

台灣東部秀姑巒溪大和沼蝦(*Macrobrachium japonicum*)幼體全日上溯特性初探

Aspects of all-day upstream migration of juvenile *Macrobrachium japonicum* in the Hsiukuluan River, eastern Taiwan

陳榮宗¹ 葉明峰^{1*} 蔡奇立¹

Rung-Tsung Chen¹ Ming-Fon Yeh^{1*} and Chi-Li Tsai¹

¹行政院農業委員會特有生物研究保育中心 552南投縣集集鎮民生東路1號

¹Endemic Species Research Institute, No. 1, Ming-shen East Road, Jiji, Nantou, Taiwan

*通訊作者：Yeh@tesri.gov.tw

*Corresponding author: Yeh@tesri.gov.tw

摘要

台灣大部分淡水沼蝦為兩側洄游之生活史，其幼苗需在河口或沿岸地區經一段時間的變態成長剛著底具爬行能力時，再上溯回河川繼續成長。大和沼蝦(*Macrobrachium japonicum*, de Haan, 1849)為兩側洄游型之物種，在台灣為廣分布物種，數量豐富，迄今尚無有關上溯洄游之研究發表。本研究初步於2005年6月14日至15日在秀姑巒溪，利用改良式的採樣設備，採集大和沼蝦幼體，探討其全日之上溯特性。結果顯示大和沼蝦全日主要有2個上溯時段，最高峰時段為下半夜至清晨(03:40-07:40)，其次為午後近黃昏至初夜(15:40-19:40)，除19:40-23:40外，餘時段皆有零星上溯個體。本研究的採樣設施共採集大和沼蝦(*M. japonicum*)、熱帶沼蝦(*M. placidulum*)、寬掌沼蝦(*M. lepidactyloides*)及闊指沼蝦(*M. latidactylus*)等4種沼蝦，幼體占比約94%，十分適合上溯試驗之採樣工具。本研究將有助於未來持續進行長期各種沼蝦之上溯研究，尤其台灣大部分的沼蝦物種尚待釐清的洄游特性。

關鍵詞：兩側洄游、沼蝦屬、大和沼蝦、上溯、秀姑巒溪、台灣

Abstract

Most *Macrobrachium* spp. are amphidromous in Taiwan. After larval development, the newly-metamorphosed individual must find a river mouth and migrate back up to the adult habitat. The *Macrobrachium japonicum* de Haan, 1849 is a widely distributional, amphidromous, and abundant specie in Taiwan. This study clarifies the upstream migration patterns of *M. japonicum* using a modified fish-trap for sampling juvenile in the Hsiukuluan River of eastern Taiwan from 14 June to 15 June 2005. The interval of collecting time were divided into six periods in a day—A:15:40-19:40, B:19:40-23:40, C:23:40-03:40, D:03:40-07:40, E:07:40-11:40, and F:11:40-15:40. There are two distinct upstream migratory periods. The highest peak is near dawn from 03:40 to 07:40 and the second peak is near dusk from 15:40 to 19:40. The 94% of total collected individuals were juvenile, so the modified fishway trap is suitable equipment for conducting experiments on upstream migration of freshwater prawns. The results of this study will be helpful for understanding the upstream migration of *Macrobrachium* spp. in Taiwan.

Key words: Amphidromy, Hsiukuluan River, *Macrobrachium*, *Macrobrachium japonicum*, Taiwan, upstream migration

收件日期：2020年06月19日

接受日期：2020年08月31日

Received: June 19, 2020

Accepted: August 31, 2020

緒言

大部分淡水沼蝦(*Macrobrachium*; Bate, 1868)會在半淡鹹水的環境下孵化幼苗，幼苗在河口或沿岸地區經一段時間的變態成長後，會上溯回河川繼續成長，整個生活史涵蓋了淡水、半淡鹹水及鹹水環境，才能完成世代交替(Albertoni *et al.* 1999)。源自於海洋的各種淡水沼蝦經長期逐步地侵入淡水域後，各自進行不同程度淡水化(freshwaterization)的演化，產生不同鹽分需求、不同滲透壓調節能力的種類，現今各水域包括海水、淡水及半淡鹹水等環境，都有沼蝦的存在(Jalihal *et al.* 1993)。因此各種不同棲息環境的沼蝦，其洄游生活史中的各個階段，包括繁殖期、幼苗期、成長或上溯期之時間空間分布情形，將會呈現不同的型態或有區隔情形。

兩側洄游的蝦苗在經過變態成長剛成為底棲時，必須儘速找到河口並開始逐步上溯到成體的棲息地(Bauer 2011; 2013)，而通常都在夜晚進行上溯(Ibrahim 1962; Hamano and Hayashi 1992; Benstead *et al.* 1999; Bauer and Delahoussaye 2008; Kikkert *et al.* 2009; Bauer 2011)，可能藉此躲開被獵捕的風險(Kikkert *et al.* 2009)。上溯的季節主要發生在流量相對較低的季節，比如*Macrobrachium malcolmsonii* 在印度的戈達瓦里河(Ibrahim 1962)、*M. ohione* 在密西西比河(Bauer and Delahoussaye 2008)及太平

洋沿岸的幾種沼蝦(Bauer 2011)都是在低流速流量的季節進行上溯。

台灣目前已知的淡水沼蝦種類，包括外來種*M. rosenbergii*共計18種(施1994; 施及游1998; Cai and Jeng 2001; Chen *et al.* 2010; Shy *et al.* 2013)且大都為兩側洄游型(Hwang and Yu 1982; Shy and Yu 1998; Cai and Jeng 2001; Cai and Shokita 2006; Chen *et al.* 2010)。曾等(2000; 2002)曾經對秀姑巒溪之淡水沼蝦之時間空間分布及幼蝦上溯情形有些許探討，惟沒更詳細的調查結果分析。台灣洄游性的淡水沼蝦其幼體之上溯情形，包括季節、時段、種類、數量變化及繁殖降海等研究十分闕如，皆僅止於野外觀察的推測。

另外，沼蝦之後期蝦苗(post larvae)及幼體(juvenile)其種類鑑定十分困難，通常是藉由幼苗變態成長試驗才較為清楚，而台灣淡水沼蝦已有完成幼苗變態研究的，包括粗糙沼蝦(*M. asperulum*)、等齒沼蝦(*M. equidense*)、絨掌沼蝦(*M. esculentum*)、台灣沼蝦(*M. formosense*)、日本沼蝦(*M. nipponense*)、貪食沼蝦(*M. lar*)、細額沼蝦(*M. gracilirostre*)、刺足沼蝦(*M. spinipes*)及外來種羅氏沼蝦(*M. rosenbergii*)等9種(kwon and Yutaka 1969; Atkinson 1977; 林等1988; 施等1990; 鄒等1990; 施1994; 游2000; 趙2000; 施及王2017; 葉等2020a、2020b)，尚有9種台灣原生種淡水沼蝦尚無幼苗之變態成長試驗。本研究除了

以幼苗變態文獻為鑑種依據外，將另以 28S rDNA 序列為輔對沼蝦幼體樣本進行物種鑑定。細胞核內核糖體之 28S rDNA(28S)已經廣泛地被運用於甲殼類的親緣關係的研究(Crandall *et al.* 2000; Shull *et al.* 2005; Chen *et al.* 2009a)。28S gene 演化速率近似或慢於 16S gene (Fetzner and Crandall 2001)，在淡水沼蝦的應用上，28S gene 比 16S gene 更具歧異度及更大的基因距離，也具較高的 transition/transversion (ts/tv) 比值及較低的 α -values (gamma distributions)，不易造成物種間親緣關係上的 convergence，因此 28S gene 在沼蝦分子親緣關係上的探討是很適當的工具之一 (Chen *et al.* 2009a)。

