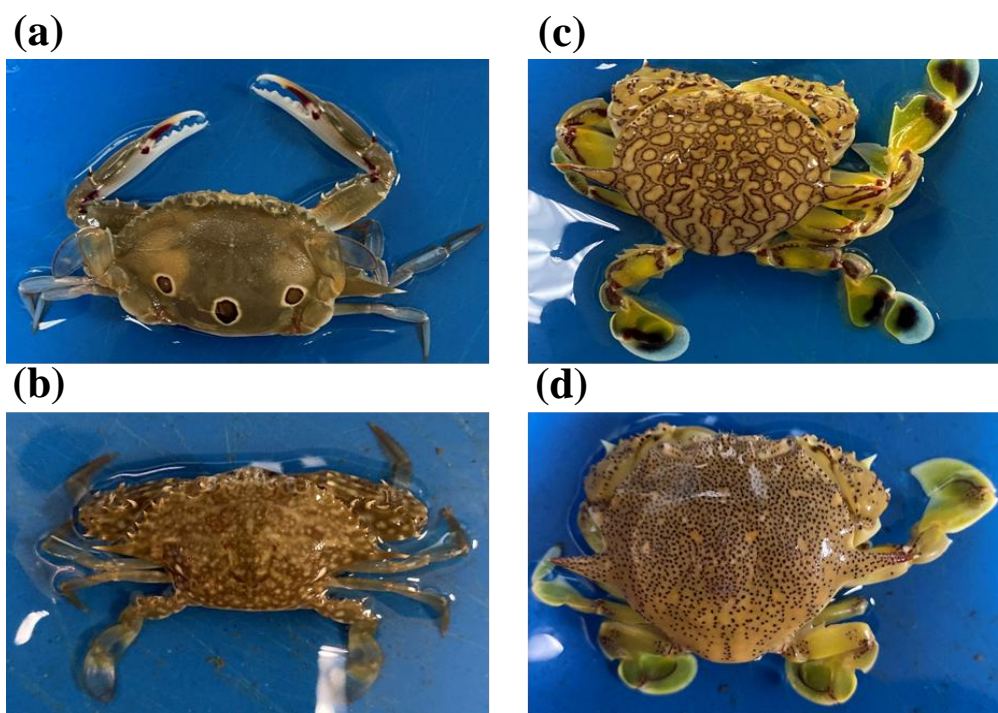


Figure 26. 2023 年 5~7 月登嘉樓周邊海域海上試驗由逃脫環逃出之物種 (a)紅星梭子蟹(*P. sanguinolentus*); (b)遠海梭子蟹(*P. pelagicus*); (c)紅線黎明蟹(*M. planipes*); (d)頑強黎明蟹(*M. victor*)

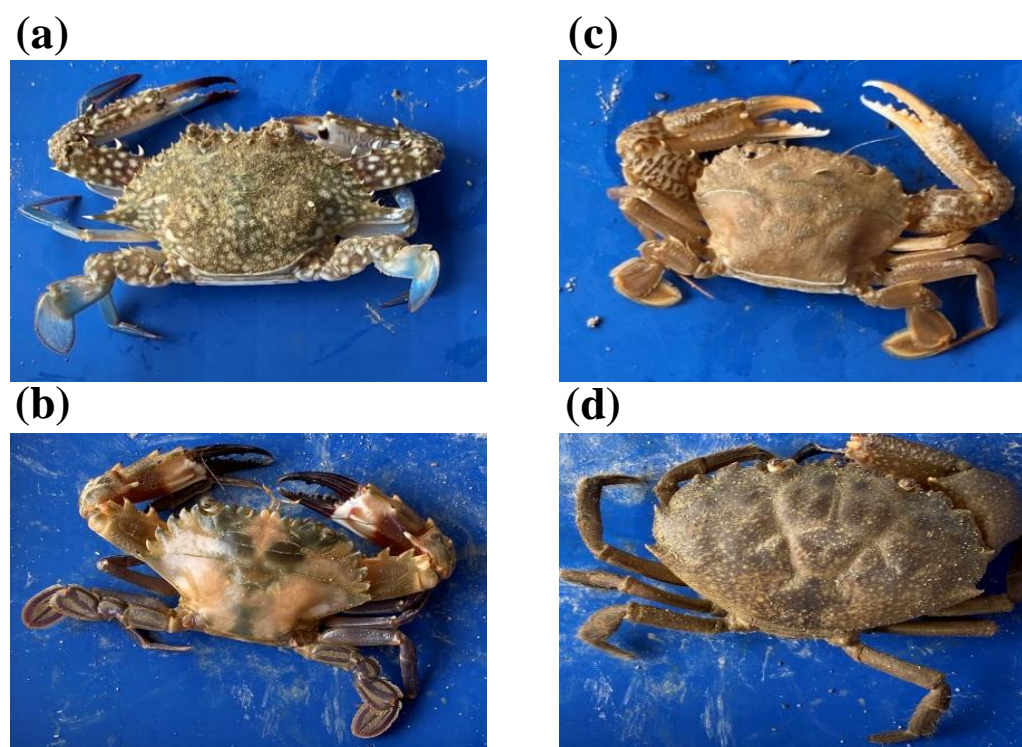


Figure 27. 2023 年 5~7 月北大年府周邊海域海上試驗由逃脫環逃出之物種 (a)遠海梭子蟹(*P. pelagicus*); (b)赫氏蟬(*C. hellerii*); (c)變態蟬(*C. variegata*); (d)隆背哲蟹(*M. mercenaria*)

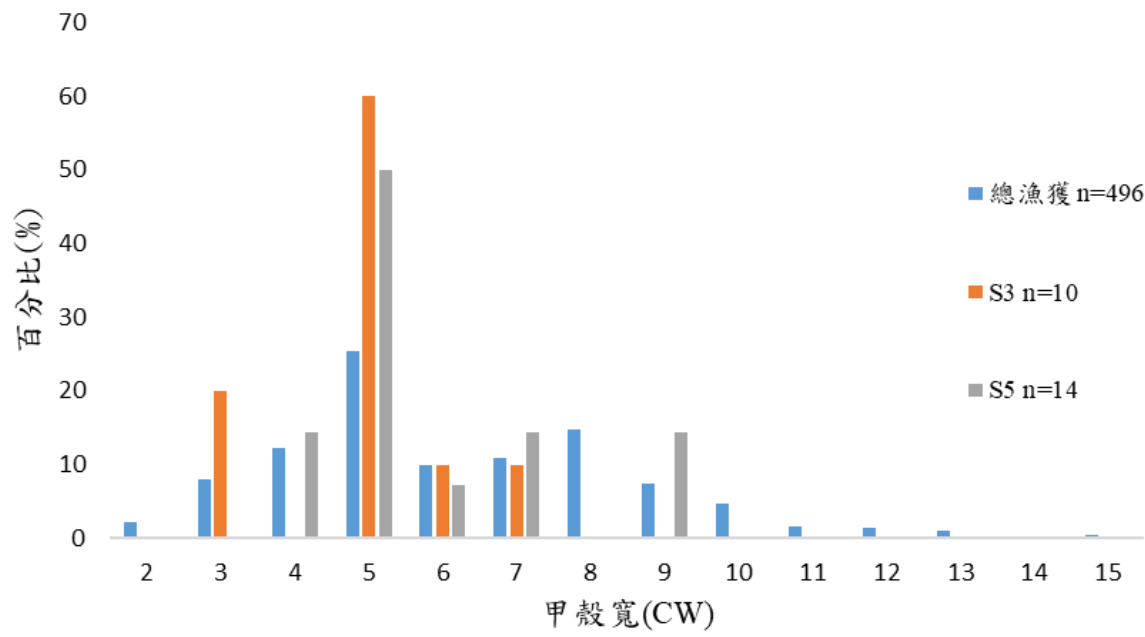


Figure 28. 登嘉樓與北大年府海上試驗期間總漁獲與由 S3、S5 逃出物種之甲殼寬頻度分布



Table 5. 籠具逃脫環實驗經濟性螃蟹組間甲殼寬統計分析結果

## (a) Kruskal-Wallis 檢定

	統計量		
Kruskal-Wallis rank sum test	(Chi-squared)	df	p-value
	6.31	3	0.10

## (b) Wilcoxon rank-sum 檢定

Group	統計量 (W)	p-value
Control vs S1	47585	0.10
Control vs S3	42180	0.93
Control vs S5	41367.5	p<0.01
S1 vs S3	8899	0.93
S3 vs S5	3786	p<0.05 *

## (c) 卡方檢定(Chi-square test) (達 9 cm 法定尺寸之比例)

	卡方值		
Chi-square test	(X-squared)	df	p-value
	5.047	3	p >0.05

Table 6. 籠具逃脫環實驗善泳蟬魚獲組間甲殼寬統計分析結果

## (a) Kruskal-Wallis 檢定

	統計量		
Kruskal-Wallis rank sum test	(Chi-squared)	df	p-value
	8.4251	3	p < 0.05*

## (b) Wilcoxon rank-sum 檢定

Group	統計量 (W)	p-value
Control vs S1	5378	0.51
Control vs S2	4214.5	p < 0.01
Control vs S3	4708	0.59
S1 vs S3	1512	p < 0.015
S3 vs S5	1101	0.31

## (c) 卡方檢定(Chi-square test)

	卡方值		
Chi-square test	(X-squared)	df	p-value
	29.556	3	p < 0.05

Table 7. 籠具逃脫環實驗紅星梭子蟹漁獲組間甲殼寬統計分析結果

(a) Kruskal-Wallis 檢定

	統計量		
Kruskal-Wallis rank sum test	(Chi-squared)	df	p-value
	11.879	3	p < 0.05

(b) Wilcoxon rank-sum 檢定

Group	統計量 (W)	p-value
Control vs S1	19814.5	p < 0.01
Control vs S2	18211.5	0.073
Control vs S3	16457	p < 0.01
S1 vs S3	2878	0.47
S3 vs S5	645	p < 0.05

(c) 卡方檢定(Chi-square test)