秀姑巒溪(Hsiukuluan River)為台灣東部第一大的河川，全長約 104 公里，有 4 條主要的支流(林 2001)，主流水量豐沛終年不斷且無攔砂壩或水庫等人工水泥構造物，從以前就是洄游生物(包括白鰻、鱸鰻、鰕虎類、日本禿頭鯊、字紋弓蟹、台灣扁絨螯蟹及淡水蝦等)豐富的流域，也是相關研究最重要的採樣區域(曾 2000；曾等 2002)。依據施(1994)該溪流共有 11 種淡水沼蝦，陳(2003；2004)及李等(2003)發現有 12 種，曾(2000)則發現有 14 種(惟未列出物種名錄)，而 Chen *et al.* (2010)發現有 12 種，因此在台灣原生的 16 種淡水沼蝦中，秀姑巒溪沼蝦物種數就佔有 69% 至 88%，如果再扣除毛指沼蝦(*M. jaroense*)及邵氏沼蝦(*M. shaoi*)等 2 種極稀有的種類，則秀姑巒溪幾乎涵蓋台灣其它所有的沼蝦，可說是台灣淡水沼蝦物種數最豐富的溪流，加上棲地較少人為

破壞干擾，相當適合進行洄游試驗研究。

大和沼蝦(*M. japonicum* de Haan, 1849)為兩側洄游型之物種，其在台灣發生種化後，往北擴散至日本，在台灣為廣分布物種(Chen *et al.* 2009b)，數量豐富，喜歡棲息在具石塊岩石水流較湍急之環境(趙 2000；簡 2018)，是適合探討洄游特性的物種之一，且尚未有關於該物種之上溯洄游之研究發表。為瞭解大和沼蝦之幼體上溯的洄游特性及其全日之上溯時段等情形，本研究於秀姑巒溪河口，進行 24 小時 6 個時段之採集試驗，初步探討全日不同時段沼蝦幼體之上溯情形。

材料與方法

一、採樣地點及時間

在台灣東部最大溪流秀姑巒溪之河口進行淡水沼蝦之上溯幼體採集(如圖 1)，採樣時間為 2005 年 6 月 14 日至 15 日。依據相關文獻(Bauer 2011 and 2013)沼蝦幼體上溯主要發生在黃昏至清晨，而大量發生時在白天也可見幼體沿著河岸濱水之岩塊上溯，因此本研究為初步探討大和沼蝦主要的可能上溯時段，僅就全日分 6 時段為整體採集時間分隔之設計，並以 A 時段(15:40-19:40)涵蓋下午近黃昏至初夜為起始時段，將全日 24 小時每隔 4 小時共 6 個時段，包括 A(15:40-19:40)、B(19:40-23:40)、C(23:40-03:40)、D(03:40-07:40)、E(07:40-11:40)及 F(11:40-15:40)等進行樣本蒐集。本研究稱幼體(juvenile)係指剛完成浮游期變態為底棲之 post-larvae 及尚未性成熟之個體，其

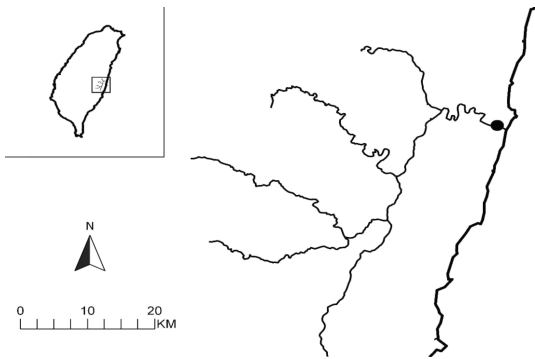


圖1. 採集設施之位置圖(黑色實心)，位於台灣東部秀姑巒溪。

Fig. 1. Map of the Hsiukuluan River, located in eastern Taiwan. The solid circle indicates the position of fishway trap.

頭胸甲長在 7 mm 以下 (Bauer and Delahoussaye 2008)。

二、採樣設施

本研究之採樣設備係參照當地原著民傳統採捕魚蝦幼體之魚道陷阱，加以改良修正，其外觀及各部組件如圖2所示。其各部主要組件可分成主魚道、導引道及蒐集桶等三個部分(如圖2之B所示；現場實照如圖3)。其中主魚道長1.5公尺，放置於河道之橫斷面，其上方藉由水流經過形成小型瀑布，以引誘上溯之沼蝦幼體爬入底部之溝渠並順流至右側之導引道。導引道之外觀如圖2之C所示，與主魚道以45度角相連

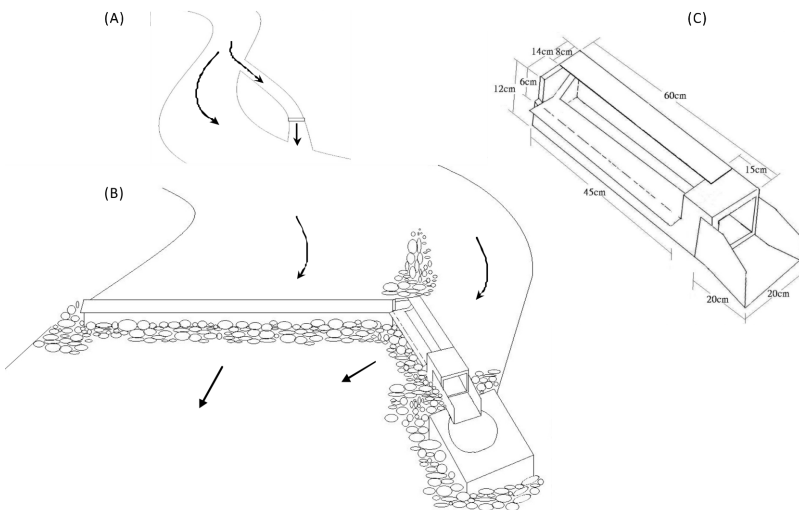


圖2. 採集設施圖：(A)人工挖掘長約20公尺、寬1.5公尺、深25公分之次分流，陷阱即設置在該2分流近匯合處之上方5公尺；(B)組件可分成主魚道、導引道及蒐集桶等三個部分；(C)導引道之外觀。箭頭表示水流的方向。

Fig. 2. The fishway for collecting *Macrobrachium spp.* (A) The location of the fishway trap and an artificial water channel of about 20 m long, 1.5 m wide and 25 cm deep on the beach of the inner curvature; (B) The arrangement of elements for consisting fishway trap; (C) The detail structure of the main part of trap. Arrows indicate the direction of water flow.



圖3. 採集設施之現場實照。

Fig. 3. A picture of fishway trap.

結，形成另一側的小型瀑布，導引及蒐集沼蝦幼體進入末端之蒐集桶。

採樣設置地點位於河口上溯2公里處，多次檢測河水鹽度皆為零，為非感潮帶。設置時會在主河道之河床上選擇一段約50公尺之小分流，於該分流旁另人工挖掘長約20公尺、寬1.5公尺、深25公分之次分流，陷阱即設置在該2分流近匯合處之上方5公尺(如圖2之A所示)。

三、環境因子蒐集

以Flo-Mate™ Model 2100流速計測量流速(公分/秒; cm/s)及水深(公分; cm)。於採樣同時以手提式微電腦多功能水質測試儀(Multi 340i)測量酸鹼值(pH)、溶氧量(毫克/公升; mg/l)、導電度(us/cm)、濁度(NTU)、氣溫(°C)及水溫(°C)等資料。以線性迴歸探討環境因子與沼蝦幼體上溯之相關性。

四、沼蝦幼體鑑定

(一)、外觀型質

野外所採集之標本以95%酒精保存帶回。鑑定分類成體及亞成體，記錄種類、雌雄、抱卵否、頭胸甲長頻度變化及額齒。外觀特徵及幼體變態成長之變化為沼蝦幼體之主要分類依據，其中額角之額齒多寡及型式為分類之重要特徵。本研究依據前人之相關研究(kwon and Yutaka 1969; Atkinson 1977; 林等1988; 施等1990; 鄒等1990; 施1994; 游2000; 趙2000; 施及王2017; 葉等2020a、2020b)為沼蝦幼體之分類依據。

(二)、28S rDNA序列比對鑑定

透由28S序列比對及親緣關係樹建構來輔助物種鑑定。額角的齒式(rostral formula)為分類的重要依據，其可分為額角背齒數(dorsal teeth)、眼窩後額角齒數(dorsal teeth beyond orbital)及額角下齒數(ventral teeth)，本研究所採集84隻沼蝦幼體，依額齒多寡及型式選擇其中32隻(如表1)進行28S序列萃取分析。另外，從GenBank下載之28S rDNA序列，包括15種台灣原生種沼蝦及外群的2個物種(*Exopalaemon modestus* and *Palaemon elegans*)(如表2)。

1. DNA萃取、聚合酶連鎖反應放大與定序：

個體剪取腹部肌肉並用Puregene DNA抽取純化試劑組(Gentra Systems, Minneapolis, MN, USA)，依據使用說明進行DNA抽取，操作流程參考使用說明：將小塊肌肉組織自95%酒精中取出，置於1.5ml微量離心管中，以65°C烘乾15~20min，加入300µl cell lysis，置於65°C乾浴槽15min；用剪刀將組織均質

表1. 32隻沼蝦幼體28S rDNA之萃取編號(簡寫: DT= 額角背齒dorsal teeth; DTBO=眼窩後額角背齒dorsal teeth beyond orbital; VT=額角下齒ventral teeth)

Table 1. The rostral formula and numbers of 32 juvenile individuals for 28S rDNA extraction (abbreviations are used: DT= dorsal teeth; DTBO=dorsal teeth beyond orbital; VT=ventral teeth)

Number for DNA extraction	Rostral Fomula		
	DT	DTBO	VT
0740061506	10	2	2
0740061559	10	3	2
1140061503	11	2	1
0340061503	11	2	2
0740061518	11	2	2
0740061557	11	2	2
0740061507	11	3	2
0740061514	11	3	2
0740061552	11	3	2
1540061403	12	2	2
1940061405	12	2	2
0340061502	12	2	2
0740061525	12	2	2
0740061537	12	2	2
0740061546	12	2	2
1140061504	12	2	2
1940061401	12	2	3
1540061502	12	3	1
1940061408	12	3	2
0740061502	12	3	2
0740061510	12	3	2
1940061402	12	3	3
0740061530	12	3	3
1140061502	12	4	3

Number for DNA extraction	Rostral Fomula		
	DT	DTBO	VT
0740061547	13	2	1
0740061539	13	2	2
0740061543	13	2	2
1540061404	13	2	2
0740061519	13	3	2
0740061512	13	3	3
0740061511	13	4	2
1540061409	18	3	4

表2. 下載自GenBank之28S rDNA序列，包括15種台灣原生種沼蝦及外群的2個物種(*Exopalaemon modestus* and *Palaemon elegans*)

Table 2. The sources of 28S rDNA sequences of freshwater prawns (*Macrobrachium*) and outgroup (*Exopalaemon modestus* and *Palaemon elegans*) used in this study

Species	Sampling locations	NCBI Accession number
<i>M. asperulum</i>	Taiwan	EU008724
<i>M. australe</i>	Taiwan	EU008719
<i>M. esculentum</i>	Taiwan	EU008722
<i>M. equidens</i>	Taiwan	EU008717
<i>M. formosense</i>	Taiwan	EU008723
<i>M. gracilirostre</i>	Taiwan	EU008728
<i>M. japonicum</i>	Taiwan	EU008721
<i>M. jaroense</i>	Taiwan	EU008730
<i>M. latimanus</i>	Taiwan	EU008729
<i>M. latidactylus</i>	Taiwan	EU008727
<i>M. lar</i>	Taiwan	EU008720
<i>M. lepidactyloides</i>	Taiwan	EU493118
<i>M. mammillodactylus</i>	Taiwan	EU008732
<i>M. nipponense</i>	Taiwan	EU008731
<i>M. placidulum</i>	Taiwan	EU008726
<i>Exopalaemon modestus</i>	Taiwan	EU008718
<i>Palaemon elegans</i>	America	DQ079807

化，加入2 μ l proteinase K，搖動使之混合均勻，置於55°C中3hr或隔夜。乾浴後加入100 μ l protein precipitation solution，強力震盪20sec，置於冰上5 min，以13000~16000rpm離心3 min，使蛋白質沉澱。離心後取出上清液至1.5ml微量離心管中，加入300 μ l 100%酒精，再次以13000~16000 rpm離心2 min。離心後倒掉酒精，加入300 μ l 100% Isopropanol，翻轉離心管，使之均勻混合。接著以13000~16000 rpm離心5 min，倒掉Isopropanol，以65°C烘乾15~20 min，加入50 μ l DNA hydration solution，置於55°C 1 hr。最後保存於-20°C冰箱中。

增幅28S rDNA基因序列產物用primer C1 (5'-ACCCGCTGAATTTAAGCAT-3')及D2 (5'-TGGTCCGTGTTTCAAGAC-3') (Chen *et al.* 2009a)進行PCR增幅。聚合酵素連鎖反應(PCR; polymerase chain reaction)以GeneAmp 9700 PCR system進行 (Applied Biosystems, Foster City, CA, USA)每一組總量為50 μ l的反應溶液中，包含1 μ l的template DNA (50-100ng extracted genomic DNA)、1 μ l的10mM正反兩股的primers、2.5 μ l的10 \times PCR buffer、1 μ l的10mM dNTPs、2.5 μ l的25mM MgCl₂和1U的Taq polymerase。PCR增幅反應條件為：initial denaturation step為94°C 5 min，爾後35 cycles為94°C 1min、annealing at 58°C 1min 和extension at 72°C 1min，最後在final extension step為72°C 7min。PCR產物用1% agarose gel 電泳與ethidium bromide染色檢測，使用Micro-Elute DNA Clean/ Extraction Kit

(GeneMark, Taiwan)將PCR產物純化並溶於10 μ l ddH₂O。純化後的PCR產物用ABI Model 3100 DNA sequencer (Applied Biosystem, USA) 以 BigDye terminator cycle sequencing reagent (Applied Biosystem, USA)進行DNA定序。

2.28S rDNA序列分析

DNA序列用BioEdit ver. 7.0.5.3 (Hall 1999)排列與編輯。本研究共完成49條28S序列，包括32隻沼蝦幼體、15種台灣原生沼蝦及2種十足目動物(*Exopalaemon modestus*, *Palaemon elegans*)為外群(如表2)。所有序列以 Clustal X v. 1.83 進行序列互相排序(Thompson *et al.* 1997)，並手動校正。用MEGA ver. 10.1.7 進行核酸序列統計分析(Tamura *et al.* 2007)。

3.親緣分析

本研究使用MEGA ver. 10.1.7來建構親緣關係樹，採用包括鄰接法 (neighbor-joining, NJ)、最大簡約法(maximum parsimony, MP)、最小演化法(minimum evolution, ME)和最大似然率法(maximum likelihood, ML)等4種內建親緣分析方法。為求親緣樹最佳化，利用MEGA X(Kumar *et al.* 2018)程式得到最佳模式參數，作為親緣樹建構程式執行參考。經分析28S序列資料後，建議最佳模式為TN93+G+I，BIC scores (Bayesian Information Criterion)為13655.090、AICc value (Akaike Information Criterion, corrected)為12793.091、Maximum Likelihood value (lnL)為-6294.243、Gamma distribution

(+G)為1.28、evolutionarily invariable (+I)為0.43、transition/transversion bias (R)為0.95、freqA = 0.213, freqC = 0.220, freqG = 0.347, freqT = 0.221。

4種親緣樹的建構都透過1000次重覆演算後取得bootstrap consensus tree，捨棄相對比率低於50% bootstrap replicates的分枝，分支上的數字表示在1000次bootstrap test下的百分比。其中Minimum Evolution method (Rzhetsky and Nei 1992)的演算距離(evolutionary distance)是依Maximum Composite Likelihood method (Tamura *et al.* 2004)演算，Gamma distribution則是依最佳模式所計算之值1.28導入，初開始之親緣樹係由Neighbor-joining algorithm，後續則以Close-Neighbor-Interchange (CNI) algorithm (Nei and Kumar 2000)取得。Neighbor-Joining method (Saitou and Nei 1987)的演算距離也

是依Maximum Composite Likelihood method演算，Gamma distribution同樣是依最佳模式所計算之值1.28導入。Maximum Parsimony method 以逢機插入序列之方法 (random addition of sequences; 10 replicates)取得初開始之親緣樹，後續則以Subtree-Pruning-Regrafting (SPR) algorithm (Nei and Kumar 2000)取得。