	卡方值		
Chi-square test	(X-squared)	df	p-value
	29.56	3	p < 0.05*

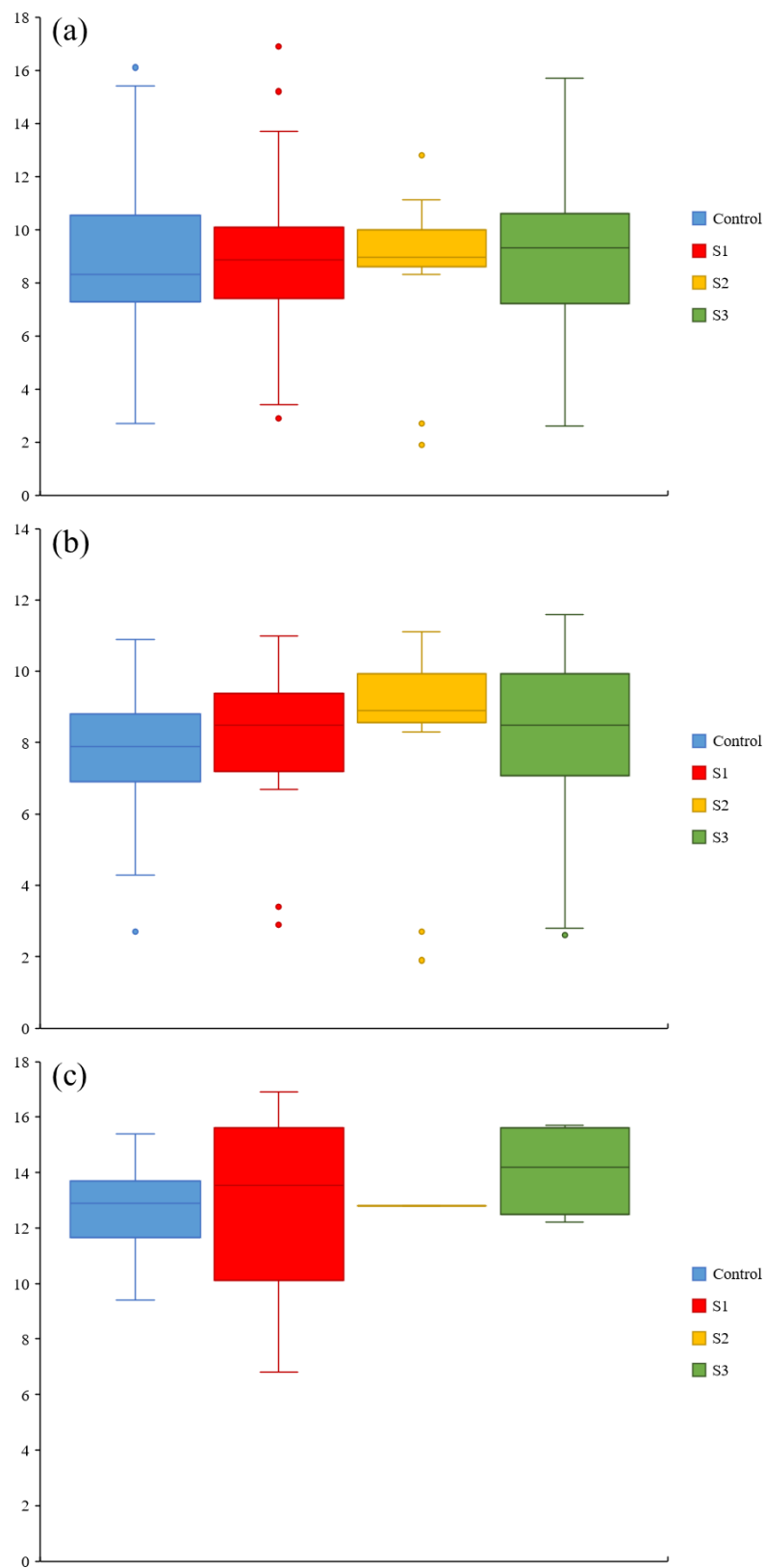


Figure 29. 澎湖東南海域籠具逃脫環各實驗組間經濟性螃蟹甲殼寬盒鬚圖 (a)全部經濟性螃蟹 (b) 善泳蟳 (c)紅星梭子蟹

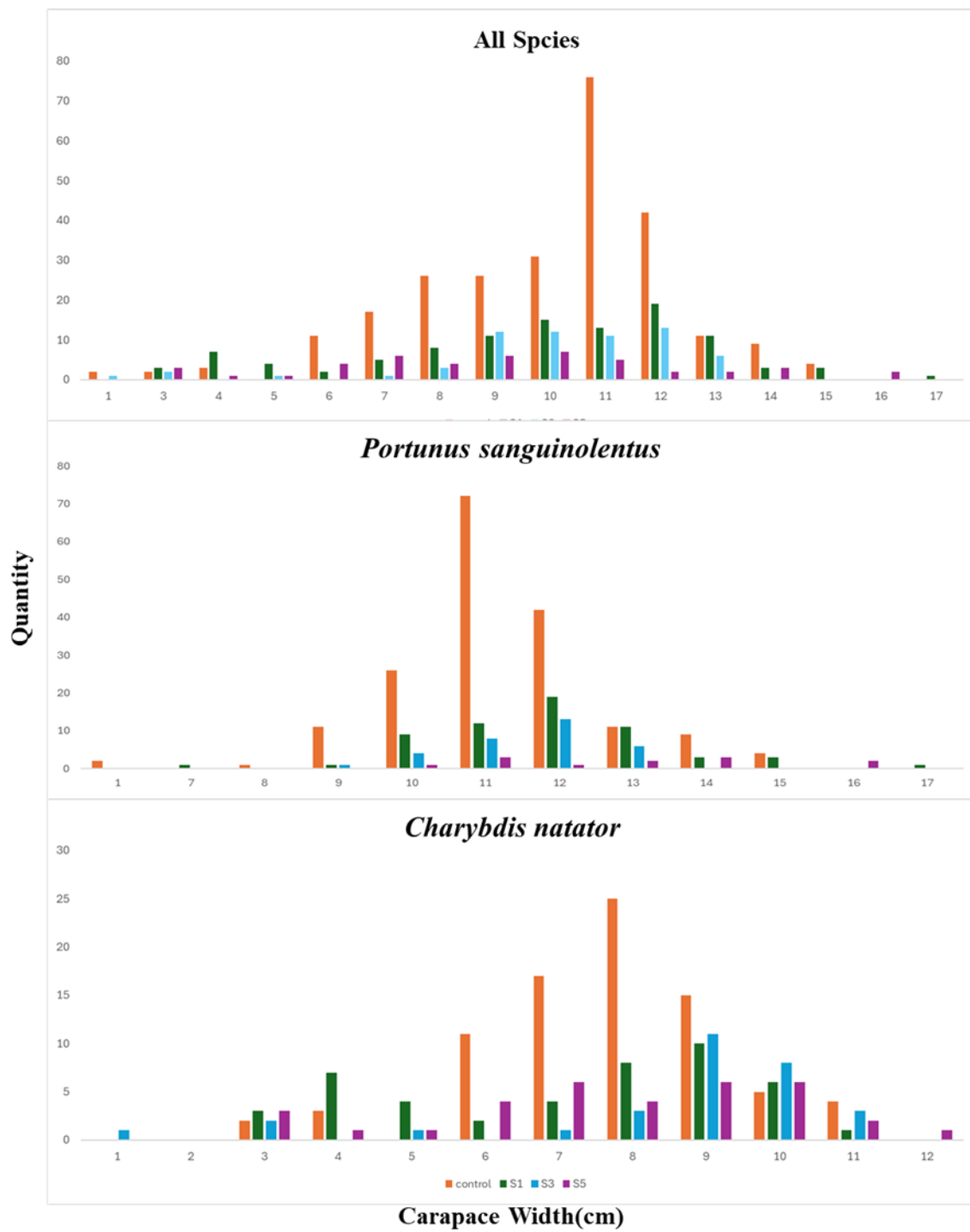


Figure 30. 澎湖東南海域籠具逃脫環實驗組間經濟性螃蟹甲殼寬分布區間 (a)全部經濟性螃蟹 (b) 善泳蟬 (c)紅星梭子蟹



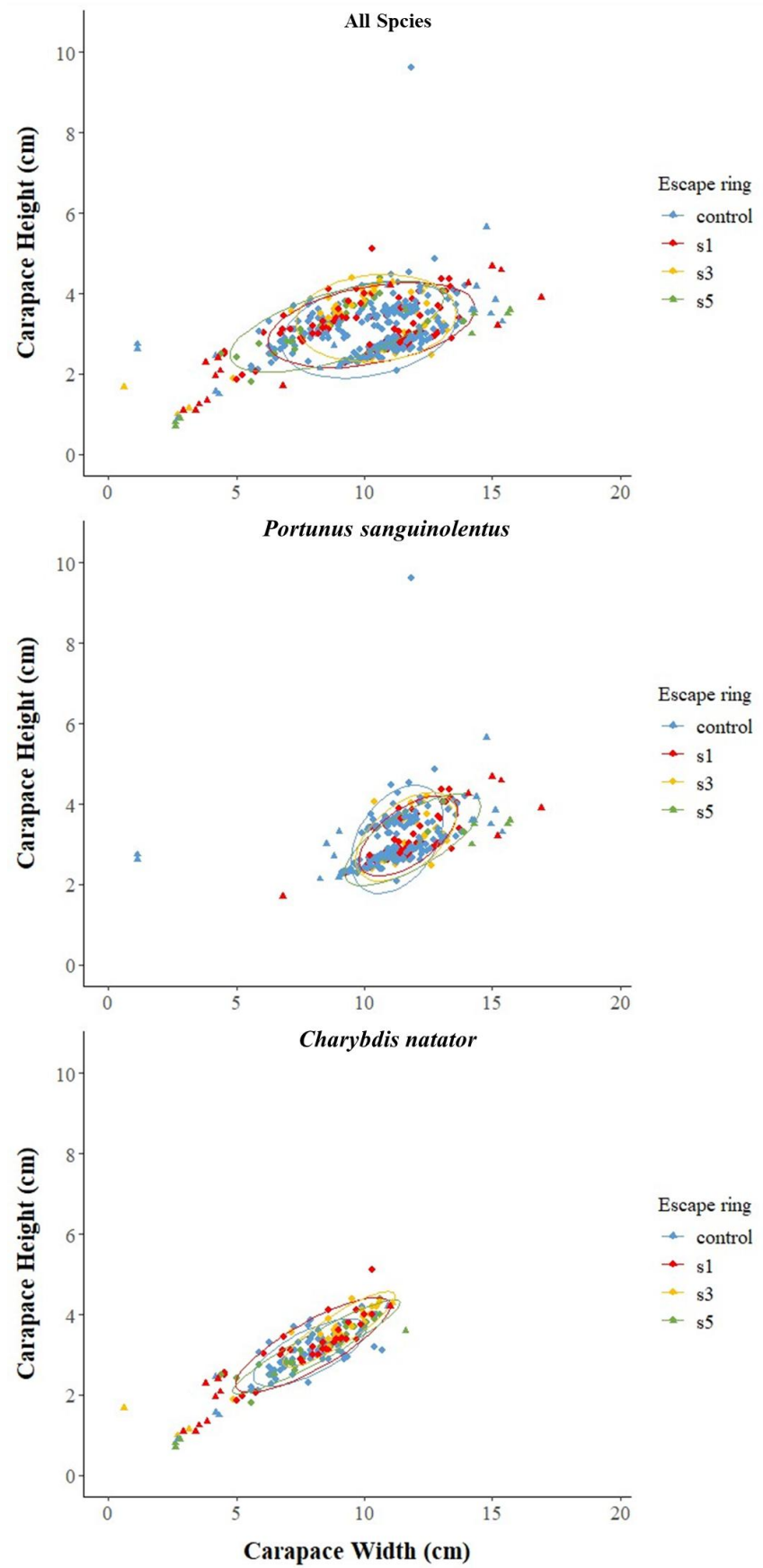


Figure 31. 澎湖東南海域籠具逃脫環實驗組間經濟性螃蟹甲殼寬-甲殼高橢圓分佈圖 (a)全部經濟性螃蟹 (b)善泳蟬 (c)紅星梭子蟹

## 解析不同波長光源對籠具蟹類捕撈率影響

捕獲量結果顯示(Table 8)在不同光照處理下的主要的梭子蟹種類捕獲量，結果表明鏽斑蟬(*Charybdis feriatus*)在藍光組中數量最少(0 隻)，而紅星梭子蟹(*Portunus sanguinolentus*)在控制組中數量最高(241 隻)。綠色光對漢氏梭子蟹(*Portunus hanii*)的吸引效果不顯著，僅捕獲 5 隻。此外在混獲數量為藍光組最多 139 隻，紅光組混獲數量最低 74 隻。

Table 8. 不同波長光源下所捕獲的梭子蟹數量

Treatment	控制組	藍光組	綠光組	紅光組
鏽斑蟬 <i>Charybdis feriatus</i>	2	-	5	4
善泳蟬 <i>Charybdis natator</i>	54	12	10	16
漢氏梭子蟹 <i>Portunus hanii</i>	-	-	-	4
紅星梭子蟹 <i>Portunus sanguinolentus</i>	241	177	161	148
遠海梭子蟹 <i>Portunus pelagicus</i>	7	11	7	17
鋸緣青蟹 <i>Scyllaserrata</i>	-	-	-	1
混獲量	88	139	100	74

GLMM 結果顯示(

Table 9)分析中回應變數分別為捕獲量與甲殼寬時的模型結果。Figure 33 顯示了不同光源和海域對捕獲量的影響，實驗海域及性別對梭子蟹甲殼寬的影響。模型分析中海域以登嘉樓海域為基準，燈光條件以控制組基準，性別為雄性。

在捕獲個數為回應變數的 GLMM 模型中(

Table 9a)，結果顯示藍光和綠光對捕獲量的影響均不顯著( $P>0.05$ )，紅光組的捕獲量略低於控制組但統計同樣不顯著。另外登嘉樓海域捕獲效益略較澎湖海域與北大年府海域佳，但均未達到顯著差異。結果顯示實驗海域天然環境對捕獲效果的影響大於光源所產生的效應，光源組別間的差異並未達到顯著性，表明光源可能並非影響捕獲率的關鍵因素(

Table 9a、Figure 32)。

而在甲殼寬為回應變數的模型中(

Table 9b、Figure 33)，實驗海域是影響螃蟹甲殼寬的主要因素，對甲殼寬具有顯著影響 ( $P<0.05$ )。其中澎湖海域的螃蟹甲殼寬顯著大於其他區域，而北大年府海域的甲殼寬較小，但仍大於登嘉樓海域；捕獲到的雄性螃蟹甲殼寬顯著大於雌性，但性別對甲殼寬的影響未達到顯著差異；不同光照類型對螃蟹甲殼寬的影響不顯著。這表明海域特性是影響螃蟹甲殼寬的關鍵因素，而光

照類型的作用有限。

Table 9. 不同波長光源影響下捕獲數量與甲殼寬 GLMM 模型結果

(a)	Estimate	Std. Error	z value	P-value
Intercept	0.6640	0.1270	5.227	<0.0001
Blue light	0.1071	0.0902	1.187	0.2352
Green light	-0.0458	0.0932	-0.492	0.6230
Red light	-0.1129	0.0954	-1.172	0.2410
Patani sea	-0.3180	0.2284	-1.392	0.1639
Penghu sea	-0.3369	0.1594	-2.114	0.0345

(b)	Estimate	Std. Error	z value	P-value
Intercept	8.1989	0.4615	17.767	<0.0001
Blue light	-0.1442	0.4437	-0.325	0.7452
Green light	-0.3107	0.4557	-0.682	0.4953
Red light	-0.4262	0.4616	-0.923	0.3559
Patani sea	1.9319	0.8250	2.342	0.0192
Penghu sea	4.0985	0.4253	9.637	<0.0001
Female	-0.0156	0.3799	-0.041	0.9673

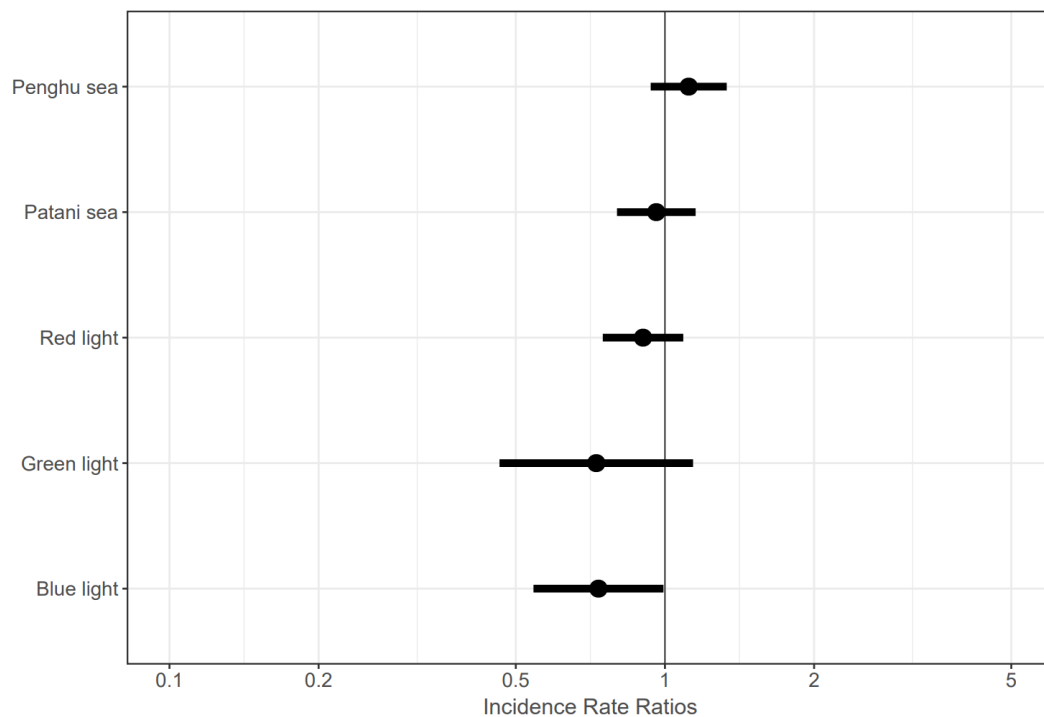


Figure 32. 比較不同光源與實驗海域對梭子蟹捕獲量的影響 GLMM 模型結果

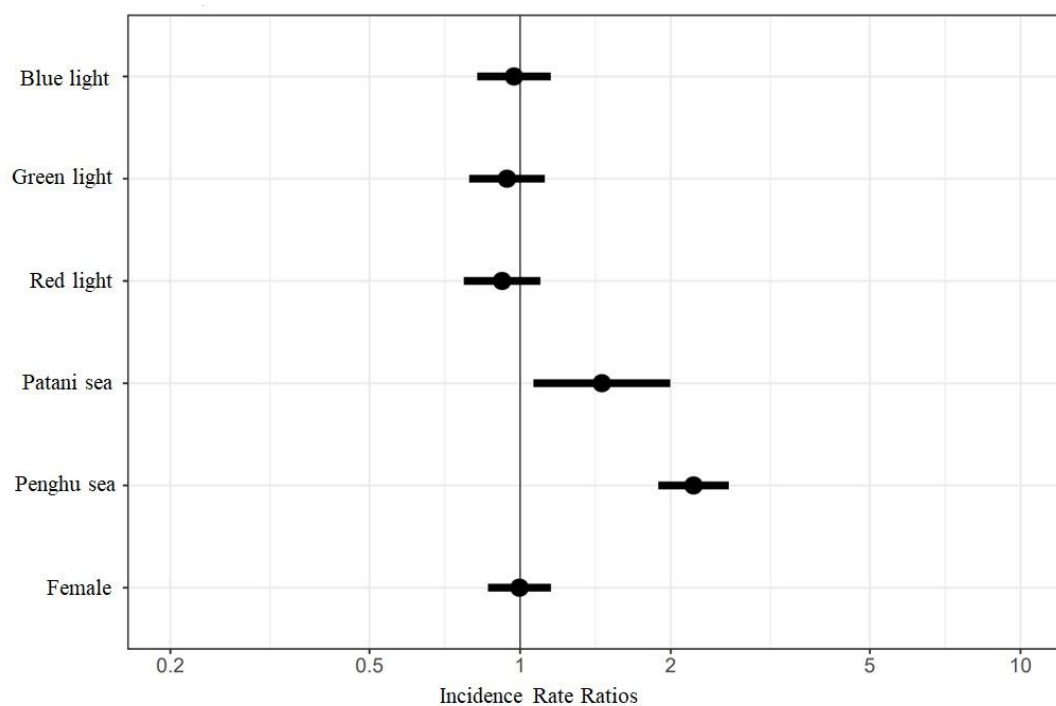


Figure 33. GLMM 模型比較不同光源和海域對梭子蟹甲殼寬的影響

### 3.3 捕獲率與甲殼寬的分佈差異

在不同實驗海域和光源組別捕獲率與甲殼寬結果顯示，梭子蟹的捕獲率和甲殼寬分佈存在顯著差異(Figure 34、Figure 35)。顯示登嘉樓海域的梭子蟹捕獲率在不同光源組別相對平均(Figure

34)，控制組與藍光組捕獲率較高，而綠光組和紅光組略有下降；北大年府海域結果顯示各組別間梭子蟹的捕獲率差異較大，綠色光的捕獲率相對較高；澎湖海域整體捕獲率較高，但各光源組別的差異較小紅光組略低。

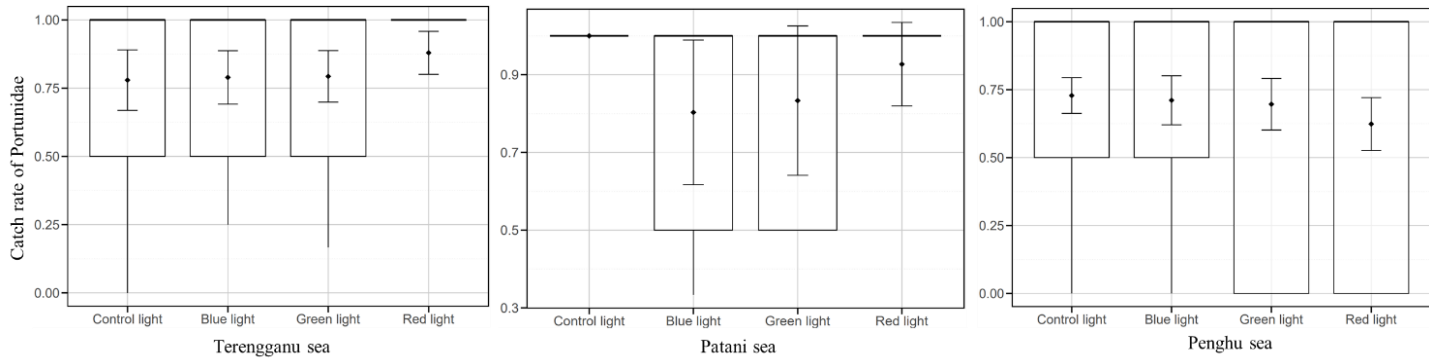


Figure 34. 不同海域與光源組別梭子蟹捕獲率盒鬚圖

在甲殼寬分佈上，登嘉樓海域捕獲的梭子蟹甲殼寬集中在 7.5 至 10 cm 範圍，綠光組捕獲的梭子蟹略小於其他光源組別(Figure 35a)。北大年府海域捕獲的梭子蟹甲殼寬分布較廣，藍光組與綠光組的甲殼寬分布較大，控制組和紅光組的甲殼寬分布區間較為相同(Figure 35b)。澎湖海域海域的甲殼寬顯著大於其他區域，分佈集中在 12 至 14 cm 之間，各光源組別的差異不大，但紅光組略低於其他光源組別(Figure 35c)。這些結果表明不同實驗海域和光源組別對捕獲率和甲殼寬有不同程度的影響，實驗海域可能是影響捕獲大小的主要因素，而光源組別的影響相對較弱。

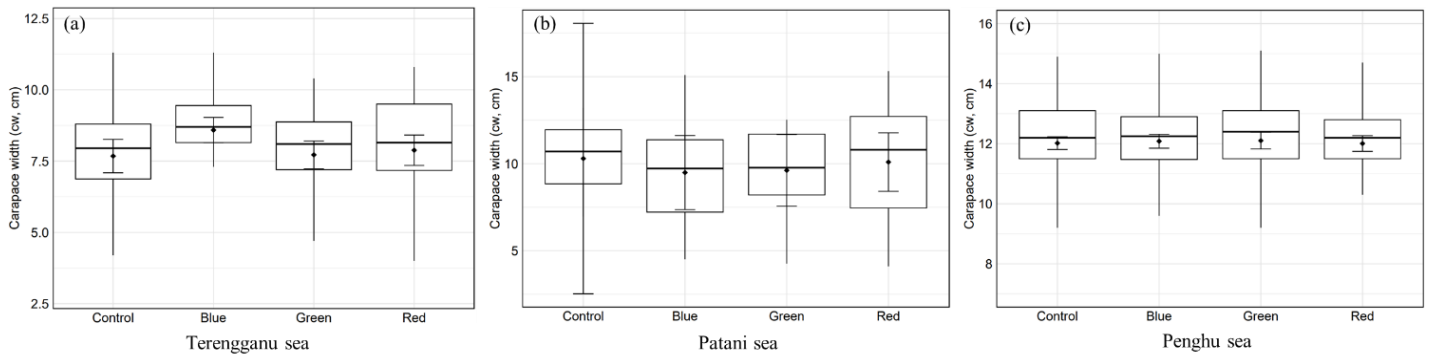


Figure 35. 不同海域與光源組別捕獲梭子蟹平均甲殼寬度盒鬚圖

不同光源組別中各性別的螃蟹平均捕獲量(Figure 36)結果顯示，在雌性的平均捕獲量控制組和藍光組數量最多接著是紅光組，綠光組則數量最少。在雄性的平均捕獲量中，紅光組數量最多接著控制組和綠光組，藍光組則數量最少。這表明不同光源組別對不同性別螃蟹的捕獲效果具有顯著差異，尤其是綠光組顯著降低了雌性梭子蟹的捕獲數量，而紅光組對雄性梭子蟹的捕獲效果更好。



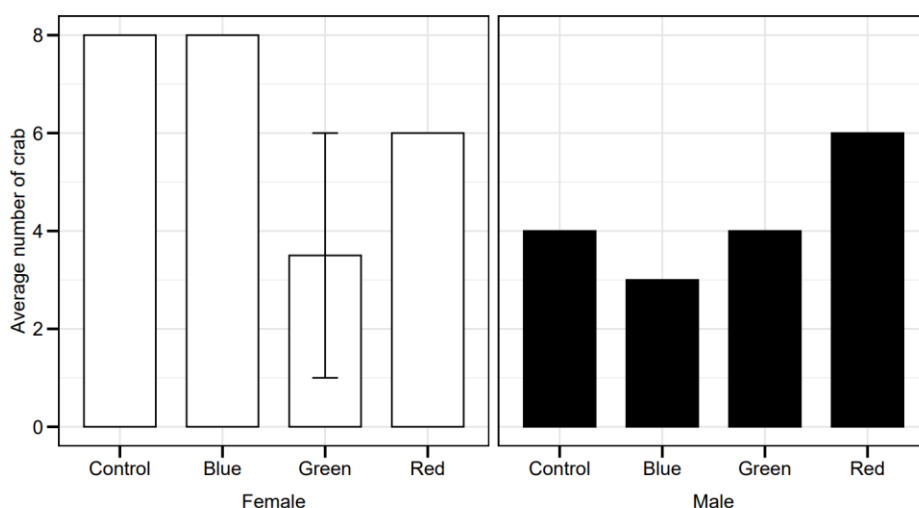


Figure 36. 不同燈光源組別各性別梭子蟹平均捕獲量

## (二) 自製 LED 燈光測試組應用於陸蟹保育

本研究先在室內實驗中模擬陸蟹棲地環境棲地特性，以常見路殺影響之毛足特式蟹為研究對象，透過測驗不同波段 LED 光對陸蟹趨性影響，並以動物軌跡追蹤軟體 Noldus Ethovision XT 系統分析不同色光對陸蟹行為影響之差異。光源使用自製 LED 發光二極體燈光組，其波長峰值如 Figure 37 所示分別是藍色 458nm、綠色 526nm、紅色 630nm、白色 460nm，燈組中白光的波長偏向藍光，可經由改變其他色光的比例，變化白光的波長峰值。以不同行為將各色光源分為正趨性、負趨性、無趨性後，利用不同的組合影響陸蟹的行為，並將其運用於路燈上，提高未來陸蟹遷徙路徑的安全性。