結果與討論

一、沼蝦幼體鑑定及28S rDNA分析

本研究共採集95隻淡水蝦個體，其中1隻為匙指蝦科(Atyidae; De Haan, 1849)，94隻為沼蝦屬(*Macrobrachium*; Spence Bate, 1868)，有5隻沼蝦幼體額角斷裂或破損難以鑑定，因此扣除此5隻外觀缺損及1隻匙指蝦科之個體，餘89隻作為本研究之分析個體。此89隻個體頭胸甲長(Carapace

表3. 秀姑巒溪所採4種沼蝦之頭胸甲長(mm)頻度分布

Table 3. Frequency distributions of carapace lengths for four species of *Macrobrachium* collected from the Hsiukuluan River

Species	Carapace length (mm)								Total number
	2-3	3-4	4-5	5-6	6-7	7-8	8-10	10-15	
<i>M. japonicum</i>	14	55	10	-	-	1	1	2	83
<i>M. placidulum</i>	2	1	-	-	-	-	-	-	3
<i>M. lepidactyloides</i>	-	-	-	1	-	-	-	1	2
<i>M. latidactylus</i>	-	-	1	-	-	-	-	-	1
Total number	16	56	11	1	-	1	1	3	89

表4. 以MEGA X估算之最適演化模式，所計算的28S rDNA序列間之演化距離(序列包括本研究之32隻沼蝦幼體、15種台灣原生種沼蝦及外群的2個種類)。表中對角線下方表示：本研究所採27隻沼蝦幼體及*M. japonicum*，對角線上方表示：本研究所採5隻沼蝦幼體、15種台灣原生種沼蝦及外群的2個種類)

Table 4. The estimates of evolutionary divergent between sequences among 32 sampled juvenile individuals from this study, 15 species of *Macrobrachium* from Taiwan, and two outgroup species. The evolutionary divergent were calculated from the best-fit models selected by MEGA X (27 sequences of sampling juvenile individuals and a sequence of *M. japonicum* below diagonal; five sequences of sampling juvenile individuals, 15 species of Taiwanese *Macrobrachium*, and two outgroup species above diagonal)

Sampling Nul/ Taxon	1.	2.	3.	4.	5.	6.	7.	8.	9.	10.	11.	12.	13.	14.	15.	16.	17.	18.	19.	20.	21.	22.	23.	24.	25.	26.	27.	Sampling Nul/ Taxon
1. 0740061506	0.2	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.2	0.1	0.2	0.2	0.2	0.0	0.1	0.2	0.1	0.1	0.2	0.2	0.2	0.1	0.2	0.2	0.1	0.2	0.1	0.2	0.2	1. 0740061511
2. 1540061409	38	54	48	93	14	93	27	56	51	12	48	45	62	85	69	66	89	94	48	55								2. 1540061409
3. 0740061559	0.0	0.3	0.3	0.2	0.2	0.1	0.1	0.1	0.1	0.2	0.3	0.0	0.3	0.2	0.1	0.2	0.3	0.2	0.1	0.2	0.2	0.3	0.2	0.3	0.2	0.3	0.2	3. 0740061559
4. 1940061402	66	49	41	37	23	63	78	0.2	0.2	0.2	0.3	0.1	0.0	0.3	0.1	0.2	0.3	0.2	0.3	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	4. 1940061402
5. 1140061502	40	56	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	5. 1140061502
6. <i>M. australe</i>	13	69	46	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	6. <i>M. australe</i>
7. <i>M. lar</i>	24	79	59	13	29	35	54	85	0.3	0.3	0.3	0.1	0.4	20	82	97	06	78	42	12	56	75						7. <i>M. lar</i>
8. <i>M. japonicum</i>	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	8. <i>M. japonicum</i>
9. <i>M. exultantum</i>	16	73	51	06	12	0.0	0.0	0.0	0.0	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	9. <i>M. exultantum</i>
10. <i>M. formosense</i>	14	69	50	04	10	00	10	92	0.3	0.4	0.5	30	55	95	07	34	27	64	52	16	21							10. <i>M. formosense</i>
11. <i>M. asperulum</i>	04	63	37	06	11	06	06	70	00	04	94	49	80	54	65	20	26	73	39	65	52							11. <i>M. asperulum</i>
12. <i>M. lepidactyloides</i>	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.1	0.1	0.2	0.2	0.2	0.0	0.3	0.1	0.1	0.1	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	12. <i>M. lepidactyloides</i>
13. <i>M. placidulum</i>	17	73	53	06	12	03	03	06	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.1	0.2	0.1	0.1	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	13. <i>M. placidulum</i>
14. <i>M. latidactylus</i>	13	67	51	03	07	03	08	01	64	50	97	58	19	59	70	69	11	04	77	55								14. <i>M. latidactylus</i>
15. <i>M. gracilirostre</i>	15	64	46	04	16	07	07	04	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	15. <i>M. gracilirostre</i>
16. <i>M. latimans</i>	18	69	48	06	18	09	09	06	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	16. <i>M. latimans</i>
	04	68	52	06	09	03	01	08	04	01	09	10	12	82	95	98	76	48	10	57	75							
	14	74	55	10	09	12	12	09	12	07	12	15	07	49	87	64	28	40	31	97	75							
	14	61	42	01	12	04	04	04	06	04	00	01	04	10	43	38	25	72	83	19	30							
	13	71	50	06	12	03	01	06	04	04	09	10	03	09	03	81	96	54	09	90	92							

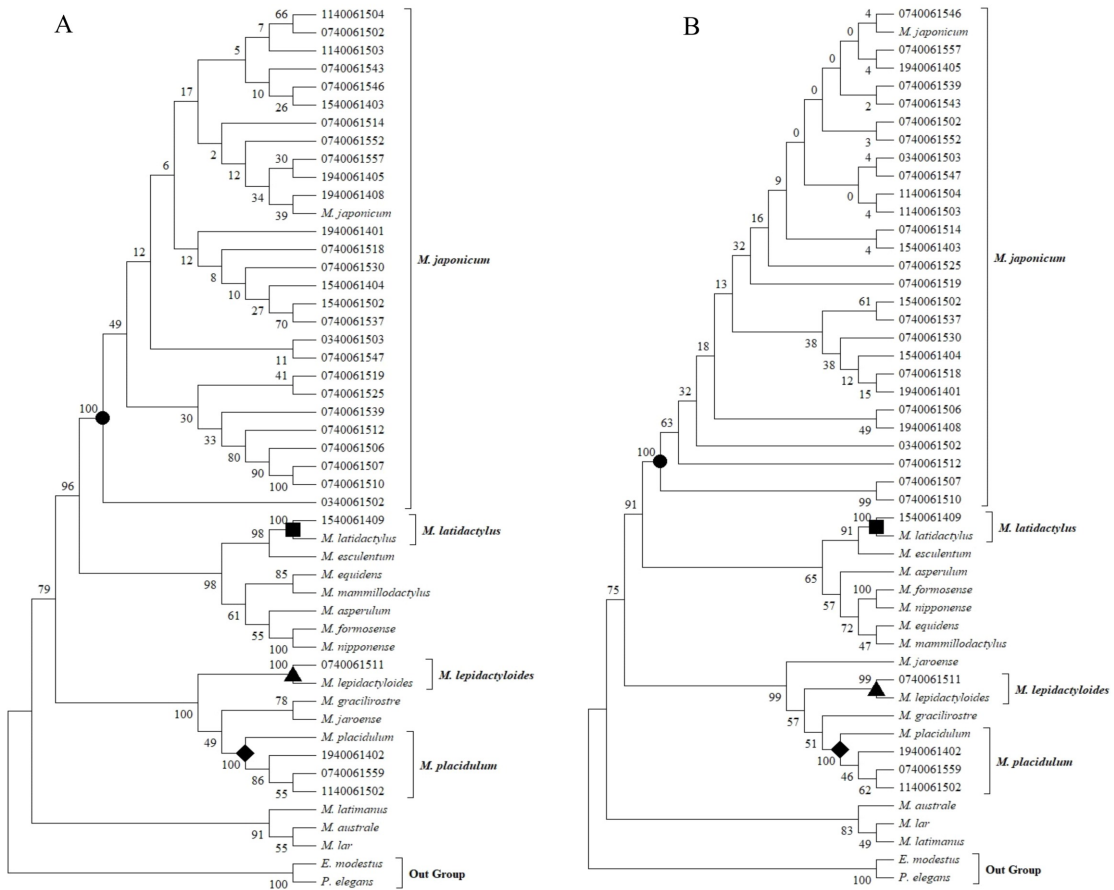


圖4. 取自核內28S rDNA序列所建構之一致性親緣關係樹，序列包括本研究之32隻沼蝦幼體、15種台灣原生種沼蝦及外群的2個種類。A表示最少演化法；B表示最大相似法。圓形、正方形、三角形及菱形分別表示大和沼蝦、闊指沼蝦、寬掌沼蝦及熱帶沼蝦的分枝節點(皆達99%以上)。