**室內實驗：**燈光對陸蟹行為影響實驗分為五個組別，分別是藍光、紅光、綠光、白光與無光，每個組別各已進行 30 次實驗，經錄像統計平均速率、滯留累積時間、起點至弱光區累積時間以及熱點圖計算。若以移動速率數據來分析(Figure 38)，紅光組平均速率為 0.785cm/s，各組速率介於 0.33-2.52cm/s；藍光組平均速率為 0.73cm/s，各組速率介於 0.38-4.83cm/s；綠光組平均速率為 0.686cm/s，各組速率介於 0.42-2.23cm/s；白光組平均速率為 0.682cm/s，各組速率介於 0.38-2.82cm/s；無光組平均速率為 0.885cm/s，各組速率介於 0.36 -4.23cm/s，利用兩個常態母體變異數 F 檢定(Table 10)，結果顯示紅光組與藍光組、無光組有顯著差異( $p < 0.05$ )；藍光組與綠光組、白光組有顯著差異( $p < 0.05$ )；綠光組與白光組有顯著差異( $p < 0.05$ )；白光組與無光組有顯著差異( $p < 0.05$ )，再利用母體平均數差 T 檢定顯示均無差異(Table 11)。

若以滯留時間分析結果(Figure 39)，強光區平均滯留時間最長組別為紅光組共 436 秒，其次

是無光組平均滯留時間為 432 秒，接著是綠光組平均滯留時間為 397 秒；弱光區平均滯留時間最長組為白光組共 222 秒，其次是藍光組平均滯留時間為 199 秒，接著是無光組平均滯留時間為 181 秒。若以起點至弱光區平均秒數分析結果(Figure 40)，紅光組平均為 401 秒、藍光組平均為 463 秒、綠光組平均為 465 秒、白光組平均為 445 秒、無光組平均為 373 秒，利用 ANOVA 單因子變異數分析，結果亦無顯著差異( $p>0.05$ ) (Table 12.)。

另設計 x、y 軸在影片中每 30 秒記錄一次螃蟹的點位(Figure 41-Figure 45)，結果顯示螃蟹習慣於實驗槽邊側移動，並在有光源照射時更加明顯，其中藍光組與綠光組大部分皆在邊側移動，紅光組與白光組有少許在實驗槽中間位移，無光組為 5 組中在實驗槽中間出現最多次的組別。實驗中發現紅光組多次有蟹類逃出實驗場域且對光源具有攻擊行為，顯示藍光及紅光對於路蟹行為具有顯著的影響，但從實驗觀察紅光對陸蟹可能為一種威脅訊號，因此在過程中有攻擊行為，藍光則為相較穩定的誘因。

**野地實驗：**2022 年 9-10 月前往墾丁砂島生態區進行，實驗開始前於當地周遭地區採集共 16 隻抱卵母蟹，因場地及樣本數量受限，野地實驗進行 1 次無光實驗及兩次藍光實驗，實驗結果數據顯示如 Table 13 所示，兩次藍光實驗中，共 15 隻蟹類進行實驗，有超過半數的蟹類樣本(9 隻)，自藍光端走出。無光實驗中，僅試驗一隻螃蟹，並從原地爬出。墾丁室外實驗結果顯示與室內實驗結果相同，藍光對於蟹類樣本有正趨性影響。

2023 年 8 月間亦再前往墾丁砂島生態區進行第 2 次實驗，共採集 18 隻母蟹，進行一次藍光實驗，計有 13 隻蟹類樣本通過架設藍光燈具之隧道，2 隻進入但未通過、3 隻折返退出通道，野地實驗結果持續分析中，同時攜回樣本待後續進行趨光行為與眼球構造變化之實驗。另一野地實驗於台 26 線墾丁香蕉灣路段(2023 年 6~10 月)進行，結果顯示，無光組中 142 隻毛足特氏蟹個體中有 22 隻逆行，逆行率為 16%、順行率為 84%。這些逆行個體大多在施放後 10 分鐘內出現在山側，顯示其施放後立即逆行。藍光組中，75 隻個體中有 13 隻逆行，逆行率為 17%、順行率為 79%，另有 3 隻個體停留在洞穴中，無法判定是否逆行，因此不計入順行率計算；紅光組的 8 隻個體中無逆行，逆行率為 0%、順行率為 100%。綜上結果所述，不同光源條件下，毛足特氏蟹的逆行和順行行為間存在差異，其中無光組和藍光組均顯示一定的逆行現象，而紅光組未發現逆行個體(Table 14)。

2024 年 9 月 18~19 日及 10 月 17~19 日的晚間 19:00~21:30 於台 26 線墾丁香蕉灣路段的 2 條涵洞進行無光組和藍光組實驗，調查期間共捕獲 53 隻抱卵雌蟹與 1 隻雄蟹，其中藍光組共 32 隻有 2 隻逆行、4 隻停留於在地道中，因此不計入順逆行率的計算，順行及逆行率分別為 92.9%、7.1%，5 日總平均速度為 2.41cm/s(Figure 46)；無光組共 22 隻，其中有 4 隻逆行，順行及逆行率分別為 81.8%、18.2%，4 日總平均速度為 2.66cm/s(Figure 46)，特別發現無光組實驗時出現 2 隻

藍光組已測試通過之陸蟹，同時於正在錄影的無光涵洞中，推測無光組與藍光組表現相比有較易使陸蟹迷航的現象。

後續分析兩組光源平均速度之母體平均數獨立性 T 檢定，結果為無顯著差異(Table 15)，以及利用卡方檢定不同光源與順逆行率是否有關連，結果亦為無顯著差異(Table 16)。本次亦將實驗當日潮汐漲退潮納入為陸蟹是否成功通過涵洞的因子，藍光實驗中漲潮時順行隻數為 4 隻，退潮時順行隻數為 22 隻，逆行為 2 隻；無光實驗中漲潮時順行隻數為 2 隻，退潮時順行隻數為 16 隻，漲潮時逆行為 2 隻，退潮時逆行為 2 隻，可發現退潮時順行隻數占大宗，而經卡方檢定潮汐的漲潮及退潮對順、逆行率結果不同光組顯示無顯著差異( $p>0.05$ )，不分光狀況下檢定結果顯示亦無顯著差異( $p>0.05$ )。

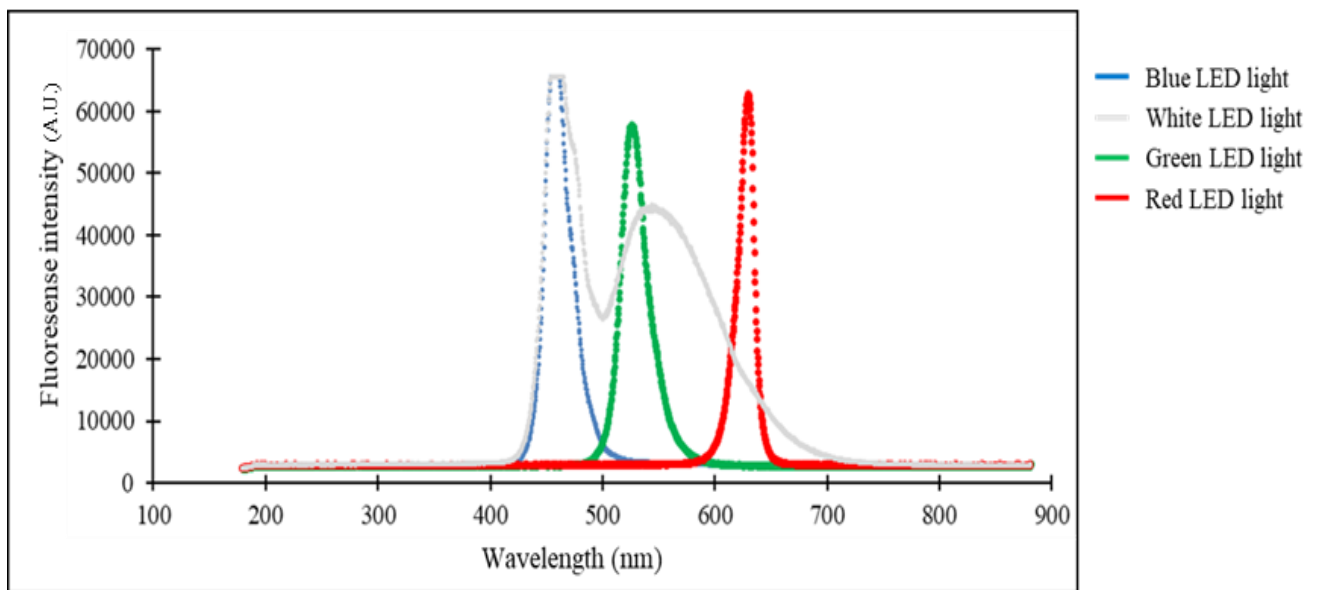


Figure 37. 本實驗使用燈組中四種光的波長分別是藍色 458nm、綠色 526nm、紅色 630nm、白色 460nm

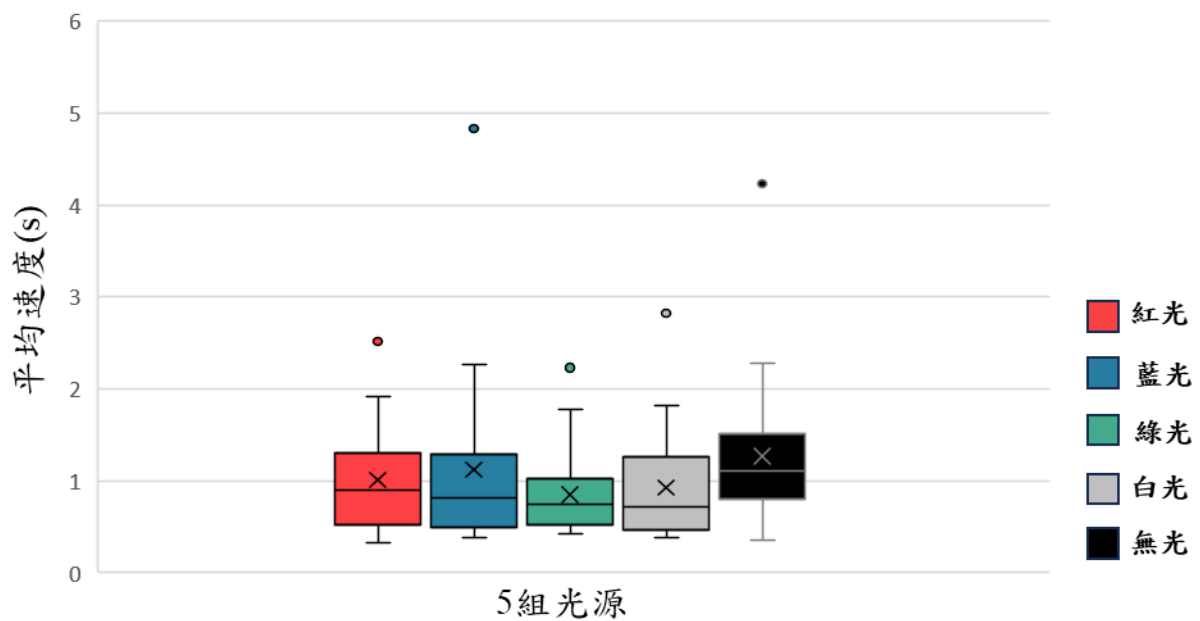


Figure 38. 室內實驗 5 組不同光源影響下毛足特式蟹的平均速率(cm/s)合鬚圖

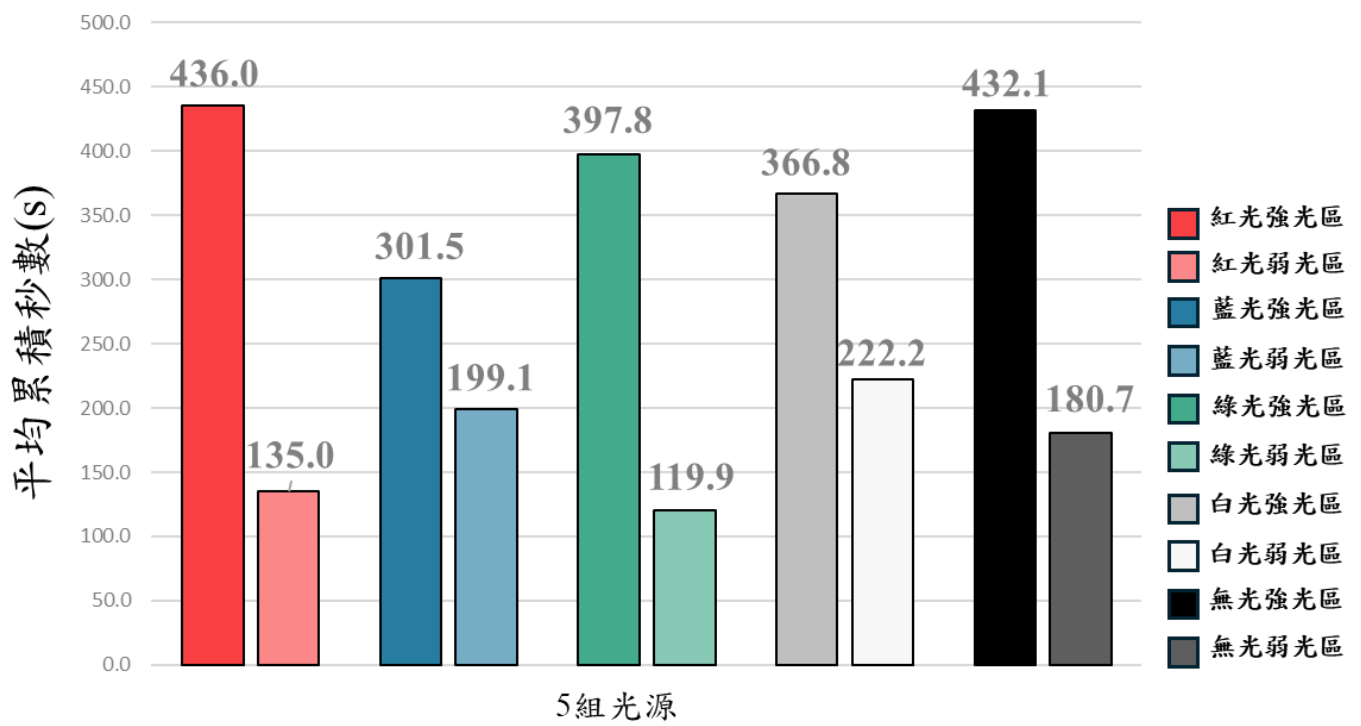


Figure 39. 室內實驗 5 組不同光源下毛足特式蟹在強光區、弱光區的平均累積秒數(s)長條圖

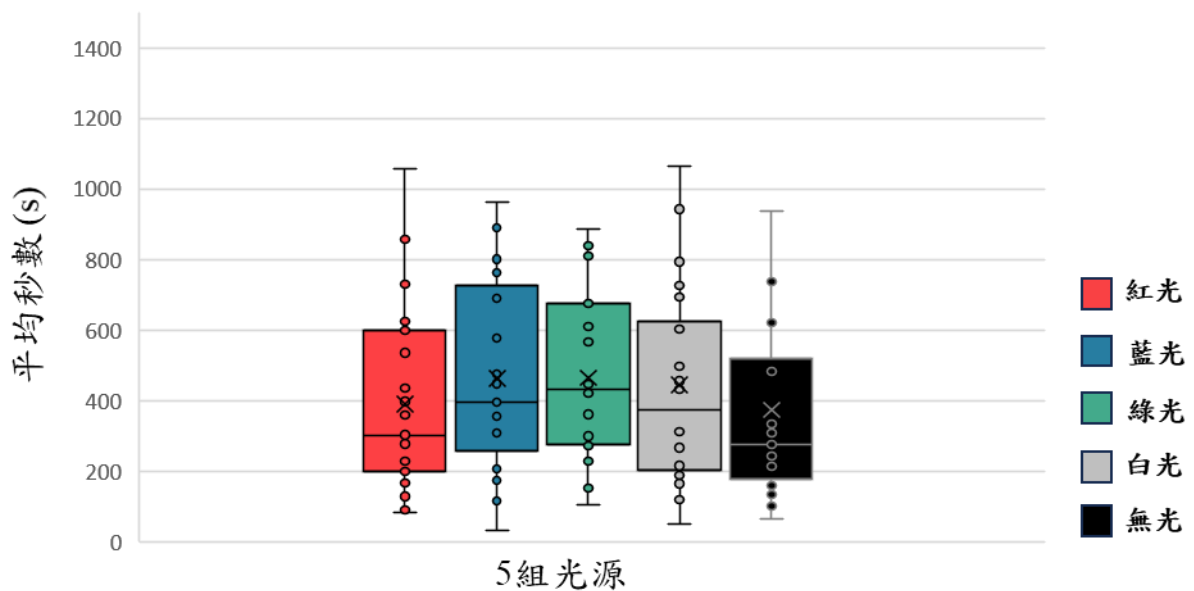


Figure 40. 室內實驗 5 組不同光源下毛足特式蟹起點至弱光區平均秒數(s)合鬚圖



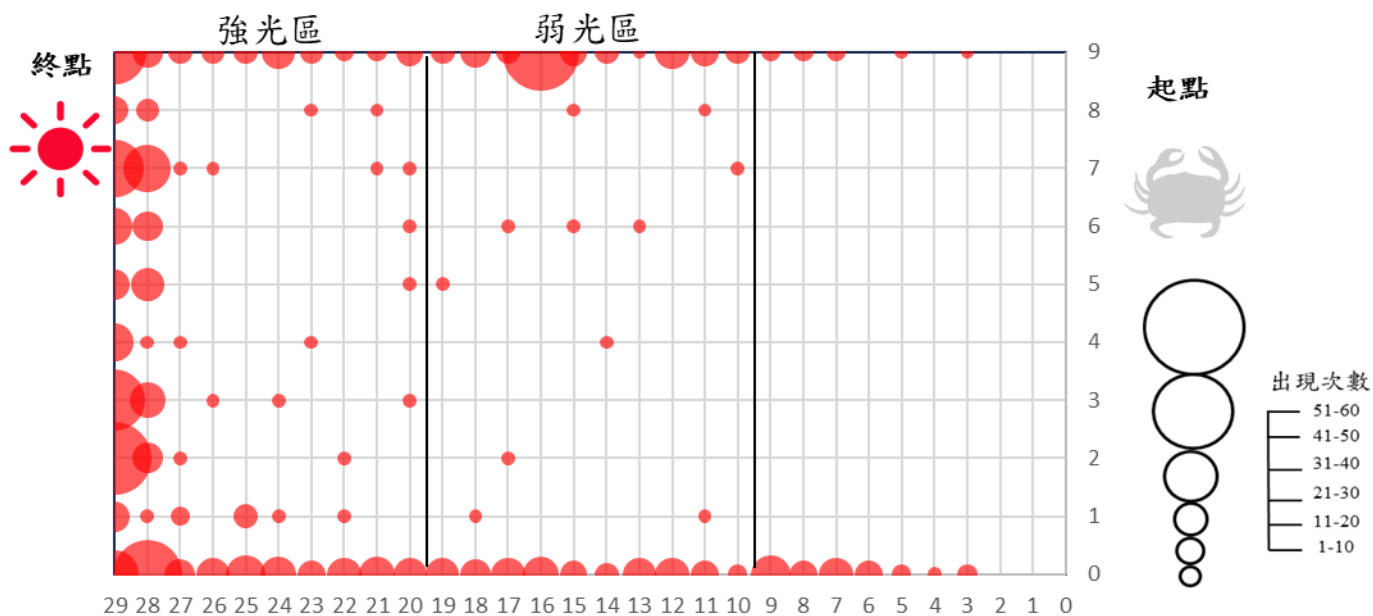


Figure 41. 紅光影響下毛足特式蟹移動分布熱點圖

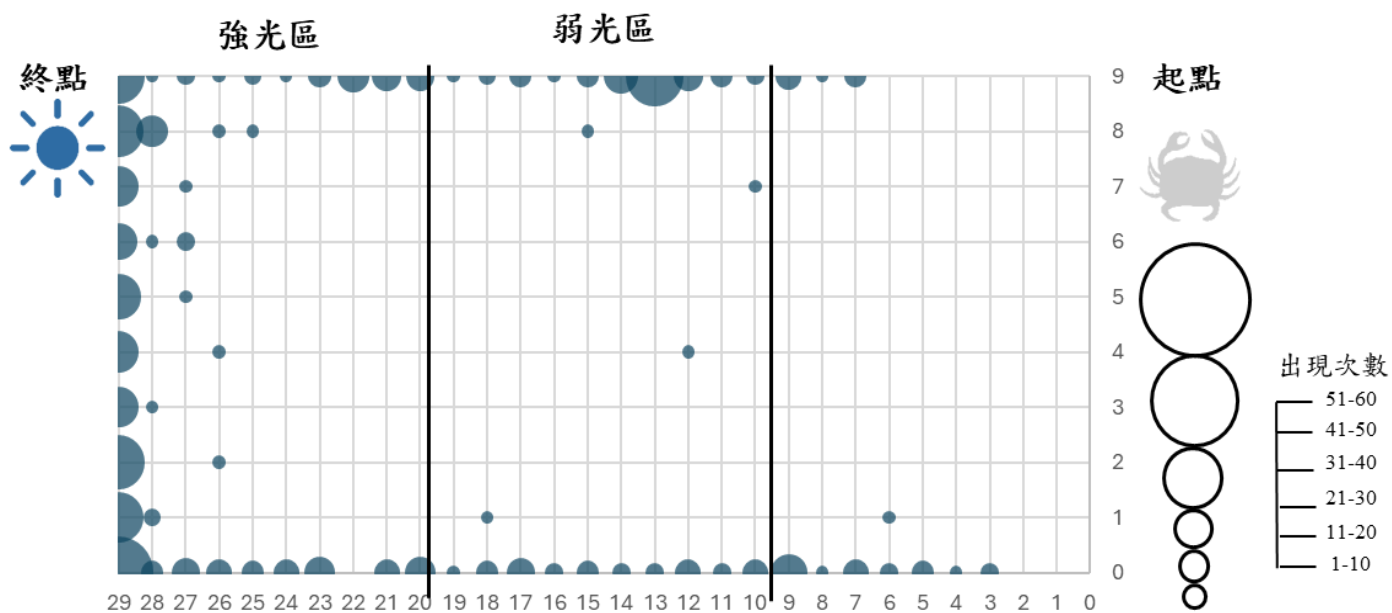


Figure 42. 藍光影響下毛足特式蟹移動分布熱點圖

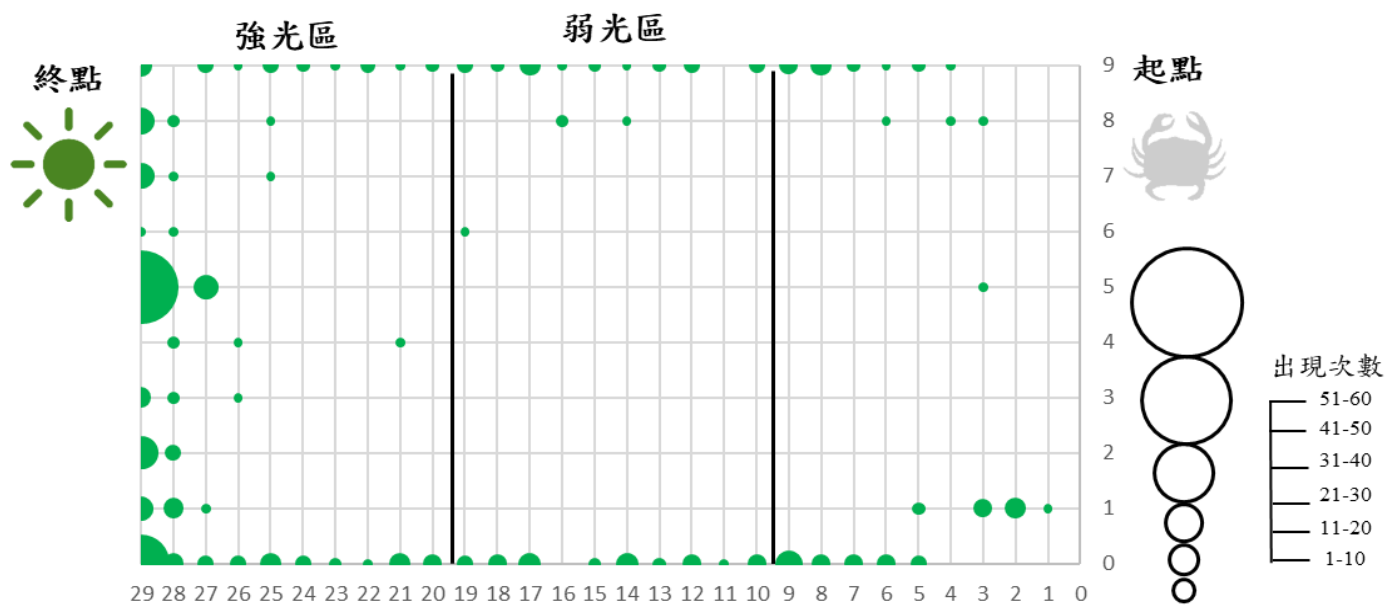


Figure 43. 綠光影響下毛足特式蟹移動分布熱點圖

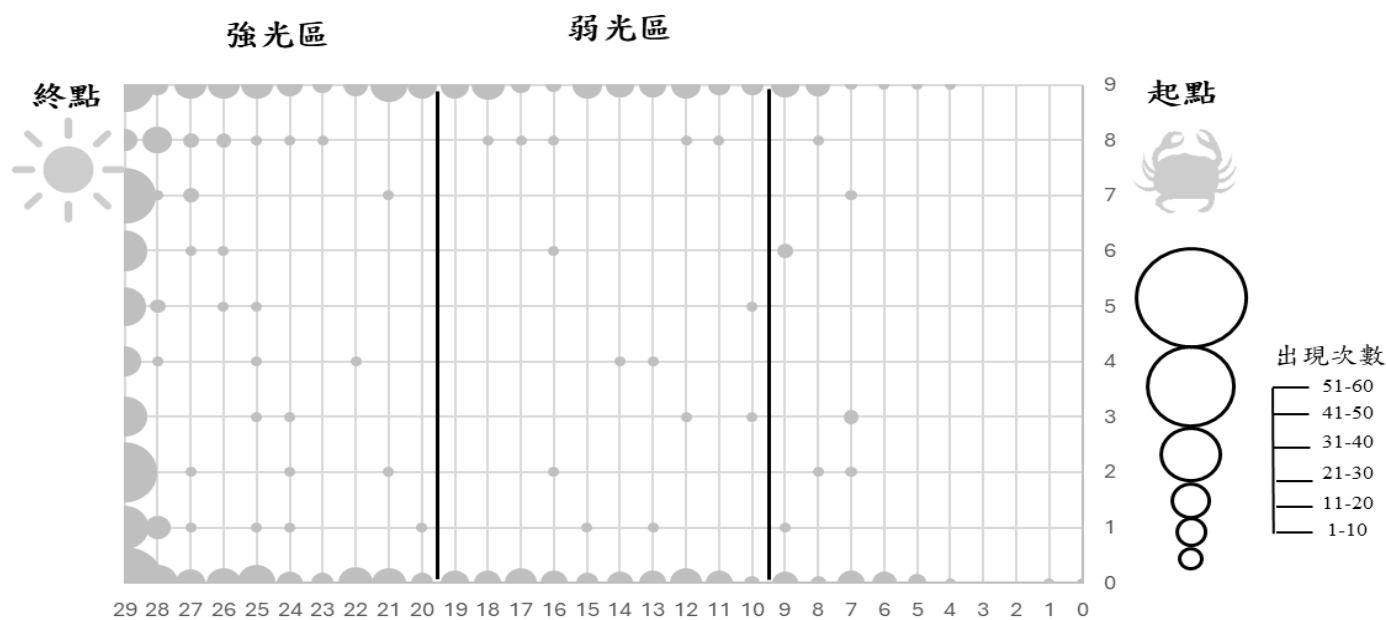


Figure 44. 白光影響下毛足特式蟹移動分布熱點圖

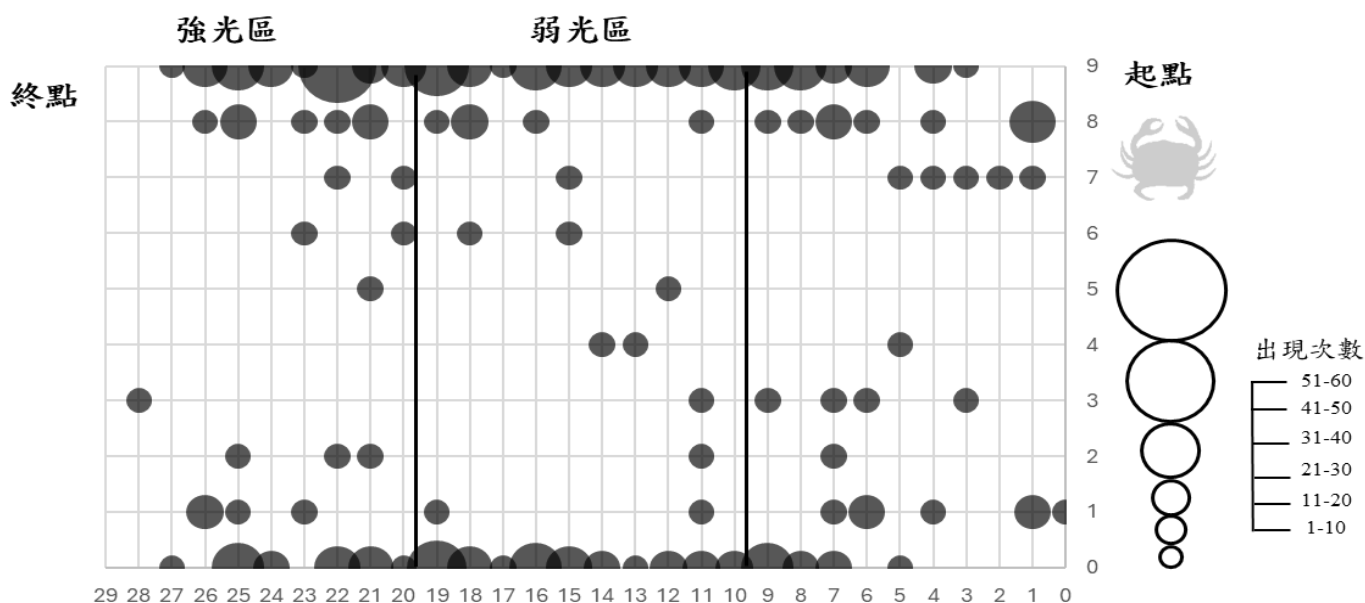


Figure 45. 無光影響下毛足特式蟹移動分布熱點圖

Table 10. 室內燈光實驗下毛足特式蟹移動速度之常態母體變異數 F 檢定，\*為顯著有差異( $p \leq 0.05$ )

變量	Mean	SD	紅光	藍光	綠光	白光	無光
紅光	1.010	0.533	1				
藍光	1.124	1.081	0.2439*	1			
綠光	0.853	0.487	0.3624	4.9419*	1		
白光	0.929	0.585	0.8189	3.4052*	0.689	1	
無光	1.267	0.853	0.3861*	1.6056	0.3248*	0.4715*	1

Table 11. 室內燈光實驗下毛足特式蟹移動速度之母體平均數差 T 檢定，\*為顯著有差異( $p \leq 0.05$ )

變量	Mean	SD	紅光	藍光	綠光	白光	無光
紅光	1.010	0.533	1				
藍光	1.124	1.081	-0.401	1			
綠光	0.853	0.487	0.974	0.949	1		
白光	0.929	0.585	0.504	0.682	-0.455	1	
無光	1.267	0.853	-1.163	-0.448	-1.862	-1.518	1

Table 12. 室內燈光實驗下毛足特式蟹移動速度之 ANOVA 單因子變異數分析，\*為顯著有差異( $p \leq 0.05$ )

變量	Mean	SD	紅光	藍光	綠光	白光	無光
紅光	1.010	0.533	1				
藍光	1.124	1.081	-0.401	1			
綠光	0.853	0.487	0.974	0.949	1		
白光	0.929	0.585	0.504	0.682	-0.455	1	
無光	1.267	0.853	-1.163	-0.448	-1.862	-1.518	1

Table 13. 2022 年野地實驗藍光與無光對毛足特式蟹移動分布數據統計表

	無光實驗	藍光實驗(1)	藍光實驗(2)
樣本個數	1	11	4
從光源端走出	0	7	2
原地爬出/管中滯留	1	4	2

Table 14. 2023 年於台 26 線墾丁香蕉灣路段之毛足特氏蟹於不同燈光實驗組中順行/逆行率

	物種隻數	順行率	逆行率
無光組	142	84%	16%
藍光組	75	79%	17%
紅光組	8	100%	0%

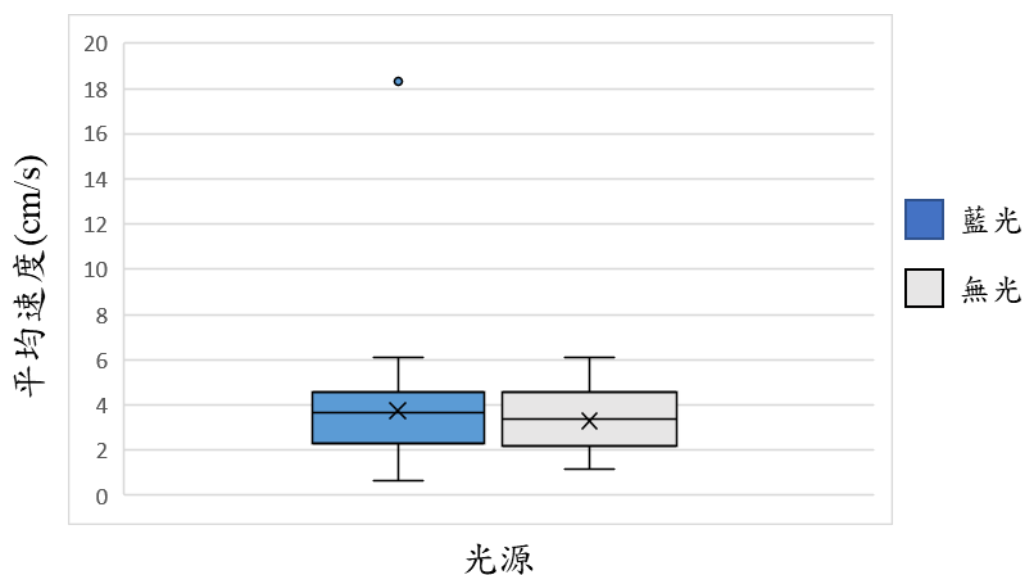


Figure 46 2024 年 9、10 月野地實驗藍光與無光組平均速度(cm/s)合鬚圖

Table 15. 2024 年 9、10 月野地實驗毛足特式蟹移動速度之母體平均數差 T 檢定，\*為顯著有差異  
( $p \leq 0.05$ )

變量	Mean	SD	藍光	無光
藍光	3.754	10.524	1	
無光	3.297	2.169	0.521	1

Table 16. 2024 年 9、10 月野地實驗二組不同光源影響下毛足特式蟹順、逆行率之卡方  $X^2$ \* 檢定，  
\*為顯著有差異( $p \leq 0.05$ )

變量	順行隻數	逆行隻數	順行率	逆行率	卡方檢定
藍光	26	2	93%	7%	0.233
無光	18	4	82%	18%	



Table 17. 2024 年 9、10 月潮汐對陸蟹影響檢定分析結果

## (A)藍光組

Chi-square test	卡方值 (X-squared)	df	p-value
	2.11	3	$p > 0.05$

## (B)無光組

Chi-square test	卡方值 (X-squared)	df	p-value
	7.12	3	$p > 0.05$

## (C)不分光源組

Chi-square test	卡方值 (X-squared)	df	p-value
	4.45	3	$p > 0.05$

## (三) 不同光源對梭子蟹眼球影響

為了解不同波長光源對於眼球細胞影響之差異，本研究針對紅星梭子蟹進行眼球切片，實驗前挑選外型正常甲殼上無破損且無斷肢情形之梭子蟹，測量其外部型態後放入實驗箱中，另在挑選時除分別公母性別後對單體進行隨機挑選，實驗靜置時間參考 Nguyen (2007) 研究 LED 燈提升雪蟹(*Chionoecetes opilio*) 在螃蟹籠具中捕獲率研究，需在實驗進行前讓蟹類熟悉環境，靜待 30 分鐘使螃蟹習慣水缸之環境，靜待完畢後放入不同波長色光之光源，照射 30 分鐘後將螃蟹眼睛剪下泡入 Davidson Solution 藥劑中固定細胞後換下一組持續進行實驗，眼球樣本後續依照一般組織學切片觀察實驗之流程進行，過去依照此流程進行蟹類眼球切片的成功率極低約只有 20% 成功率且對於每片組織切片無法精準定位該切片位於眼球的位置，為提升眼球切片的成功率及能夠精準定位眼球切片的位置，本研究團隊與馬來西亞登加樓大學研究團隊共同精進眼切組織切片技

術與流程，該方法除了可用於觀察不同光源對蟹類眼球組織影響外，也可用於觀察和確定其中 X 器官 (X-organ, XO) 與竇腺複合體 (Sinus gland, SG) 的具體空間分佈位置，為後續甲殼類蛻殼相關研究 (如免疫組化、原位雜交) 提供組織學基礎，能夠適用於甲殼類眼柄組織的組織學製片、形態結構觀察及神經內分泌系統定位研究，以下粗體字為改良後的實驗步驟：

### (一) 樣品採集與固定

1. 通過冰浴麻醉青蟹後，拍照 (背面、前面、腹面) 並記錄體重、體高、甲寬和甲長等形態學數據。
2. 從眼柄基部切取樣品，用細針或解剖器刺穿眼球側面 (或使用注射器注入 Davidson 固定液)，以便固定液充分進入眼球內部 (Figure 47)。
3. 將眼柄放入標記好的包埋盒中，注明樣品編號及左右眼來源。
4. 放入 Davidson 固定液中過夜或 24 h。
5. 固定完成後，將眼柄在 70% 乙醇中浸泡至少 1 天，以便軟化外殼。
6. 從眼柄的內凹面沿殼緣小心剪開，儘量避免損傷內部軟組織。使用鑷子輕輕去除外殼，保持眼球結構完整。
7. 記錄內凹面朝向，並用防酒精記號筆在包埋盒上標注；可使用牙籤或其他支撐物固定眼柄位置，防止漂浮。