Fig. 4. Consensus phylogenetic trees reconstructed from the 28S rDNA sequences for 32 collected juveniles, 15 species of Taiwanese *Macrobrachium* prawns with *Exopalaemon modestus* and *Palaemon elegans* as the outgroup, using minimum evolution (A: ME) and maximum likelihood (B: ML) (numbers near lines, bootstrap values) methods (the nodes of solid circles, square, triangle, and diamond with above 95% consensus indicate the identification of *M. japonicum*, *M. latidactylus*, *M. lepidactyloides*, and *M. placidulum*, respectively).

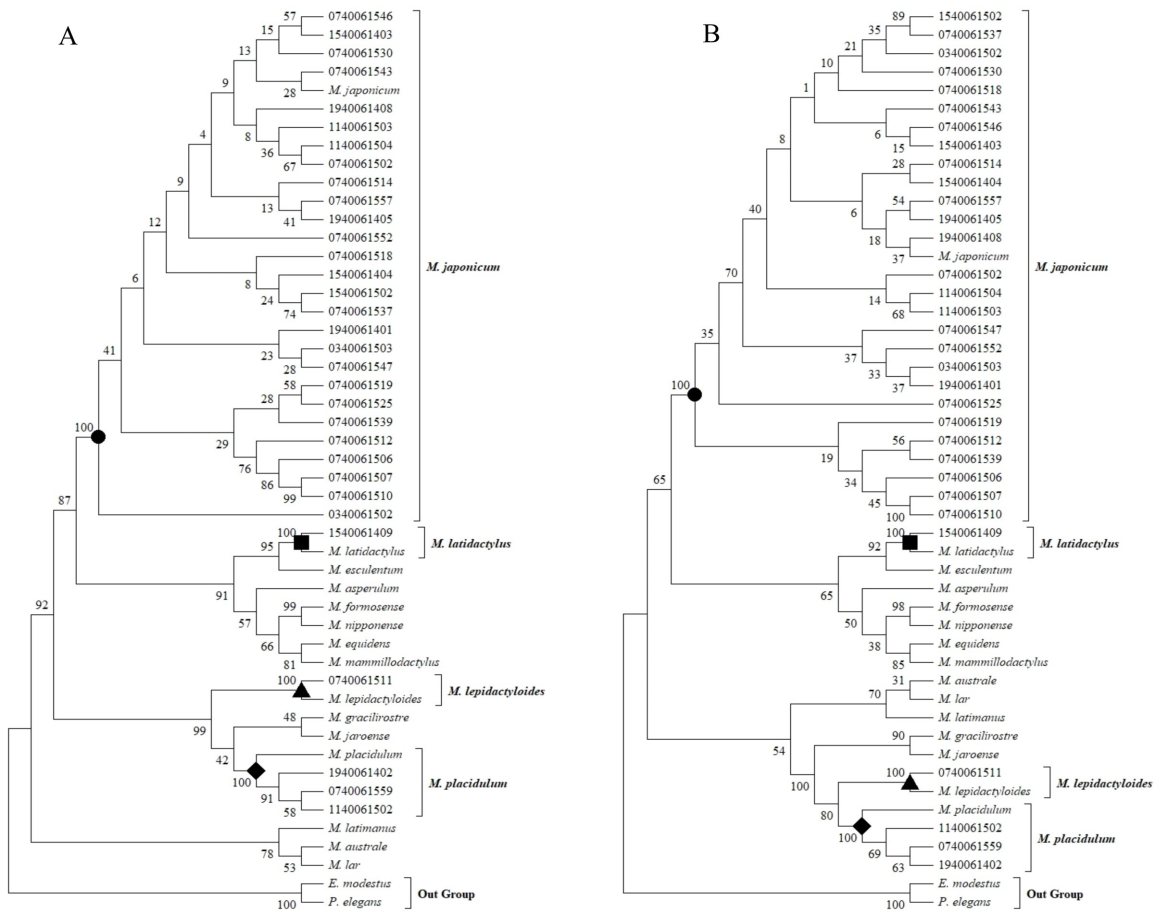


圖5. 取自核內28S rDNA序列所建構之一致性親緣關係樹，序列包括本研究之32隻沼蝦幼體、15種台灣原生種沼蝦及外群的2個種類。A表示鄰接法；B表示最大簡約法。圓形、正方形、三角形及菱形分別表示大和沼蝦、闊指沼蝦、寬掌沼蝦及熱帶沼蝦的分枝節點(皆達100%)。

Fig. 5. Consensus phylogenetic trees reconstructed from the 28S rDNA sequences for 32 collected juveniles, 15 species of Taiwanese *Macrobrachium* prawns with *Exopalaemon modestus* and *Palaemon elegans* as the outgroup, using neighbor-joining (A: NJ) and maximum parsimony (B: MP) (numbers near lines, bootstrap values) methods (the nodes of solid circles, square, triangle, and diamond with above 95% consensus indicate the identification of *M. japonicum*, *M. latidactylus*, *M. lepidactyloides*, and *M. placidulum*, respectively).

表5. 24小時共7次不同時間所採之沼蝦幼體個數

Table 5. Numbers of juvenile individuals collected from seven different times over 24 hours, 14-15 June 2005

Species	Collecting times							Total
	15:40(6/14)	19:40	23:40	03:40(6/15)	07:40	11:40	15:40	
<i>M. japonicum</i>	7	11	-	3	53	3	2	79
<i>M. placidulum</i>	-	1	-	-	1	1	-	3
<i>M. lepidactyloides</i>	-	-	-	-	1	-	-	1
<i>M. latidactylus</i>	1	-	-	-	-	-	-	1
Total	8	12	-	3	55	4	2	84

表6. 大和沼蝦頭胸甲長(mm)頻度分布(頭胸甲長低於7mm以下視為幼體)

Table 6. Frequency distributions of carapace length of the most amount specie of *Macrobrachium japonicum* collected for 24 hours

14-15 June 2005. (The interval of collecting time could be divided into six time periods—A:15:40-19:40, B:19:40-23:40, C:23:40-03:40, D:03:40-07:40, E:07:40-11:40, F:11:40-15:40; Juvenile: carapace length < 7mm.)

Interval of collecting time	Carapace length (mm)								Total number	
	2-3	3-4	4-5	5-6	6-7	7-8	8-10	10-15	Juvenile	Adult
A	1	9	1	-	-	-	-	-	11	-
B	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
C	-	1	2	-	-	-	-	-	3	-
D	12	34	7	-	-	1	1	2	53	4
E	-	3	-	-	-	-	-	-	3	-
F	1	1	-	-	-	-	-	-	2	-
Total number	14	48	10		-	1	1	2	72	4

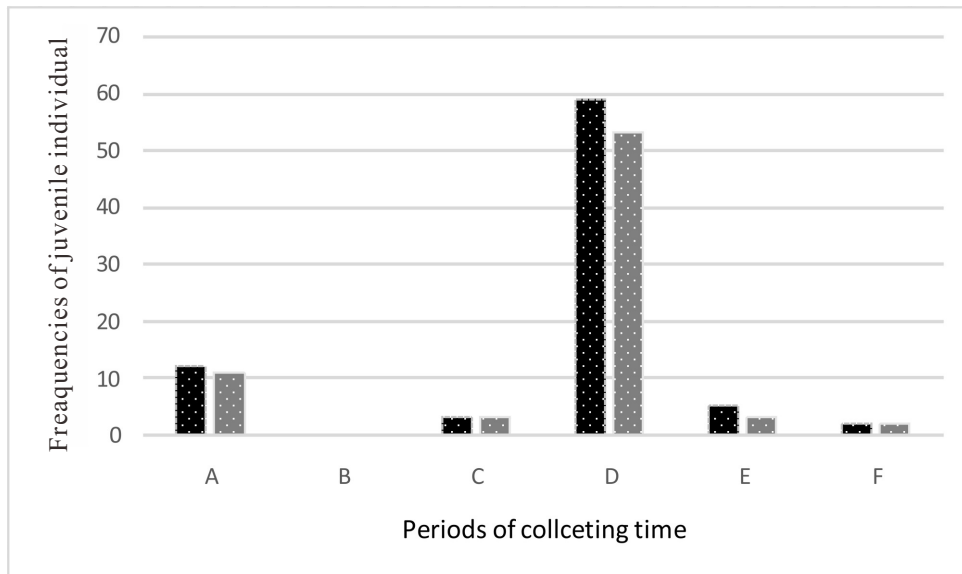


圖6. 6個時段沼蝦上溯之頻度圖(不含6月14日15:40所採之個體；黑色柱狀：全部81隻沼蝦個體；灰色柱狀：全部72隻大和沼蝦幼體；A時段：15:40-19:40、B時段：19:40-23:40、C時段：23:40-03:40、D時段：03:40-07:40、E時段：07:40-11:40、F時段：11:40-15:40)。

Fig. 6. The frequencies of the total 81 individuals (dark column) of *Macrobrachium* spp. and 72 juvenile individuals of *M. japonicum* (gray column) from different collecting time periods (without including the individuals collected at 15:40 on 14 June; the interval of collecting time could be divided into six time periods—A:15:40-19:40, B:19:40-23:40, C:23:40-03:40, D:03:40-07:40, E:07:40-11:40, F:11:40-15:40).

圓形、正方形、三角形及菱形分別表示大和沼蝦、闊指沼蝦、寬掌沼蝦及熱帶沼蝦的分枝節點，bootstrap values皆達99%以上。圖5之A為鄰接法(neighbor-joining)；B表示最大簡約法(maximum parsimony)，實心圓形、正方形、三角形及菱形同樣分別表示大和沼蝦、闊指沼蝦、寬掌沼蝦及熱帶沼蝦的分枝節點，bootstrap values皆達100%。

二、全日上溯分析

經鑑定分類後全部89隻沼蝦，可分為大和沼蝦、闊指沼蝦、寬掌沼蝦及熱帶沼蝦等4種，其頭胸甲長分布如表3，其中有5隻成體(頭胸甲長大於7mm)，84隻幼體，幼體占比約94%，表示本研究的採樣設備十分適合採集上溯的沼蝦幼體。大和沼蝦數量最多，共83隻(含4隻成體)，佔全體數量約93%，其次為熱帶沼蝦有3隻。頭胸甲長

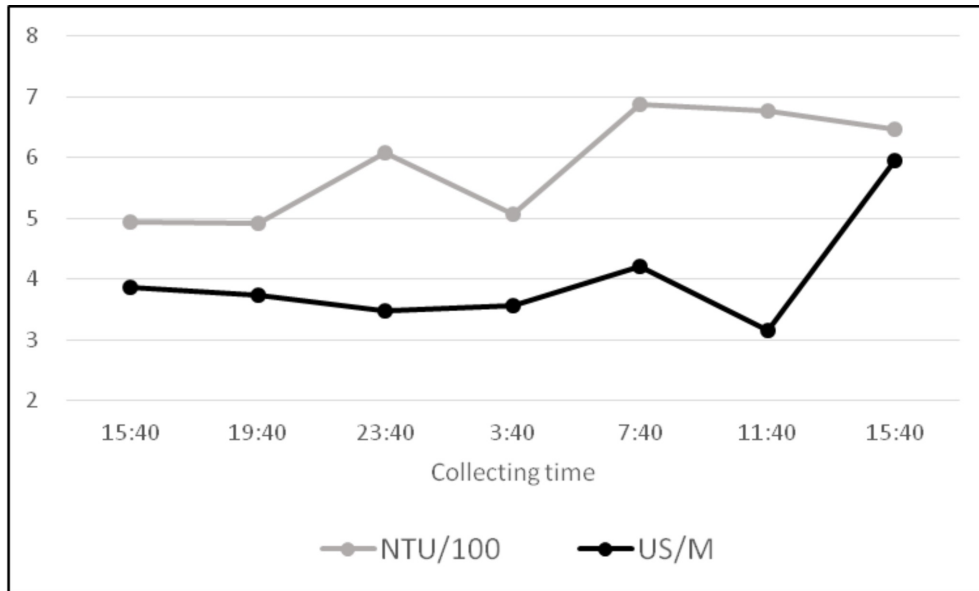


圖7. 濁度(NTU/100)及電導度(US/M)變化。

Fig. 7. The curves of turbidity (NTU/100) and conductivity (US/M).

以3-4mm個體數量最多，有56隻，佔全體數量約63%；其次為2-3mm有16隻，約佔18%；4-5mm有11隻，約佔12%。表5，表示24小時共7次不同時間所採之沼蝦幼體個數，以6月15日清晨7:40數量最多，有3種55隻；其次為6月14日晚間19:40，有2種12隻；僅6月14日晚間23:40無採集到個體。

將24小時分成6個時段，分析大和沼蝦之上溯情形(表6及圖6)。以D時段(03:40-07:40)53隻最多，約佔74%；其次為A時段(15:40-19:40)11隻，約佔15%；僅B時段(19:40-23:40)無上溯之個體。如圖6所顯示，大和沼蝦幼體上溯有2高峰期，最高峰時段為下半夜至清晨，其次為午後近昏至初夜。其頭胸甲長以3-4mm最多，約佔67%；2-3mm約佔19%；4-5mm約佔14%。

三、環境因子

共檢測流速(公分/秒; cm/s)、水深(公分; cm)、酸鹼值(pH)、溶氧量(毫克/公升; mg/l)、導電度(us/cm)、濁度(NTU)、氣溫(°C)及水溫(°C)等8種環境資料(如圖7、8、9、10)。以線性迴歸檢測上揭環境因子與沼蝦幼體上溯之相關性，皆未達顯著。其中在D時段(03:40-07:40)流速從平均78 cm/s降至平均67.5 cm/s，流速明顯減緩期間，為上溯顛峰時段；相較B時段(19:40-23:40)流速從平均60 cm/s增加至平均70.5 cm/s，明顯增加期間則無上溯個體，推測流速有可能是影響上溯的重要因子。*M. ohione* 在密西西比河(Bauer and Delahoussaye 2008)及太平洋沿岸的幾種沼蝦(Bauer 2011)都是在低流速流量的季節進行上溯，通常發生在水

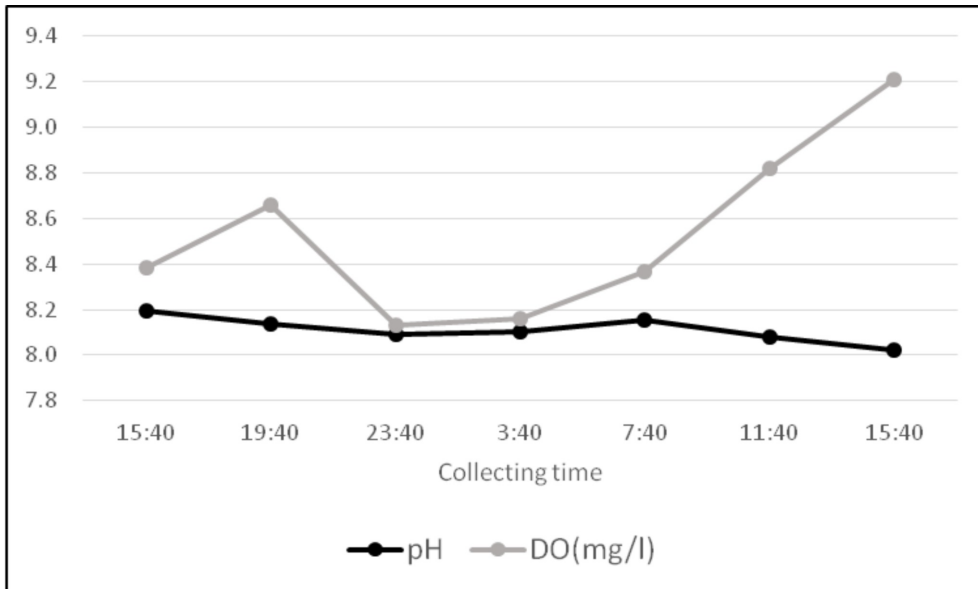


圖8. 酸鹼度(pH)及溶氧(DO; mg/l)變化。

Fig. 8. The curves of pH and dissolved O2 concentration (mg/l).