### (二) 脫水與包埋

1. 按乙醇梯度脫水：70% → 90% → 95% → 95% → 100% → 100%，每步 1 小時。
2. 二甲苯透明：3 次 × 1.5 小時。
3. 置入 60 °C 融化石蠟中滲蠟 2 次 × 2 小時。
4. 在融化蠟中浸沒等待包埋。
5. 將眼柄內凹面朝上放入包埋不銹鋼器皿中，注入石蠟後放置冷台等待凝固，用鑷子進行微調，接著蓋上包埋盒 (去掉蓋子) 注入石蠟，放至冷臺上等待石蠟凝固。

### (三) 連續切片

#### 左眼

1. 修整蠟塊後，用切片機連續切片，直至切到出現組織為止。
2. 厚度 50  $\mu\text{m}$  進行連續切片 14 張停止，轉為 5  $\mu\text{m}$ (Figure 48)。
3. 從第 15 張切片開始連續切 10 片，放入恒溫水域穀中（水溫約為 40  $^{\circ}\text{C}$ ），使切片展開平整。  
選取其中 1-3 片撈到載玻片上，標注名稱+切片序號。
4. 重複操作至第 45 張。共計 30 張連續切片，平均間隔為 50  $\mu\text{m}$ 。
5. 烤片：37–40  $^{\circ}\text{C}$  過夜，確保切片牢固附著。

#### 右眼

1. 修整蠟塊後，用切片機連續切片，直至切到出現組織為止。
2. 厚度 50  $\mu\text{m}$  進行連續切片 29 張停止，轉為 5  $\mu\text{m}$ (Figure 48)。
3. 從第 30 張切片開始連續切 10 片，放入恒溫水域穀中（水溫約為 40  $^{\circ}\text{C}$ ），使切片展開平整。  
選取其中 1-3 片撈到載玻片上，標注名稱+切片序號。
4. 重複操作至第 60 張。共計 30 張連續切片，平均間隔為 50  $\mu\text{m}$ 。
5. 烤片：37–40  $^{\circ}\text{C}$  過夜，確保切片牢固附著。

經改良後的實驗步驟能夠將眼球切片的成功率提升至 70%，初步實驗結果顯示在相同倍率（尺標 10  $\mu\text{m}$ ）下，三種組別的組織切片皆可見環狀眼球細胞組織，但其「高對比/分割後之結構區」面積比例明顯不同。影像分割量化顯示：藍光組為 57.86%，紅光組為 49.89%，綠光組僅 9.54%。以差值比較，藍光較紅光高 7.97 個百分點，較綠光高 48.32 個百分點；紅光亦較綠光高 40.35 個百分點(Figure 49)。整體趨勢為藍光  $\approx$  紅光  $\gg$  綠光，表示藍、紅光處理皆能產生較大比例的高對比眼球細胞組織，而綠光處理的眼球細胞組織顯現度最弱。

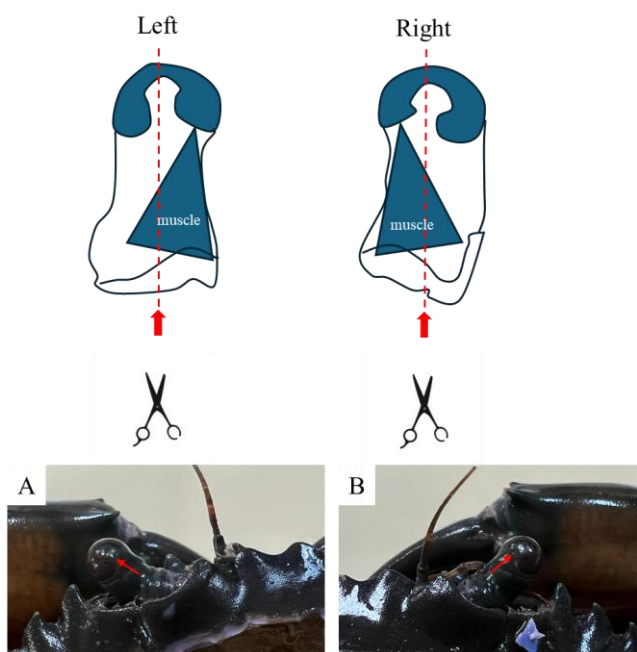


Figure 47. 紅星梭子蟹眼柄取樣與切割位置示意圖

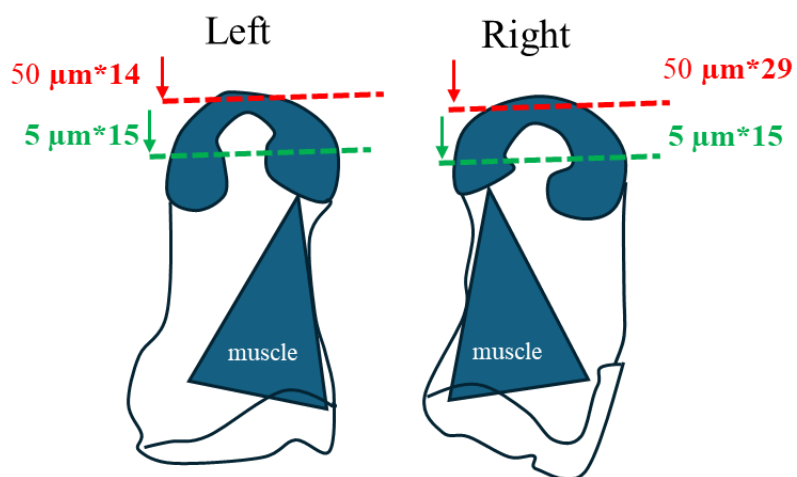


Figure 48. 梭子蟹眼柄切片區域與厚度示意圖

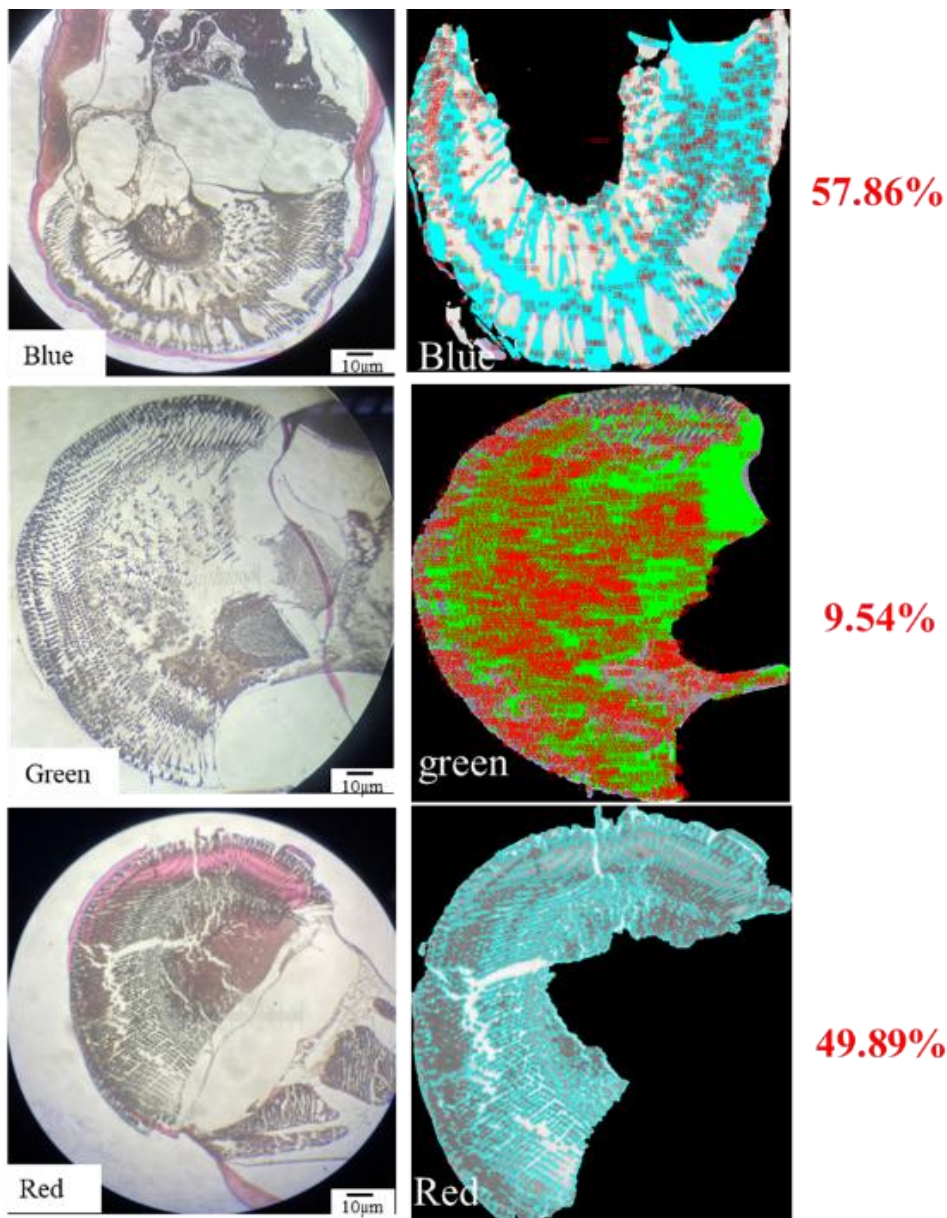


Figure 49.不同波長光源照射後梭子蟹眼球組織切片之細胞組織比較與影像分割結果

#### (四) 梭子蟹科全基因組定序與 SNP 分子標誌清單建構

本研究一共進行 14 隻遠海梭子蟹、50 隻紅星梭子蟹、50 隻鏽斑蟬及 16 隻善泳蟬的低全基因組定序分析，一共獲得 1,692,970,459 次世代定序片段，經定序品質篩選共獲得 1,628,612,508 片段，定序良率高達 96.2%。再以三疣梭子蟹(*Portunus trituberculatus*)為參考模版，進行組裝(re-mapping)；4 種螃蟹的基因組覆蓋率分別為遠海梭子蟹(78.02%)、紅星梭子蟹(54.22%)、鏽斑蟬(28.29%)及善泳蟬(33.46%)。由於遠海梭子蟹及紅星梭子蟹與參考模版三疣梭子蟹同為梭子蟹屬(*Portunus*)所以具有較高的基因組覆蓋率。鏽斑蟬及善泳蟬為梭子蟹科蟬屬(*Charybdis*)，物種分類



上仍有差異，所以基因組覆蓋率較低。在低全基因組定序前題而言，30%基因組覆蓋率已具備建構 SNP 分子標誌清單的條件。檢覽重新組裝全基因組資料中，一共獲得 97,078,202 SNPs 位點，經品質篩選後，獲得高品質 SNPs 一共有 135,593 位點。此高品質 SNPs 位點即為代表梭子蟹科梭子蟹屬與蟬屬共同核苷酸多型性位點資訊，接續即以此 135,593 SNPs 位點進行各種分析(Table 18)。為了更明確地瞭解這 135,593 SNPs 位點是否足以代表梭子蟹科全基因組，將其標記在參考模版三疣梭子蟹的染色體圖上。從染色體圖上可明確看到 135,593 SNPs 位點幾乎高密度地分布在 49 對染色體上，意味著可以用這 135,593 高品質 SNPs 位點觀測梭子蟹科的染色體重組行為及重組後的遺傳特性(Figure 50)。

### 梭子蟹科全基因組 SNP 位點基因型資料特性

進行進一步遺傳分析前，為確保全基因組 SNP 位點資料結構符合族群遺傳理論前題，即哈代-溫伯格定律(Hardy-Weinberg principle)，需評估族群資料是否符合遺傳平衡定律。因全基因組資料無法以單一 SNP 位點的基因頻率做為代表，所以我們將 146 隻螃蟹的 135,593 SNPs 位點基因型資料進行主成分分析，透過簡化高維度數據，找出能捕捉最多變異量的新變數來降低數據的維度。結果可見資料結構出現類正三角型分布，且第一主成分與第二主成分皆大於 20%，足見此筆全基因組資料能解釋族群的變異，同時可見三個群體，即遠海梭子蟹與三疣梭子蟹、紅星梭子蟹、鏽斑蟬與善泳蟬；可見這個全基因組資料可明確說明族群遺傳的特性，並應用於族群遺傳分析，更能鑑別梭子蟹屬與蟬屬螃蟹(Figure 51)。利用 135,593 SNPs 位點基因型資料計算 146 隻螃蟹間的遺傳歧異度(diversity index)，再將 146 隻螃蟹的遺傳歧異度繪製成頻度分布圖，結果發現這個全基因組資料的遺傳歧異度呈現常態分布狀況，符合哈代-溫伯格定律。因此，再次證明這個全基因組資料可用於族群遺傳相關分析(Figure 52)。

### 利用全基因組 SNP 資料進行梭子蟹科物種鑑定與遺傳背景分析

再確認這個全基因組資料適用於族群遺傳分析後，即可進行物種鑑定與遺傳背景分析。採用分類樹(phylogenetic tree)的分群方式可以清楚地將梭子蟹科分為二群，即梭子蟹屬與蟬屬。進一步地可發現遠海梭子蟹、紅星梭子蟹、鏽斑蟬、善泳蟬與對照的三疣梭子蟹大多群聚在同一個大的分支；證明利用 135,593 SNPs 位點資料能有效鑑別梭子蟹科裡二屬五種。但其中有少數個體出現非預期分群結果，需進一步查證。值得注意的是三個國家海域的同一種螃蟹群聚效應非常強烈，也許是將五種螃蟹的資料放在一起分析，因物種間基因組極大差異導致地域性差異性不明顯

(Figure 53)。為了瞭解同一種螃蟹的差異性及找尋特殊個體離群原因，進一步利用 K-means cluster 分析個體遺傳背景，結果發現遠海梭子蟹、紅星梭子蟹、鏽斑蟊、善泳蟊與三疣梭子蟹都有其獨立的遺傳背景(k=5)，而且大多數同種螃蟹具有完全相同的遺傳背景。另外，部分螃蟹具有二種以上的遺傳背景，這個現象同時出現在遠海梭子蟹、紅星梭子蟹、鏽斑蟊與善泳蟊，造成這個現象極有可能是在演化過程中，祖先種們曾攜有相同染色體片段，這些個體正好是分類樹中的離群個體(Figure 54)。上述結果再次證明透過分析全基因組序列可以建構梭子蟹科(Portunidae)核心 SNP 分子標誌清單，此核心 SNP 分子標誌清單可以用來鑑別梭子蟹科物種與瞭解多樣性。若能擴大採樣數量及採樣地點，可以更清楚瞭解亞洲海域梭子蟹科的多樣性及分布位置，未來可作為生產溯源與擬定補撈政策的依據。

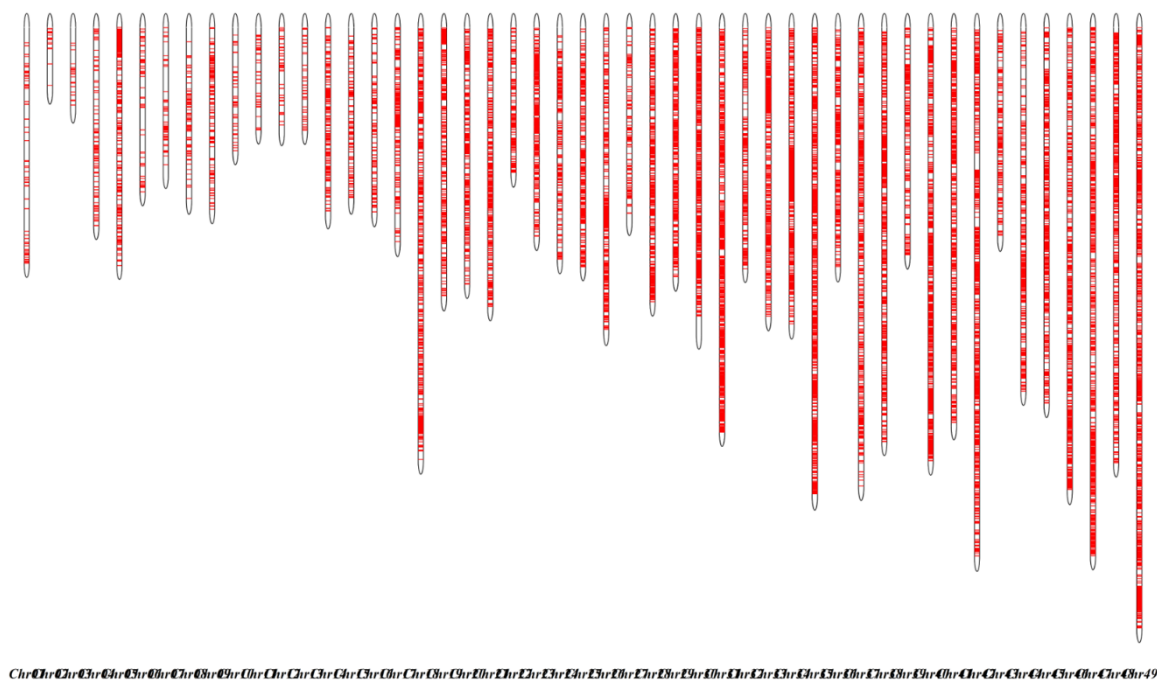


Figure 50. 1,135,593 高品質 SNPs 位點於三疣梭子蟹 49 對染色體分布圖。

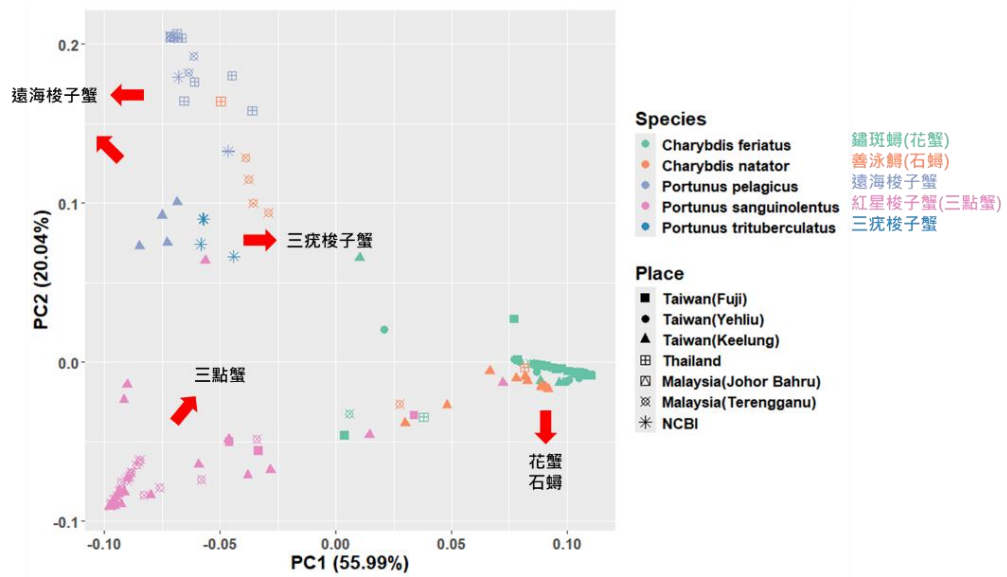


Figure 51. 146 隻螃蟹 135,593 SNPs 位點基因型資料的主成分分析結果。

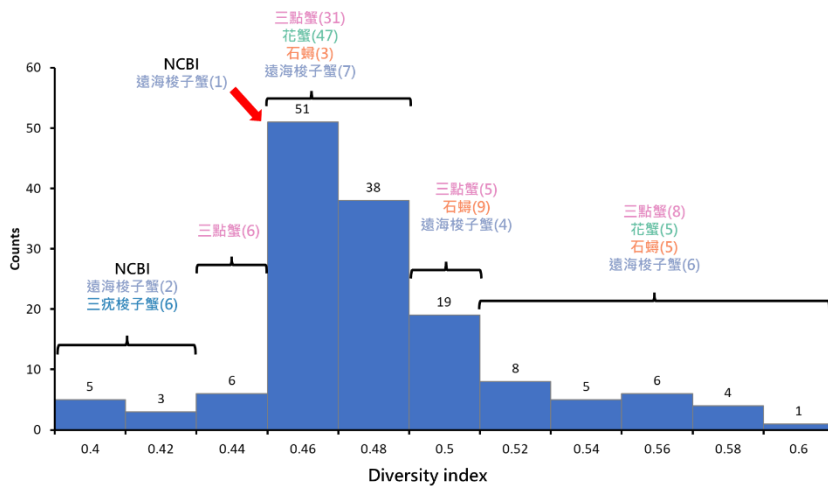


Figure 52. 146 隻螃蟹的遺傳歧異度頻度分布圖。

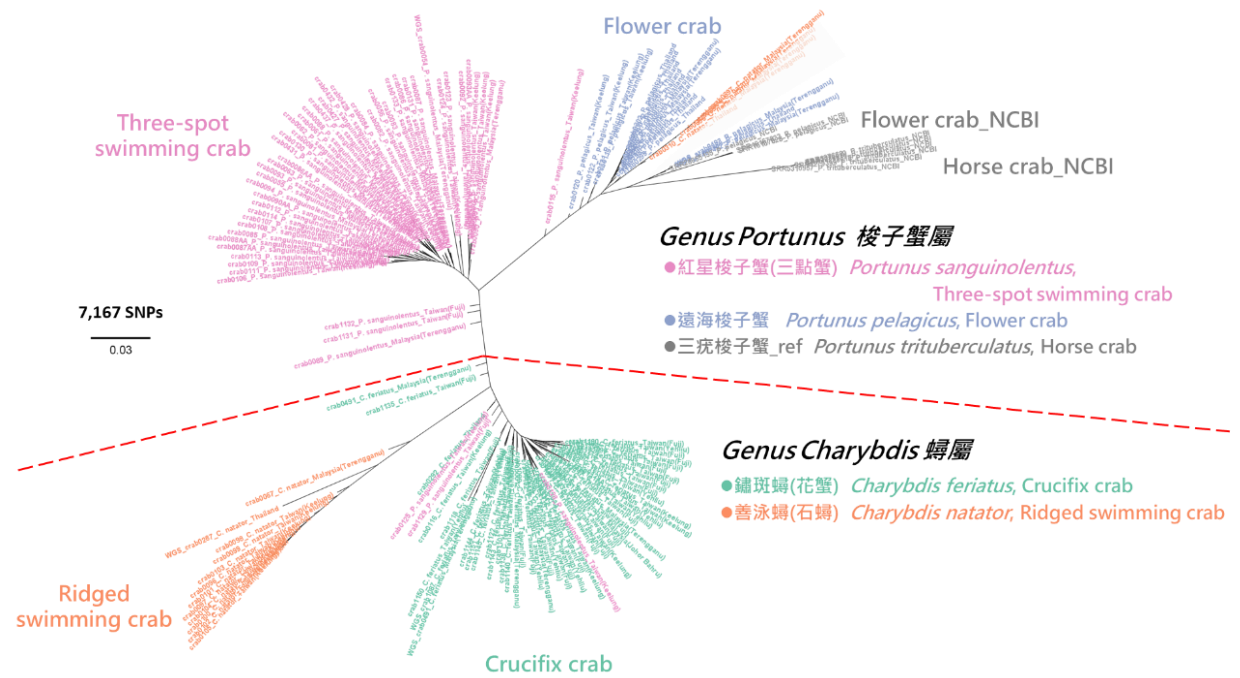


Figure 53.146 隻螃蟹的分群分類樹。

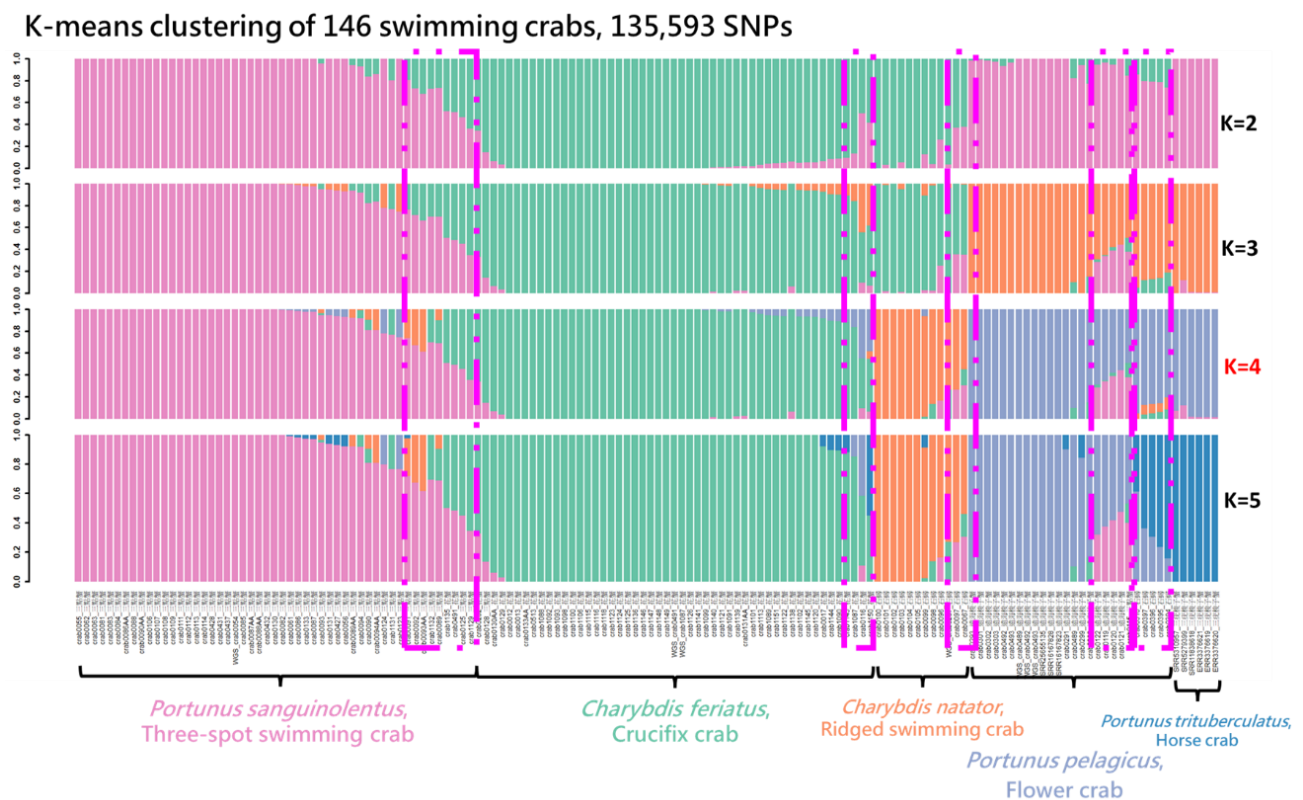


Figure 54 遺傳背景分析，每一個顏色代表一個獨立遺傳背景，橫軸為個體，縱軸為遺傳背景百分比。

Table 18.全基因組定序組裝與 SNP 分子標誌建構品質表

	Process	Parameter	Result
Next-generation sequencing & Re-mapping	Illumina NGS raw reads		1,692,970,459 reads
	QC of raw reads	Q30 & trim	1,628,612,508 reads (96.2%)
	Re-mapping	ref. <i>Portunus trituberculatus</i>	1,056,031,319 reads (62.37%)
	三點蟹 Mapping rate		avg. 5,714,027 reads (54.22%)
	遠海梭子蟹 Mapping rate		avg. 9,379,005 reads (78.02%)
	花蟹 Mapping rate		avg. 2,852,536 reads (28.29%)
	石蟬 Mapping rate		avg. 3,827,816 reads (33.46%)
	遠海梭子蟹SRAMapping rate		avg. 26,764,651 reads (85.19%)
	三疣梭子蟹SRAMapping rate		avg. 78,491,414 reads (93.84%)
SNP calling & QC	SNPs calling		97,078,202 SNPs
	SNPs QC1	DP > 10 (Samtools) , QUAL > 30	83,316,735 SNPs (81.98%)
	SNPs QC2	MAF > 0.05, Missing-rate > 0.9	135,593 SNPs (0.15%)



## 肆、討論

本研究將透過不同色光與餌料組合對於捕獲率影響與逃脫環對於小型蟹逃脫率的數據，並對蟹類眼球進行解剖深入理解眼球構造，了解不同波長光源對蟹類眼球肌肉組織造成的差異，設計出能夠符合海洋永續並兼顧漁民生計之保育型籠具，加入梭子蟹 DNA 資料庫之建構未來可作為研究蟹類洄游路徑與機制的重要參數及資源管理上的依據，以及可當作未來推行螃蟹增殖放流之前置資料庫，期以達成平衡漁業資源永續利用及海洋生物保育之最終目標。

另將不同波長光源對蟹類行為影響應用於陸蟹保育上，透過室內與野地實驗找出能夠吸引陸蟹通過地下涵洞之光源，配合蟹類眼球解剖加以驗證實驗結果，將可作為管理單位擬定相關制度之參考。

### (一) 籠具逃脫環的設計

本研究過去通過測量外部特徵(如甲殼寬、甲殼長、甲殼高)並進行直線迴歸分析，發現甲殼寬、甲殼長和甲殼高之間呈指數型增加的關係。此外，通過卡方分析檢驗，我們發現在外部形態上，雄蟹和雌蟹之間並沒有顯著差異。這與 Sarada(1998)研究當地海岸種群中遠海梭子蟹特徵的結果一致，該研究同樣未發現雄蟹和雌蟹甲殼寬-甲殼長間有顯著差異。然而，在德克薩斯州針對藍蟹(*Callinectes sapidus*)的研究結果顯示雄性和雌性螃蟹的甲殼寬度和甲殼長度之間存在顯著差異，並且隨著甲殼寬度的增加，差異逐漸擴大(Olsen et al., 2022)。本研究進行人工篩選實驗結果顯示長邊的變化比例並不會影響蟹類對逃脫環的滯留率，此結果與 Olsen et al. (2022)進行藍蟹逃脫環的研究結果相似。

目前針對籠具逃脫環有實質立法規定的有美國路易斯安那州當局規定，螃蟹籠具需裝設兩個內徑不得小於 6.05 公分的圓形逃脫環，北卡羅萊納州則規定忙蟹籠具需裝設三個內徑不得小於 5.87 公分的圓形逃脫環，本研究目前使用之 S3(長 8.0cm；寬 3.2cm)、S5(長 9.0cm；寬 3.6cm)兩款逃脫環之尺寸皆大於美國當局規定裝設之逃脫環尺寸但小於澳洲學者設計之逃脫環尺寸，會有此差異因國外逃脫環設計均以單一物種作為逃脫指標，如美國管理規範以藍蟹為主澳洲則以鋸緣青蟹為主，雖皆為梭子蟹科但兩種蟹類外部型態差異巨大，臺灣籠具漁業捕獲目標種類複雜北部海域籠具捕獲物種以紅星梭子蟹、鏽斑蟬、善泳蟬為常見捕獲物種，中南部海域籠具捕獲物種以紅星梭子蟹、遠海梭子蟹、善泳蟬為常見捕獲物種，因此本研究在設計逃脫環尺寸時需參考多物種之成熟體長當作逃脫環尺寸依據，另國外目前以圓形及矩形為逃脫環型態之主流設計，過去臺灣曾進行對梭子蟹科逃脫環研究，陳(2011)對鏽斑蟬的研究中以圓形逃脫環測定籠具選擇性，但

因會造成其他高經濟物種如鰻魚逃脫造成漁民經濟損失，因此本研究配合蟹類寬扁的外型，以矩形逃脫環測試遠海梭子蟹籠具的選擇性。

本研究於 2024 年 8 月份海上逃脫環實驗結果中顯示共捕獲 630 隻經濟性梭子蟹，從逃脫環逃脫後進入覆蓋網中僅有 4 隻梭子蟹，逃脫率為 0.006%。本研究海上實驗結果與 Barnes et al. (2022) 的研究針對澳洲鋸緣青蟬(*Scylla serrata*)籠具，比較有裝設逃脫環和未裝設逃脫環對未成熟蟹的捕撈量差異，結果顯示有裝設逃脫環籠具比未裝設逃脫環籠具可以降低 92% 的未成熟蟹，以及 Broadhurst et al. (2018) 的研究針對澳洲梭子蟹科螃蟹的籠具漁業，比較有裝設逃脫環和未裝設逃脫環對未成熟蟹的捕撈量差異，結果顯示有裝設逃脫環籠具比未裝設逃脫環籠具可以降低 93% 以上的未成熟蟹，8 月海上實驗之結果與國外研究結果相差甚遠，本研究團隊重新審視實驗設計，發現國外研究均未裝設逃脫環外之覆蓋網，推論逃脫環外覆蓋網可能會造成蟹類逃脫困難，因此撤除覆蓋網後 9 月份接續進行海上逃脫環實驗。同年度 9 月份海上實驗結果顯示有裝設逃脫環所捕獲到的小於法定尺寸之小型蟹少於未加裝逃脫環的籠具，其中以 S3 組逃脫環最為有效，以善泳蟬為例，僅捕獲了 7.7% 小於法定尺寸之小型蟹，其次為 S5 尺寸 20%、S1 尺寸 21.7%，對照組捕獲小於法定尺寸之小型蟹為佔比最大 25.4%。其中，S5 組由於其捕獲多隻未成熟蟹離群值個體(甲殼寬<3cm)，該尺寸未成熟蟹通常需要庇護所以躲避掠食者(Li et al, 2022)，其中該航次的捕獲紀錄顯示籠具多單獨捕獲未成熟蟹，因此在沒有大型蟹同籠的情況下，推測實驗籠具應隨機成為其庇護所。

雖然 8 月份實驗中，螃蟹逃脫率低，但因為有蟹類通過逃脫環進入覆蓋網之資料，讓研究團隊取得實際數據：S3 逃脫環可確實讓甲殼寬 7.2~11cm 梭子蟹通過，S5 逃脫環可以讓甲殼寬為 12.3~12.8cm 的梭子蟹通過。在進行此次國內海上實驗前，參考過去本團隊所做之試驗，以人工篩選的方式探討使用不同尺寸逃脫環之逃脫率，在不考慮環境因素與其他外力因素下，結果顯示 S1 組逃脫環能夠使甲殼寬 4.7cm 以下螃蟹逃脫，S3 組逃脫環能夠使甲殼寬 6.3cm 以下螃蟹逃脫，S5 組逃脫環能夠使甲殼寬 6.8cm 以下螃蟹逃脫。但因在海上實際作業時的環境壓力以及活蟹與死蟹的靈活度不同，因此人工塞選試驗結果，僅能當作梭子蟹能夠通過的最小甲殼寬做為參考依據。根據 Guillory et al. (2004) 在逃脫環尺寸選擇的研究中，比較了 5.87 cm 和 6.03 cm 的逃脫環，結果顯示相較於 6.03 cm 的逃脫環，使用 5.87 cm 逃脫環法定尺寸的捕獲量明顯較高，且兩種實驗籠中的合法尺寸 CPUE 並無顯著差異，但在使用 6.03 cm 逃脫環的籠中，小型合法尺寸螃蟹的 CPUE 顯著較低。另 Broadhurst et al. (2017; 2019) 研究中比較了不同形狀、數量和尺寸的逃脫環，包括圓形(直徑 6.4 cm)、矩形(3.3×12.0 cm)和正方形(5.0×5.0 cm)，結果顯示，裝有逃脫環的籠具相較於對照組未達法定尺寸個體的捕獲量減少了 51~100%，其中又以矩形逃脫環的效果最佳。

不同形狀籠具適用的逃脫環形狀不盡相同，相較於澳洲使用可折疊的圓形籠具(Broadhurst &

Millar, 2018), Boutson et al. (2009)在泰國海域通過設計適當的逃脫環(包括形狀和尺寸)來改進遠海梭子蟹的可摺疊方形蟹籠尺寸的選擇性,其研究結果以方形的逃脫環(寬為 3.5 cm,長為 4.5 cm)效果最佳,未成熟螃蟹的捕獲量從 70.5%減少到 11.0%。逃脫環裝設的數量在 Broadhurst et al. (2017)的研究中,與減少未達法定尺寸蟹類捕獲量有正相關的結果。逃脫環在籠具上裝設的位置會影響樣本在逃逸時的情況,據 Jirapunpipat et al. (2008)的研究結果顯示在籠具中以鋸緣青蟬(*Scylla olivacea*)為對象裝設底部與頂部的逃生裝置時,底部的裝置有最高的逃逸比例(78%);針對三疣梭子蟹(*Portunus trituberculatus*)的研究中,籠具底部的逃逸效果(82%)大於頂部的逃逸效果(66%)。綜上所述,逃脫環選擇率不僅受尺寸大小的影響,形狀、數量、位置,亦或是籠具內部設計都會根據螃蟹種類影響選擇率的表現,本研究結果與國外相關研究一致,安裝逃脫環能有效減少捕獲小於法定尺寸的未成熟蟹。目前臺灣對不同種類螃蟹的甲殼寬度有不同的管理規範,不過在選用合適的逃脫環大小時,除需考量經濟性蟹類不同品種之適用性以外、也要將方便性及漁民接受度納入考量。S3 尺寸的逃脫環主要捕獲甲殼寬度介於 8~13cm 的螃蟹,能有效降低捕獲小於法定尺寸的未成熟蟹,並對第一線漁民的生計影響最小,在確保臺灣螃蟹籠具產業永續發展的同時,也兼顧漁民生計。本研究結果顯示,逃脫環設計確實能影響螃蟹籠之體型選擇性,其效果因物種體型、生態習性及逃脫能力而異。