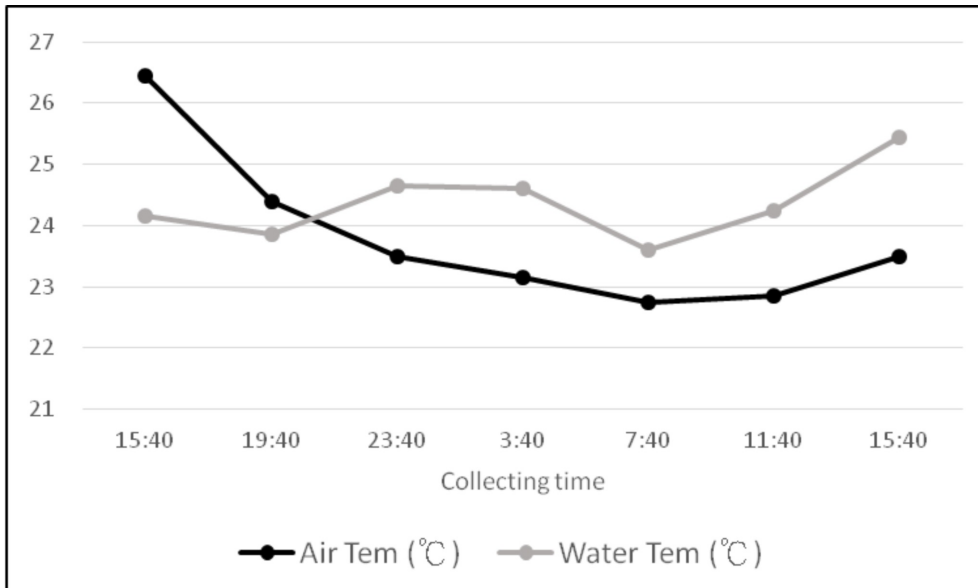


圖9. 氣溫及水溫變化。

Fig. 9. The curve of air and water temperature.

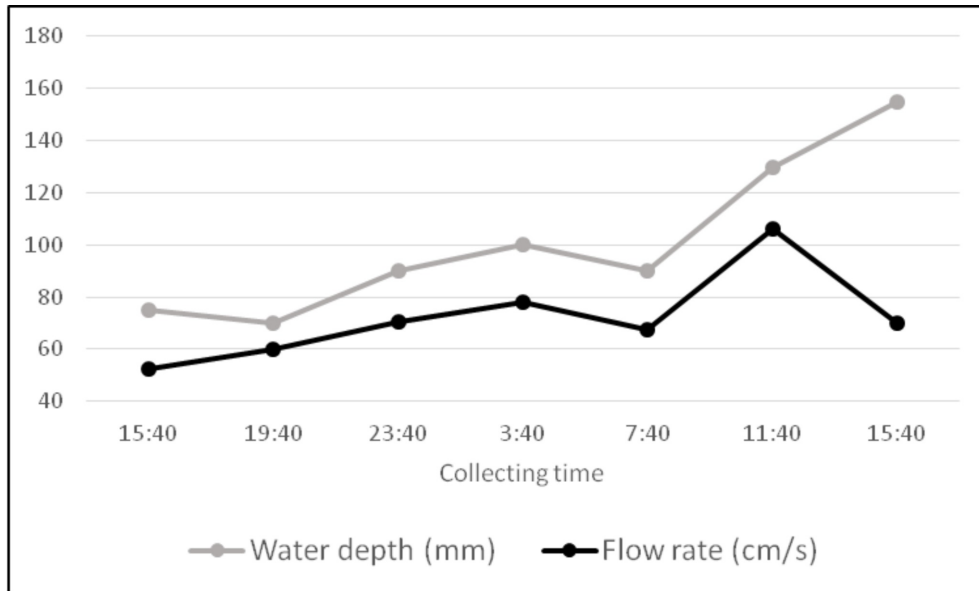


圖10. 水深(mm)及流速(cm/s)變化。

Fig. 10. The curve of water depth (mm) and velocity (cm/s).

流相較低及流量流速減緩的夜晚。Covich *et al.* (2003)及Upadhyay *et al.* (2014)也都證實淡水蝦會受到光線及流速而驅動其上溯行為。本研究僅記錄24小時之環境因子變化，有待後續更長期的試驗，來瞭解其相關性。

結論

本研究顯示大和沼蝦全日主要有2個上溯時段，最高峰時段為下半夜至清晨(03:40-07:40)，其次為午後近黃昏至初夜(15:40-19:40)，除19:40-23:40外，餘時段皆有零星上溯個體。本研究的採樣設施，沼蝦幼體占比約94%，十分適合上溯試驗之採樣工具，配合初步研究果，將有助於未

來持續進行長期、各種沼蝦之上溯研究，尤其台灣大部分的沼蝦物種尚待釐清洄游特性。

引用文獻

- 李訓煌、陳義雄、何平合、張世倉、葉明峰、蔡雅芬。2003。全省河川生態補充調查與資料庫建立研究計畫(東部地區)。經濟部水利署水利規劃試驗所。
- 林水治、施志昀、游祥平。1988。室內孵化之黑殼沼蝦 *Macrobrachium asperulum* (Von Martens, 1868) 之幼苗變態研究。台灣水產學會刊15(2): 8-20。

- 林旻翰。2001。秀姑巒溪鱸鰻鰻苗夏季上溯族群動態研究。國立清華大學生命科學系碩士論文。
- 施志昫、王瓏璋。2017。室內孵化之刺足沼蝦*Macrobrachium spinipes*幼苗培育及不同鹽度下對其幼苗發育之影響研究。國立澎湖科技大學研發專刊 9: 34-44.
- 施志昫、游祥平。1998。海洋生物博物館圖鑑系列(6)台灣的淡水蝦。國立海洋生物博物館籌備處出版。
- 施志昫、鄒月娥、游祥平。1990。室內孵化之台灣沼蝦幼苗變態研究。台灣水產學會刊17(1): 21-34。
- 施志昫。1994。台灣淡水蝦蟹類分類。國立台灣海洋大學漁業科學研究所博士論文。
- 陳榮宗。2003。台灣東部及南部地區淡水蝦蟹類資源調查。特有生物研究保育中心92年度試驗研究執行成果。
- 陳榮宗。2004。台灣東部及南部地區淡水蝦蟹類資源調查。特有生物研究保育中心93年度試驗研究執行成果。
- 曾晴賢、蕭仁傑、劉名允、林旻翰。2000。秀姑巒溪洄游生物的研究。海峽兩岸流域經營管理暨東部河川集水區綜合經營管理研討會論文集345-360。
- 曾晴賢。2002。台灣河川洄游生物的習性。科學發展 352期。
- 游祥平。2000。台灣產淡水蝦蟹類之分類、分布及幼體變態之研究(Ⅲ)。行政院國家科學委員會。
- 葉怡均、江玉瑛、鄭明忠、蕭玉晨、何源興。2020a。兩側洄游型蝦類之人工繁殖養殖研究。台灣水產學會109年度學術論文發表會暨會員大會 論文編號/Paper ID:A-57.
- 葉怡均、江玉瑛、鄭明忠、蕭玉晨、何源興。2020b。細額沼蝦之幼苗發育研究。台灣水產學會109年度學術論文發表會暨會員大會 論文編號/Paper ID:A-15.
- 鄒月娥、陳瑤湖、游祥平。1990。溫度及鹽度對日本沼蝦(*Macrobrachium nipponense*)幼苗發生之影響。台灣水產學會刊17(2): 99-107。
- 趙子維。2000。太魯閣國家公園砂卡噹溪大和沼蝦及大和米蝦之生物學研究。國立台灣海洋大學海洋生物研究所碩士論文。
- 簡家駿。2018。探討台灣不同溪流大和沼蝦(*Macrobrachium japonicum* De Haan, 1849) (十足目:長臂蝦科)生殖生態。國立東華大學海洋生物研究所碩士論文。
- Albertoni, E. F., C. Palma-Silva and F. A. Esteves. 1999. Larvae and Post-Larvae of Penaeidae and Palaemonidae in Coastal Lagoons of the north of Rio De Janeiro (Macae, RJ). *Revista Brasileira de Biologia* 59(1): 109-117.
- Atkinson, J. M. 1977. Larval development of a freshwater prawn, *Macrobrachium Lar* (Decapoda, Palaemonidae), reared in the laboratory. *Crustaceana* 33(2):