## (二) 不同色光對梭子蟹捕獲率的影響與陸蟹路殺防治之應用

本研究比較 LED 的基礎三原色透過不同組合分析對陸蟹行為的影響,室內實驗分析結果顯示 5 組平均速率皆無顯著差異,對於爬行路線上,藍光及綠光能更加吸引陸蟹爬行時利用最短距離到達終點,紅光、白光、無光則無法預測陸蟹能有相似的路線抵達終點。此外,經由在台 26 線香蕉灣路段下地道實驗中顯示,在無光組中,儘管缺乏引導光源,半數以上的陸蟹仍能順行,這表明香蕉灣地道的環境條件並未嚴重阻礙陸蟹的導航機制,可能是因為地道的寬度和長度允許一定程度的自然訊號傳遞,使陸蟹能夠依靠其他感官訊號進行移動;藍光組中,儘管對陸蟹能有效誘導陸蟹爬向光源,但有較多個體在施放後十分鐘內仍靜止不動,這可能是因為藍光引發了遲疑或其他未知因素的影響。經過室內及野地實驗後得出不論有無誘導光源皆會通行,且各光源平均速度上並無顯著差異,較相異之處在於陸蟹受不同光源引導時移動路徑的不可預測程度,無光時陸蟹移動範圍廣、藍光則可局限於側邊,後續實驗方向亦可朝陸蟹受不同光源時的移動路徑進行研究,以作為應用於墾丁台 26 線香蕉灣路段引導陸蟹通過地道之佐證。另 Carr et al., (2004)研究透過超音波追蹤技術,分析抱卵遠海梭子蟹在產卵遷徙期間的行為模式,夜間退潮是抱卵母蟹最常進行垂直遷徙的時間點,活動時間最長且平均速度最高(0.11 m/s),亦發現螃蟹會透過內源性類

潮汐節律(circatidal rhythm)在預期的退潮時間進行垂直遷徙，顯示潮汐為其遷徙的重要環境因子。

螃蟹籠具漁獲率受多種因素影響，包括獵物數量、季節、誘餌種類、陷阱的尺寸、形狀、入口位置、飽和程度、浸泡時間、籠具間的距離以及海洋條件等(Winger, et al., 2011; Naimullah et al., 2020; Becker et al., 2024)，海上實驗結果顯示只使用餌料的控制組捕獲量最高，其次是藍光組和綠光組這三個組別間無顯著差異，但紅光組漁獲量僅有控制組的一半，本研究結果表明，使用 LED 燈對於梭子蟹籠具漁業捕獲率無顯著提升。

Susanto et al., (2022)的研究透過室內實驗發現遠海梭子蟹的眼球在不同顏色 LED 燈照耀後進行切片，發現藍光照耀後比紅光顯現出的色素細胞更豐富，在 477-513nm 波長(藍-青-綠)光中具有最大光譜敏感性，但海上實驗結果藍光與餌料組對於捕獲率影響並無顯著差異，本研究與此結果相符燈光組別對於捕獲率並無顯著影響(Figure 33)。對日本蟬(*Charybdis japonica*)則僅有綠色 LED 燈能夠有效提高捕獲率(Yu et al., 2023)，青蟹(*Scylla spp.*)則是被綠色、藍色和白色 LED 燈吸引，而對紅色 LED 燈沒有吸引效果(Naimullah et al., 2022)。我們過去的實驗發現梭子蟹科中不同物種，會對相同的餌料產生不同的行為反應(Lee et al., 2024)，從過去的研究也可看出不同物種的梭子蟹也都有各自偏好的色光，本研究中三個燈光組別間漁獲率雖然不具差異性，但可以發現物種組成有所不同，鏽斑蟬在藍光組就完全沒有補獲到(Table 1.)。

Nguyen et al. (2017; 2019)研究不同顏色的 LED 燈對灰眼雪蟹對的捕獲率的差異性，結果顯示白色 LED 燈能夠顯著性的提升灰眼雪蟹(*Chionoecetes opilio*)的捕獲量，也有其他研究指出綠色 LED 燈效果比白色 LED 燈效果更好(Cooling et al., 2021)，Nguyen et al., (2019; 2020)設計新型螃蟹籠具利用發光網線編織網目，取代 LED 燈作用結果顯示在短時間內可以提高螃蟹籠具捕獲率，綜上所述皆證實 LED 燈對於雪蟹籠具漁業具有顯著提升捕獲率的效果。水生動物在搜尋食物時更多依賴嗅覺而非視覺(Fischer et al., 2017)。此外，化學信號在水生環境中比視覺更常見，因為化學信號的吸引範圍較遠，且不受自然界中的光和水體渾濁度的影響(Westerberg H. & Westerberg K., 2011)，本研究結果和過去在雪蟹籠具漁業中的研究結果不同，LED 燈對於雪蟹籠具漁業具有顯著提升捕獲率效果，但本研究結果顯示 LED 燈對於梭子蟹籠具漁業不具備顯著提升果，這可能是因為梭子蟹和雪蟹生活的棲息地深度不同有關，梭子蟹分佈在 200 公尺以內的透光區(He et al., 2024; Sumpton et al., 1989)，雪蟹屬則分佈在 200 公尺至 400 公尺深的無光區(Ottmar et al., 2022; Alvsvag et al., 2009)，另外兩者在商業捕撈的作業模式中將籠具浸泡在海中的時間也不相同，梭子蟹籠具平均浸泡時間是 26-52 小時(Naimullah et al., 2022)，雪蟹籠具漁業 96-120 小時(Murray & Ings., 2015)，因此可能是因為棲息地與作業模式的不同造成 LED 燈，在兩種螃蟹籠具漁業上對捕獲率有不同的結果。

本研究結果表明不同光源組別捕獲尺寸間沒有顯著差異，與 Nguyen et al. (2017; 2019) 其不

同顏色 LED 對雪蟹捕獲尺寸不具顯著影響結果一致。本研究在三個國家間進行海上實驗，在馬來西亞登加樓和泰國北大年府海上實驗研究區域皆屬於湄羅灣海域，因此兩區域捕獲的梭子蟹甲殼寬尺寸無顯著差異，澎湖海域因與另外兩處海域距離較遠，捕獲的梭子蟹甲殼寬尺寸具有顯著差異。又湄羅灣中的梭子蟹發育過程中棲息地會發生變化，幼蟹生活在淺水區，並在生長過程中遷移到更深的水域(Hisam et al., 2020)，而湄羅灣海域當地大多為家計型漁業，多使用舢舨致無法離岸太遠，因此推測海上實驗的作業區域仍在小型蟹的生活海域，所以皆捕獲到尺寸較小的梭子蟹。Naimullah et al.,(2020)的研究指出臺灣梭子蟹會隨著季節有迴游習性，紅星梭子蟹(*P.sanguinolentus*) 的分佈和棲息地相較於鏽斑蟳(*C. feriatius*) 和遠海梭子蟹(*P. pelagicus*) 在臺灣海峽中有更廣泛的分佈，便可解釋捕獲的蟹類中紅星梭子蟹(*P. sanguinolentus*)佔據最多的原因。

許多研究證實不同顏色的光對於蟹類行為具有顯著影響，且在其他漁業中利用燈光吸引獲誘導已有成熟的作業流程，另外近幾年因為保育觀念的興起，燈光的應用更是可以做為減少混獲的方法之一，因此雖然本研究的結果表明目前燈光對於梭子蟹籠具漁業的捕獲率提升無顯著效果，但此次在臺灣澎湖海域進行海上實驗時，當地漁民提出放置在籠具中的餌料盒會被海龜咬走，因此推測燈光在梭子蟹籠具漁業中，可以做為防止海龜咬餌以降低漁民損失，當然這只是初步的想法，後續依然需要經過嚴謹的研究流程驗證。

另外未來應測試不同亮度的燈光效果，並增加海上實驗次數，延長浸泡時間、耐用性、與誘餌結合的效果、對環境的影響以及經濟效益，以期能改進其捕撈效果並實現於更廣泛的應用。

### (三) 不同光源對蟹類眼球影響

本研究針對梭子蟹進行不同波長光源下之眼球組織切片觀察，藉由改良眼柄組織製片流程，大幅提升了樣品的切片成功率與定位精準度。過去甲殼類眼球切片常因外殼堅硬與內部構造脆弱，導致樣本在脫水、包埋與切片過程中易產生變形或損壞，成功率僅約 20%。本研究採用改良後的固定、脫殼與包埋程序，並嚴格控制眼柄取樣方向與標記定位，使成功率提升至 70%，顯示該流程在甲殼類視覺組織學研究中具顯著應用潛力。該方法除能清晰呈現感光細胞與眼球細胞組織層次結構外，亦可作為後續觀察 X 器官與竇腺複合體 (XO - SG complex) 形態分布之基礎，對於研究甲殼類之內分泌調控與視覺神經系統具有參考價值。

從組織觀察與影像量化結果可知，三組樣品在相同觀察倍率下皆可見環狀眼球細胞組織 (microstructural rings)，惟其高對比區域面積比例存在明顯差異。藍光組之高對比結構比例最高 (57.86%)，紅光次之 (49.89%)，綠光組最低 (9.54%)。此結果顯示，不同波長光源對紅星梭子蟹

眼球細胞的刺激與結構反應具有顯著差異，整體趨勢為藍光  $\approx$  紅光  $\gg$  綠光。此現象可能與甲殼類眼球內視網膜光感受器細胞（retinular cells）中視覺色素的吸收峰（absorption peak）分布有關。過去研究指出，多數海洋性甲殼類對短波長光（尤其是藍光，波長約 450 – 490 nm）具有較高的敏感度，這與其生活環境中藍光穿透深度較大有關（Cronin & Jinks, 2001）。因此，藍光可能刺激視覺色素活化或細胞膜電位變化，導致觀察中高對比眼球細胞組織比例增加。

紅光組亦呈現顯著高於綠光的結構反應，顯示紅光對眼球細胞亦具一定程度的生理刺激。此現象可能與紅光波長較長（約 620 – 750 nm），對組織內部產生輕微熱效應（photothermal effect）或引起細胞局部代謝活化有關。相較之下，綠光（波長約 520 – 560 nm）對紅星梭子蟹眼球反應最弱，可能因其視覺色素吸收效率較低，導致視覺神經系統活化程度有限。此結果與先前對雪蟹（*Chionoecetes opilio*）及其他十足目甲殼類的研究相符，指出藍光與紅光均能引發顯著的視覺反應與行為變化（Nguyen et al., 2017；Wang et al., 2022）。

綜上所述，本研究的結果顯示梭子蟹眼球在藍光與紅光照射下的眼球細胞組織顯現度較高，可能反映其對不同波長光刺激的光感受差異。此結果不僅可作為探討光照環境對蟹類視覺生理調節之基礎，也可延伸應用於捕撈技術，如 LED 波長選擇對誘集行為的影響分析。未來若能進一步結合免疫組化（immunohistochemistry）或原位雜交（in situ hybridization）技術，標定特定感光蛋白（如 opsins）或神經肽分佈，將有助於深入揭示光波長對甲殼類視覺與神經內分泌系統的交互作用機制。

#### （四）梭子蟹科螃蟹遺傳多樣性

DNA 分子標誌（molecular genetic marker）是一種中性的生物標誌，不受時間、空間（包括組織與器官）或環境因素影響，且在基因組中大量存在，資料格式單純且容易取得，因此被廣泛應用於多項生物遺傳研究中，包括物種鑑定、遺傳多樣性（歧異度）分析、種原管理、基因座定位（QTL mapping、GWAS）、分子輔助育種以及性狀與性能選拔等工作。然而，每一物種在常規應用 DNA 分子標誌前，皆須先建立專屬的分子標誌資料庫與方法學，這一過程耗時且費工，因此對於非模式生物或一般經濟物種而言，往往缺乏現成可用的專屬分子標誌（Amiteye, 2021; Pedroza Matute & Iyavoo, 2025）。自 2006 年次世代定序技術（next-generation sequencing, NGS）問世以來，全基因組序列的獲取與核苷酸多型性分析變得快速且高效。NGS 技術大幅降低了開發核苷酸多型性分子標誌的門檻，研究者無需再為各物種特別建構分子標誌資料庫，即可直接從



DNA 序列中萃取全基因組層級的多型性資訊。這使得 NGS 技術得以廣泛應用於物種鑑定、遺傳多樣性分析、種原保存與管理、基因座定位、分子輔助育種及性狀選拔等領域。

在眾多核苷酸多型性中，單核苷酸多態性 (single nucleotide polymorphism, SNP) 具有明顯優勢：(1) 相較於全基因體定序，資料量精簡且處理效率高；(2) 為二進制 (0/1) 格式，易於運算與比對；(3) 資料格式標準化；(4) 數據豐富，任兩個體間可存在百萬級以上的 SNP 位點；(5) 可輕易轉換至不同生物技術平台進行檢測與應用；(6) 能有效比對不同物種之間的基因差異 (Muzzey et al., 2015)。基於上述優勢，本研究採用全基因組 SNP 分析方法，探討臺灣、馬來西亞與泰國沿海常見食用螃蟹遠海梭子蟹、紅星梭子蟹、鏽斑蟬與善泳蟬於不同海域間的遺傳多樣性，以及梭子蟹科中不同屬、不同種之間的遺傳分化情形。同時，本研究亦嘗試建立梭子蟹科 (Portunidae) 之核心 SNP 分子標誌清單，以提供未來物種鑑別與族群遺傳研究的基礎，並可應用於生產溯源及漁業管理政策的制定。

本研究採用低覆蓋率全基因組定序策略，成功建構出梭子蟹科 (Portunidae) 物種的高品質 SNP 資料集。Illumina 平台共產出約  $1.69 \times 10^9$  次定序片段，經品質剪修 (Q30) 後仍保留 96.2% 的序列，顯示整體資料品質良好。以三疣梭子蟹 (*Portunus trituberculatus*) 作為參考基因組進行 re-mapping 後，遠海梭子蟹 (*P. pelagicus*) 與紅星梭子蟹 (*P. sanguinolentus*) 的基因組覆蓋率分別為 78.02% 與 54.22%，而鏽斑蟬 (*Charybdis feriatus*) 與善泳蟬 (*C. natator*) 則為 28.29% 與 33.46%。此結果符合分類學預期：前兩者與參考基因組同屬於梭子蟹屬 (*Portunus*)，故具較高的序列相似性；後兩者則屬蟬屬 (*Charybdis*)，屬間分化時間較久，導致比對率較低。儘管覆蓋率未達全基因組層級，但已有研究指出，當覆蓋率達 30% 以上時，所得資料即足以支撐 SNP 標誌開發與族群分析 (He et al., 2024)。本研究最終篩選出 135,593 個高品質 SNP 位點，分布於 49 對染色體上，顯示資料具有代表性並可用於後續染色體層級之遺傳結構分析。為驗證資料之適用性，本研究利用主成分分析 (PCA) 探討樣本間的遺傳結構。分析結果顯示，第一與第二主成分 (PC1 與 PC2) 共解釋超過 75% 的總變異量 (PC1 約 56%、PC2 約 20%)，能有效捕捉族群主要的遺傳差異。樣本分布呈現三角形結構，清楚分為三個群體：1. 遠海梭子蟹與三疣梭子蟹群、2. 紅星梭子蟹群、3. 鏽斑蟬與善泳蟬群，與形態分類結果相符。

先前針對 *P. pelagicus* 的研究指出，其族群具有高遺傳多樣性但地理分化程度有限 (Klinbunga et al., 2010)，而近年採用 GBS 或 SNP 分析的研究也觀察到高多樣性與低族群分化的普遍現象

(He et al., 2024)。此外，本研究所得的遺傳歧異度呈常態分布，符合哈代-溫伯格平衡 (Hardy-Weinberg equilibrium)，進一步證明資料的遺傳結構合理，適用於族群遺傳相關分析。以 135,593 個 SNP 資料建構的系統發育樹顯示，梭子蟹屬與蟬屬可清楚區分為兩大分支，各物種樣本均群聚於其所屬分支中，顯示本研究資料集具有良好的物種辨識能力。此結果與 Dang et al. (2019) 於東南亞 *P. pelagicus* 族群研究的發現一致，即顯示族群內高度一致、但仍存在潛在的隱性分化。此外，He et al. (2024) 利用 GBS 技術分析鏽斑蟬 (*C. feriata*) 族群，亦發現其具有「高遺傳多樣性、低族群分化」的特性，與本研究鏽斑蟬與善泳蟬的結果相符。

本研究建立的核心 SNP 標誌系統，不僅可應用於物種鑑定與族群結構研究，亦具潛力作為漁業資源管理與溯源的重要工具。過去針對梭子蟹科的研究多使用傳統分子標誌，如 COI、RAPD 或 AFLP (Klinbunga et al., 2007)，而本研究採用大規模 SNP 資料，能更精細揭示族群分化與基因流的動態。He et al. (2024) 指出，鏽斑蟬沿中國東南沿海具有高基因流與低分化特徵；Klinbunga et al. (2010) 則發現泰國 *P. pelagicus* 族群存在限制性基因流 ( $N_e m < 1$ )。本研究結果同樣顯示，在跨海域樣本 (台灣、馬來西亞、泰國) 中，物種內遺傳一致性高而物種間分化明顯，顯示應根據屬別或物種差異制定漁業管理策略：對於梭子蟹屬物種可視為單一或少數族群管理，而蟬屬物種則需分別考量其獨立族群特性。未來若能擴大樣本數並涵蓋更多地理區域 (如印尼、越南與菲律賓)，結合海洋環流與環境因子資料，將可更深入揭示基因流向與演化軌跡。本研究建立的 SNP 資料庫亦可作為水產品溯源 (traceability)、漁業管理與資源永續利用的重要遺傳學依據。

## 伍、工作內容進度與結論

本研究目前通過設計不同逃脫環以及不同色光下對陸蟹行為的影響相關實驗中已知，逃脫環的設計應該要考慮更多物種之成熟體長，根據本研究於馬來西亞登嘉樓與泰國北大年府實驗結果可知，S5 逃脫環長 9.0 公分及寬 3.6 公分時，螃蟹的通過率結果最佳。

本研究於 2024 年 8 月至 2025 年 7 月間，在澎湖東南海域進行多次逃脫環籠具實驗，以評估不同逃脫環尺寸（S1、S3、S5）對經濟性蟹類之捕獲體型與逃脫效果。8 月首次實驗在各逃脫環外側裝設覆蓋網袋以收集逃脫樣本，結果在投放 660 個籠具中僅有 4 隻螃蟹逃出，顯示覆蓋網袋可能抑制螃蟹逃脫意願，且籠內仍有 60 隻未達 9 cm 之小型個體。隨後 9 月與 2025 年 7 月的 8 次實驗中移除覆蓋網袋，結果顯示對照組平均甲殼寬 10.1 cm，S1、S3、S5 組分別為 9.8 cm、9.9 cm 與 9.2 cm。主要捕獲物為紅星梭子蟹與善泳蟬，其中紅星梭子蟹小於 9 cm 之比例在對照組為 3.4%，S1 組 1.6%，S3 與 S5 組皆為 0%；善泳蟬小於 9 cm 比例則依序為 82.5%、73.3%、58.1% 與 58.8%，顯示逃脫環能有效減少未達法定尺寸之個體。甲殼寬盒鬚圖分析顯示，隨逃脫環尺寸增加，中位數呈上升趨勢（對照組 8.3 cm、S1 組 8.9 cm、S3 組 9.0 cm、S5 組 9.3 cm）。紅星梭子蟹中位甲殼寬由 12.8 cm 增至 14.2 cm，善泳蟬亦由 7.9 cm 提升至 8.7 cm。綜上所述，逃脫環設計可有效篩除小型個體、降低幼蟹誤捕，對維護資源永續與提升漁具選擇性具有正面效益，保育型籠具可由政府單位提供並加強推廣加裝逃脫環，供漁民漁捕網時換上，以減少 25% 以上小型蟹之捕撈比例，亦可間接減少漁民於海上作業需挑選出小型蟹之所需時間。

解析不同波長光源對籠具蟹類捕撈率影響結果顯示，結果顯示藍光和綠光對捕獲量的影響均不顯著（ $P > 0.05$ ），紅光組的捕獲量略低於控制組但差異同樣不顯著。與登嘉樓海域相比澎湖海域的捕獲效果顯著降低，北大年府海域的捕獲效果也較低，但均未達到顯著差異。結果顯示實驗海域對捕獲效果的影響大於光源處理，光源間的差異並未達到顯著性，表明光源組別可能並非影響捕獲率的關鍵因素。

另陸蟹造成路殺的主因為陸蟹的遊蕩及抱卵母蟹降海遷徙行為，本研究透過自製 LED 發光二極體燈光組分析陸蟹之趨光特性，室內實驗研究結果顯示陸蟹對不同波長光源實驗中以藍光正趨性反應最好，紅光在實驗中多次使蟹類逃出實驗場域，透過觀察發現有對光源攻擊之行為，顯示紅光對蟹類本身可能為一種威脅，而藍光則為相對較穩定的誘因。野地實驗於 2022 年墾丁砂島生態區兩次藍光實驗中，共 15 隻蟹類進行實驗，有超過半數的蟹類樣本，自藍光端走出；無光實驗中，僅試驗一隻螃蟹，並從原地爬出；2023 年於另一野地實驗於台 26 線墾丁香蕉灣路段進行，結果顯示無光組中毛足特氏蟹逆行率為 16%、順行率為 84%，藍光組中逆行率為 17%、順行率為 79%，紅光組的 8 隻個體中逆行率為 0%，順行率為 100%；2024 年持續於同路段進行實

驗，9 月藍光組逆行率為 7%、順行率為 93%，無光組逆行率為 33%、順行率為 67%，10 月藍光組逆行率為 8%、順行率為 92%，無光組逆行率為 8%、順行率為 92%。綜合 2022 至 2024 年野地實驗，無光組共有 4 次實驗，逆行率為 16.36%，順行率為 83.63%；藍光組共有 5 次實驗，逆行率為 17.91%，順行率為 82.09%；紅光組共 1 次實驗，8 隻個體中無逆行，逆行率為 0%，順行率為 100%，且經卡方檢定不同光源對順、逆行率亦無顯著差異。綜上結果所述，不同光源條件下，毛足特氏蟹的逆行和順行行為間存在差異，其中無光組和藍光組均顯示一定的逆行現象，而紅光組未發現逆行個體。雖無光組與藍光組在目前實驗的累積數據下，未顯示兩者間具顯著差異，本研究研究人員今年透過地下涵洞實驗發現，不論是藍光或無光組的陸蟹完成爬行實驗後，皆有少量隻數於數分鐘後再次爬回無光組涵洞中從入口離開，推論若在自然環境下陸蟹進入地下涵洞會有移動路線不明的狀況，藍光則可利用其正趨光性引導陸蟹通過地下涵洞至靠海側釋幼區，雖偶有停滯但無迷航情況。未來實驗建議持續增加對照組、藍光組及紅光組樣本數量，以及控制實驗變因及降低人為影響，因 113 年度實驗時發現陸蟹對於觸碰到鈴鐺有驚嚇的表現，後續可修正細項如撤除出入口的鈴鐺串、減少實驗人員互相談話次數及音量，以確保數據可信度及研究成效。今年度將進行經濟梭子蟹對不同光源的眼球影響實驗，利用包埋切片以了解其眼球中橫紋肌運動之差異，提供蟹類視覺生理學相關科學結果以利日後作為政府決策之依據。

本研究於不同波長光源對梭子蟹眼球細胞結構之影響實驗，建立高成功率之甲殼類眼柄組織切片製作流程。研究團隊首先針對實驗流程進行前置規劃，包括個體選擇、光照處理、固定與切片等步驟。實驗樣品皆挑選外觀完整、甲殼無損傷且無缺肢之梭子蟹，於性別辨識與隨機分組後置入實驗箱，靜置 30 分鐘以使個體適應環境，再分別接受藍光、綠光與紅光照射 30 分鐘。照射後立即取樣並以 Davidson 固定液處理，以保留眼球細胞結構。

為克服過去甲殼類眼柄切片成功率低及定位不準的問題，本研究與馬來西亞登加樓大學（Universiti Malaysia Terengganu）合作，針對組織固定、去殼與包埋流程進行改良。經過多次試驗與參數調整後，成功將眼球切片成功率由原本約 20%顯著提升至 70%。改良重點包括：（1）於固定前刺穿或注射固定液以確保滲透完整；（2）脫殼過程中以 70%乙醇軟化外殼並維持眼球完整；（3）於包埋時標記內凹面方向並固定眼柄位置，以利後續切片定位。此外，切片流程亦予以標準化：左眼以 50  $\mu\text{m}$  厚度連續切 14 片後改為 5  $\mu\text{m}$  切片；右眼則以 50  $\mu\text{m}$  連續切 29 片後改為 5  $\mu\text{m}$  切片（如 Figure 42、43 所示）。

影像觀察與分割分析顯示，在相同放大倍率（尺標 10  $\mu\text{m}$ ）下，三組樣品皆可見環狀眼球細胞組織，但高對比結構區比例存在顯著差異。藍光組為 57.86%，紅光組為 49.89%，綠光組僅 9.54%。差值比較顯示藍光組高於紅光 7.97 個百分點，較綠光高 48.32 個百分點；紅光亦高於綠光 40.35 個百分點（Figure 44）。整體趨勢呈現藍光  $\approx$  紅光  $\gg$  綠光，顯示短波長藍光與長波長紅光均可

誘發明顯的眼球細胞組織變化，而綠光效果最弱。

實驗結果顯示，紅星梭子蟹眼球對藍光具有最高的感光反應度，可能與其棲息海域中藍光穿透性較高、視覺色素吸收峰對應藍光波段有關；紅光則可能透過光熱效應或細胞代謝刺激影響組織活性。綠光反應低，顯示其對蟹類眼球視覺系統刺激有限。本研究除揭示不同波長光源對紅星梭子蟹視覺細胞結構之影響外，亦建立一套適用於甲殼類眼柄組織的高成功率切片技術，可進一步應用於觀察 X 器官與竇腺複合體 (XO-SG complex) 位置與神經內分泌分布。此技術的建立為後續進行免疫組化、原位雜交及光感受基因表現分析等研究奠定組織學基礎。

本研究探討梭子蟹科 (Portunidae) 主要經濟性物種之遺傳多樣性與族群結構，並建立核心單核苷酸多態性 (single nucleotide polymorphism, SNP) 分子標誌清單，以作為物種鑑別與漁業管理之遺傳學依據。研究對象包括分布於臺灣、馬來西亞及泰國沿海的遠海梭子蟹 (*Portunus pelagicus*)、紅星梭子蟹 (*P. sanguinolentus*)、三疣梭子蟹 (*P. trituberculatus*)、鏽斑蟬 (*Charybdis feriatus*) 與善泳蟬 (*C. natator*)。研究採用低覆蓋率全基因組定序策略 (low-coverage whole-genome sequencing, lcWGS)，共產出約  $1.69 \times 10^9$  次序列片段，經品質剪修 (Q30) 後保留率達 96.2%，顯示資料品質良好。以三疣梭子蟹作為參考基因組進行 re-mapping 後，各物種基因組覆蓋率介於 28% 至 78% 之間，符合屬間分化的分類學預期。最終篩選出 135,593 個高品質 SNP 位點，分布於 49 對染色體上。

主成分分析 (PCA) 結果顯示，第一與第二主成分共解釋超過 75% 的總變異量，清楚區分三個族群：遠海梭子蟹與三疣梭子蟹群、紅星梭子蟹群，以及鏽斑蟬與善泳蟬群。系統發育分析亦顯示，梭子蟹屬與蟬屬可明確分為兩大分支，物種內遺傳一致性高而物種間分化明顯。整體而言，梭子蟹屬物種呈現高遺傳多樣性但低地理分化，顯示跨海域族群間存在頻繁的基因流動。

本研究成功建立梭子蟹科核心 SNP 分子標誌清單，具良好物種辨識度與跨物種適用性，未來可應用於水產品溯源、族群遺傳監測及漁業資源永續管理。研究結果不僅豐富了梭子蟹科遺傳資訊，也為亞洲海域甲殼類之演化與資源管理提供重要科學依據。

## 陸、參考文獻

- Alvsvag, J., Agnalt, A. L., & Jørstad, K. E. (2009). Evidence for a permanent establishment of the snow crab (*Chionoecetes opilio*) in the Barents Sea. *Biological invasions*, 11, 587-595.
- Amiteye, S. (2021). Basic concepts and methodologies of DNA marker systems in plant molecular breeding. *Heliyon*, 7(10).
- Barnes, T. C., Broadhurst, M. K., & Johnson, D. D. (2022). Disparity among recommended and adopted escape-gap designs and their utility for improving selection in an Australian portunid trap fishery. *Fisheries Research*, 248, 106219.
- Becker, A., Johnson, D. D., Pederson, H., & Taylor, M. D. (2024). Capture Probability of Blue Swimmer Crab (*Portunus armatus*) in Baited Traps and Implications for Trap Survey Design. *Fisheries Management and Ecology*, e12784.
- Boutson, A., Mahasawasde, C., Mahasawasde, S., Tunkijjanukij, S., & Arimoto, T. (2009). Use of escape vents to improve size and species selectivity of collapsible pot for blue swimming crab *Portunus pelagicus* in Thailand. *Fisheries Science*, 75, 25–33.
- Broadhurst, M. K., & Millar, R. B. (2018). Relative ghost fishing of portunid traps with and without escape gaps. *Fisheries Research*, 208, 202-209.
- Broadhurst, M. K., Millar, R. B., & Hughes, B. (2017). Performance of industry-developed escape gaps in Australian *Portunus pelagicus* traps. *Fisheries Research*, 187, 120-126.
- Broadhurst, M. K., Millar, R. B., & Hughes, B. (2018). Utility of multiple escape gaps in Australian *Scylla serrata* traps. *Fisheries research*, 204, 88-94.
- Broadhurst, M. K., Smith, T. M., Millar, R. B., Hughes, B., Raoult, V., & Gaston, T. F. (2019). Cumulative selectivity benefits of increasing mesh size and using escape gaps in Australian *Portunus armatus* traps. *Fisheries Management and Ecology*, 26(4), 319-326.
- Carr, S. D., Tankersley, R. A., Hench, J. L., Forward Jr, R. B., & Luetlich Jr, R. A. (2004). Movement patterns and trajectories of ovigerous blue crabs *Callinectes sapidus* during the spawning migration. *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, 60(4), 567-579.
- Cronin, T. W., & Jinks, R. N. (2001). Ontogeny of vision in marine crustaceans. *American Zoologist*, 41(3), 1098–1107. <https://doi.org/10.1093/icb/41.3.1098>
- Dang, V. T., Maher, M., & Austin, C. M. (2019). Genetic diversity, population structure and demographic history of the blue swimming crab *Portunus pelagicus* in South East Asia. *PeerJ*, 7, e11671.
- Fischer, S., Oberhammer, E., Cunha-Saraiva, F., Gerber, N., & Taborsky, B. (2017). Smell or vision? The use of different sensory modalities in predator discrimination. *Behavioral Ecology and Sociobiology*, 71, 1-10.
- Guillory, V., Allemand, R., King, K., & Bare, L. (2004). An evaluation of 5.87-cm and 6.03-



- cm escape rings for blue crab *Callinectes sapidus* traps. *North American Journal of Fisheries Management*, 24(4), 1431–1434.
- He, J., Wu, J., Wan, L., Xu, W., & Yang, T. (2024). Genome-Wide Genetic Diversity and Population Structure of *Charybdis feriata* (Crustacea, Decapoda, and Portunidae) Along the Southeast Coast of China Inferred from Genotyping-by-Sequencing (GBS) Approach. *Genes*, 15(11), 1421.
- He, L., Zhou, Y., Liu, J., Zhang, Y., & Liu, J. (2024). Population genetic structure and connectivity of *Charybdis feriata* along the southeast coast of China revealed by genome-wide SNPs. *Genes*, 15(11), 1421.
- Jirapunpipat, K., Phomikong, P., Yokota, M., & Watanabe, S. (2008). The effect of escape vents in collapsible pots on catch and size of the mud crab *Scylla olivacea*. *Fisheries Research*, 94(1), 73–78.
- Klinbunga, S., Penpoo, J., Pripue, P., Khamnamtong, B., Tassanakajon, A., Puanglarp, N., & Jarayabhand, P. (2010). Genetic population differentiation of the blue swimming crab (*Portunus pelagicus*, Portunidae) in Thai waters revealed by RAPD analysis. *Marine Biotechnology*, 12(5), 502–512.
- Klinbunga, S., Yuvanatemiya, V., Wongphayak, S., Khamnamtong, N., & Menasveta, P. (2007). Genetic diversity and population structure of the crucifix crab *Charybdis feriatus* (Portunidae) in Thai waters. *Biochemical Genetics*, 45(5–6), 409–424.
- Lee, W. Y., Wu, Y. L., Naimullah, M., Liang, T. Y., & Lan, K. W. (2024). Feeding Behavior and Bait Selection Characteristics for the Portunidae Crabs *Portunus sanguinolentus* and *Charybdis natator*. *Fishes*, 9(10), 400.
- Li, C., Shen, C., Feng, G., Huang, X., & Li, X. (2022). Preference for Shelters at Different Developmental Stages of Chinese Mitten Crab (*Eriocheir sinensis*). *Animals*, 12(7), 918. <https://doi.org/10.3390/ani12070918>
- Liu, Z., Li, X., & Tang, Y. (2021). Application of next-generation sequencing and SNP markers in aquatic species population genetics. *Aquaculture Reports*, 19, 100570.
- Meynecke, J.-O., Mayze, J., & Alberts-Hubatsch, H. (2015). Performance and physiological responses of combined t-bar and PIT tagged giant mud crabs (*Scylla serrata*). *Fisheries Research*, 170, 212–216.
- Murray, G. D., & Ings, D. (2015). Adaptation in a time of stress: A social-ecological perspective on changing fishing strategies in the Canadian snow crab fishery. *Marine Policy*, 60, 280–286.
- Muzzey, D., Evans, E. A., & Lieber, C. (2015). Understanding the basics of NGS: from mechanism to variant calling. *Current genetic medicine reports*, 3(4), 158–165.
- Naimullah, M., Lan, K. W., Liao, C. H., Hsiao, P. Y., Liang, Y. R., & Chiu, T. C. (2020). Association of environmental factors in the Taiwan Strait with distributions and habitat characteristics of three swimming crabs. *Remote Sensing*, 12(14), 2231.
- Naimullah, M., Lee, W. Y., Wu, Y. L., Chen, Y. K., Huang, Y. C., Liao, C. H., & Lan, K. W. (2022). Effect

- of soaking time on targets and bycatch species catch rates in fish and crab trap fishery in the southern East China Sea. *Fisheries Research*, 250, 106258.
- Nguyen, K. Q., & Winger, P. D. (2019). A trap with light-emitting diode (LED) lights: Evaluating the effect of location and orientation of lights on the catch rate of snow crab (*Chionoecetes opilio*). *Aquaculture and Fisheries*, 4(6), 255-260.
- Nguyen, K. Q., Bayse, S. M., Donovan, M., Winger, P. D., Løkkeborg, S., & Humborstad, O. B. (2020). Increased catches of snow crab (*Chionoecetes opilio*) with luminescent-netting pots at long soak times. *Fisheries Research*, 230, 105685.
- Nguyen, K. Q., Winger, P. D., Morris, C., & Grant, S. M. (2017). Artificial lights improve the catchability of snow crab (*Chionoecetes opilio*) traps. *Aquaculture and Fisheries*, 2, 124-133.
- Nguyen, K. Q., Winger, P. D., Morris, C., & Grant, S. M. (2017). Artificial lights improve the catchability of snow crab (*Chionoecetes opilio*) traps. *Aquaculture and Fisheries*, 2(3), 124-133.
- Olsen, Z., Topping, D., Wagner, T., Anderson, J., Gelpi, C., Sutton, G., & Carrillo, N. (2022). Differential Effects of Three Crab Trap Escape Ring Sizes on Retention of Male and Female Blue Crabs. *North American Journal of Fisheries Management*, 42(2), 270 – 276.
- Pedroza Matute, S., & Iyavoo, S. (2025). Implementation of NGS and SNP microarrays in routine forensic practice: opportunities and barriers. *BMC genomics*, 26(1), 541.
- Sarada, P. T. (1998). Crab fishery of the Calicut coast with some aspects of the population characteristics of *Portunus sanguinolentus*, *P. pelagicus* and *Charybdis cruciata*. *Indian Journal of Fisheries*, 45(4), 375–386.
- Stowe, S. (1980). Spectral sensitivity and retinal pigment movement in the crab *Leptograpsus variegatus* (Fabricius). *Journal of Experimental Biology*, 87, 73-98.
- Sumpton, W. D., Smith, G. S., & Potter, M. A. (1989). Notes on the biology of the portunid crab, *Portunus sanguinolentus* (Herbst), in subtropical Queensland waters. *Marine and Freshwater Research*, 40(6), 711-717.
- Susanto, A., Suuronen, P., Gorgin, S., Irnawati, R., Riyanto, M., Nurdin, H. S., Hamzah, A., Supadminingsih, F. N., & Syafrie, H. (2022). Behavioral response and retinal adaptation of Blue swimming crab (*Portunus pelagicus*) exposed to LED lights—Led light as a potential artificial attractant in trap fishing. *Fisheries Research*, 250, 106274.
- Tang, B., Zhang, D., Li, H., Jiang, S., Zhang, H., Xuan, F., Ge, B., Wang, Z., Liu, Y., & Sha, Z. (2020). Chromosome-level genome assembly reveals the unique genome evolution of the swimming crab (*Portunus trituberculatus*). *GigaScience*, 9(1), giz161.
- Wang, C. H., Chen, S. Y., & Lin, C. H. (2022). Influence of LED wavelength on visual responses and trap efficiency in swimming crabs (Portunidae). *Fisheries Science*, 88(4), 503–514.

- Westerberg, H., & Westerberg, K. (2011). Properties of odour plumes from natural baits. *Fisheries Research*, 110(3), 459-464.
- Winger, P. D., & Walsh, P. J. (2011). Selectivity, efficiency, and underwater observations of modified trap designs for the snow crab (*Chionoecetes opilio*) fishery in Newfoundland and Labrador. *Fisheries Research*, 109(1), 107-113.
- Yu, M., Herrmann, B., Cerbule, K., Liu, C., Zhang, L., & Tang, Y. (2023). Effect of artificial lights on catch efficiency and capture patterns in Asian paddle crab (*Charybdis japonica*) gillnet fishery. *Regional Studies in Marine Science*, 65, 103101.
- Zhou, Y., & He, L. (2022). Genome-wide SNP discovery and population genetic analysis of *Portunus sanguinolentus* in the South China Sea. *Frontiers in Marine Science*, 9, 956432.
- 王敏儒、謝恆毅 & 林金榮 (2015)。善泳蟬與顆粒蟬的判別。水產試驗所電子報，第 110 期。
- 陳湘蕎 (2011)，籠具逃脫環對鏽斑蟬(*Charybdis feriatus*)之選擇性研究。國立臺灣海洋大學環境生物與漁業科學學系碩士學位論文，70 頁，基隆市。