- 119–132.
- Bauer, R. T. and J. Delahoussaye. 2008. Life history migrations of the amphidromous river shrimp *Macrobrachium ohione* from a continental large river system. *Journal of Crustacean Biology* 28: 622–632.
- Bauer, R. T. 2011. Amphidromy and migrations of freshwater shrimps. II. Delivery of hatching larvae to the sea, return juvenile upstream migration, and human impacts. In C. Fransen & A. Asakura (Eds.), *New frontiers in crustacean biology* (pp. 157–168). Leiden, the Netherlands: Koninklijke Brill NV.
- Bauer, R. T. 2013. Amphidromy in shrimps: A life cycle between rivers and the sea. *Latin American Journal of Aquatic Research* 41: 633–650.
- Benstead, J. P., J. G. March, C. M. Pringle and F. N. Scatena, 1999. Effects of a low-head dam and water abstraction on migratory tropical stream biota. *Ecological Applications* 9: 656–668.
- Cai, Y. and S. Shokita. 2006. Report on a collection of freshwater shrimps (Crustacea: Decapoda: Caridea) from the Philippines, with descriptions of four new species. *The Raffles Bulletin of Zoology* 54 (2): 245–270.
- Cai, Y. and M. S. Jeng. 2001. On a new species of *Macrobrachium* bate, 1868 (Decapoda, Palaemonidae) from northern Taiwan. *Crustaceana* 74(3): 275–283.
- Chen, R. T., C. F. Tsai and W. N. Tzeng. 2009a. 16s and 28s rDNA sequences in phylogenetic analyses of freshwater prawns (*Macrobrachium* bate, 1868) from Taiwan. *Journal of Crustacean Biology* 29(3): 400–412.
- Chen, R. T., C. F. Tsai, and W. N. Tzeng. 2009b. Freshwater prawns (*Macrobrachium* Bate, 1868) of Taiwan with special references to their biogeographic origins. *Journal of Crustacean Biology* 29(2): 232–244.
- Chen, R. T., S. T. Chang, M. F. Yeh, H. P. Chen, T. H. Chen, C. F. Tsai and W. N. Tzeng. 2010. Distribution of the freshwater prawns (*Macrobrachium* Bate, 1868) in Taiwan in relation to their biogeographic origins. *Taiwan Journal of Biodiversity* 12(1): 83–95.
- Covich, A. P., T. A. Crowl and F. N. Scatena. 2003. Effects of extreme low flows on freshwater shrimps in a perennial tropical stream. *Freshwater Biology* 48: 1199–1206
- Crandall, K. A., D. J. Harris and J. W. Fetzner, Jr. 2000. The monophyletic origin of freshwater crayfish estimated from nuclear and mitochondrial DNA

- sequences. Proceedings of the Royal Society of London. Series B. Biological Sciences 267: 1679-1686.
- Fetzner Jr, J. W. and K. A. Crandall. 2001. Genetic Variation, pp. 291-326. In, D. M. Holdich (ed.), *Biology of Freshwater Crayfish*. Blackwell Science, Oxford.
- Hall, T. A. 1999. BioEdit: a user-friendly biological sequence alignment editor and analysis program for Windows 95/98/NT. *Nucleic Acids Symposium Series* 41: 95-98.
- Hamano, T. and K. I. Hayashi. 1992. Ecology of an atyid shrimp *Caridina japonica* (De Man, 1892) migrating to upstream habitats in the Shiwagi Rivulet, Tokushima prefecture. *Researches on Crustacea* 21: 1-13.
- Hwang, J. J. and H. P. Yu. 1982. Studies on the freshwater shrimps of the genus *Macrobrachium* (Crustacea: Decapoda: Palaemonidae) from Taiwan. *Quarterly Journal of the Taiwan Museum* 25: 157-180.
- Ibrahim, K. H. 1962. Observations on the fishery and biology of the freshwater prawn *Macrobrachium malcomsonii* Milne Edwards in River Godvari. *Indian Journal of Fisheries* 9: 433-467.
- Jalihai, D. R., K. N. Sankolli, and S. Shenoy. 1993. Evolution of larval developmental patterns and the process of freshwaterization in the prawn genus *Macrobrachium* Bate, 1868 (Decapoda, Palaemonidae). *Crustaceana* 65(3): 358-364.
- Kikkert, D. A., T. A. Crowl and A. P. Covich. 2009. Upstream migration of amphidromous shrimp in the Luquillo Experimental Forest, Puerto Rico: temporal patterns and environmental cues. *Journal of the North American Benthological Society* 28: 233-246.
- Kumar, S., G. Stecher, M. Li, C. Knyaz, and K. Tamura. 2018. MEGA X: Molecular Evolutionary Genetics Analysis across computing platforms. *Molecular Biology and Evolution* 35: 1547-1549.
- Kwon, C. S. and U. Yutaka. 1969. The larval development of *Macrobrachium nipponense* (De Haan) reared in the laboratory. *Bulletin de la Societe franco-japonaise doceanographie* 7: 30-46.
- Nei, M. and S. Kumar. 2000. *Molecular Evolution and Phylogenetics*. Oxford University Press, New York.
- Rzhetsky, A. and M. Nei. 1992. A simple method for estimating and testing minimum evolution trees. *Molecular Biology and Evolution* 9: 945-967.
- Saitou, N. and M. Nei. 1987. The neighbor-joining method: A new method for

- reconstructing phylogenetic trees. *Molecular Biology and Evolution* 4: 406-425.
- Shull, H. C., M. Perez-Losada, D. Blair, K. Sewell, E. A. Sinclair, S. Lawler, M. Ponniah and K. A. Crandall. 2005. Phylogeny and biogeography of the freshwater crayfish *Euastacus* (Decapoda: Parastacidae) based on nuclear and mitochondrial DNA. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 37: 249-263.
- Shy, J. Y. and H. P. Yu. 1998. Freshwater shrimps of Taiwan. National Museum of Marine Biology and Aquarium, Pingdong, Taiwan.
- Shy, J. Y., D. Wowor, and P. k. L. Ng. 2013. A new record of the giant freshwater prawn, *Macrobrachium spinipes* (Schenkel, 1902) (Crustacea: Decapoda: Palaemonidae) from Taiwan, with notes on its taxonomy. *Zootaxa* 3734 (1): 045-055.
- Tamura, K., M. Nei and S. Kumar. 2004. Prospects for inferring very large phylogenies by using the neighbor-joining method. *Proceedings of the National Academy of Sciences (USA)* 101: 11030-11035.
- Tamura, K., J. Dudley, M. Nei and S. Kumar. 2007. MEGA4: Molecular Evolutionary Genetics Analysis (MEGA) software version 4.0. *Molecular Biology and Evolution* 24: 1596-1599.
- Thompson, J. D., T. J. Gibson, F. Plewniak, F. Jeanmougin and D. G. Higgins. 1997. The CLUSTALX window interface: flexible strategies for multiple sequence alignment aided by quality analysis tools. *Nucleic Acids Research* 25: 4876-4882.
- Upadhyay, A. S., B. G. Kulkarni and A. K. Pandey. 2014. Migration in prawns with special reference to light and water current as inducers in *Macrobrachium rosenbergii*. *Journal of Experimental Zoology, India* 17(1): 33-48.