

國立臺灣大學生命科學院漁業科學研究所

碩士論文

Institute of Fisheries Science, College of Life Science

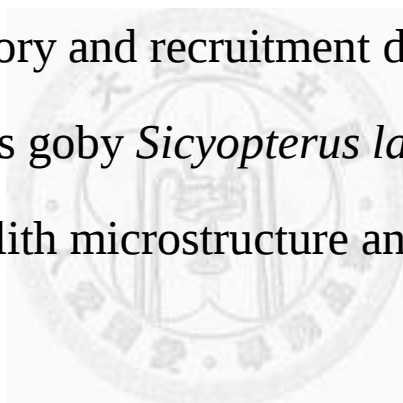
National Taiwan University

Master Thesis

耳石微細結構與微化學應用在兩棲洄游型寬頰瓢鰭

鰕虎的初期生活史及加入動態之研究

Early life history and recruitment dynamics of an
amphidromous goby *Sicyopterus lagocephalus* as
inferred from otolith microstructure and microchemistry



陳昱翔

Yu-Hsiang Chen

指導教授：曾萬年 博士

Advisor: Wann-Nian Tzeng, Ph.D.

中華民國 100 年 6 月

June, 2011

謝辭

人生須知負責任的苦處，才能知道盡責任的樂趣。—— 梁啟超

兩年走來，忙碌之餘總會伴隨更多的迷惘，因此這本論文的完成，是奠基在許多人的步伐。最首先要感謝的便是指導教授曾萬年老師，這兩年來的諄諄教誨，讓學生得以在兩岸研討會中拔得頭籌。口試期間，承蒙中央研究院細胞與個體生物研究所嚴宏洋研究員、國立清華大學生命科學系曾晴賢教授、國立臺灣大學海洋研究所蕭仁傑助理教授、以及本所沈康寧博士，於百忙之中抽空校閱指正，各位老師的專業思維及寶貴意見，使學生受惠良多，於此獻上最誠摯的謝意。

研究期間，感謝特有生物研究保育中心的陳榮宗學長，提供秀姑巒溪的樣本、採集小組在花蓮協助電魚採集。感謝國立臺灣海洋大學海洋研究所陳義雄教授，在鰕虎仔稚魚鑑種上不遺餘力地幫忙。以及中研院的飯塚義之博士和惠合助理，不吝提供 EPMA 機臺及技術協助，為論文更添色彩。此外，感謝臺大共同儀器中心的亞臻助理，在電子顯微鏡上的操作協助。Nico，是我的地下指導老師，不論是研究方法抑或資料分析，甚至是文法修改，不厭其煩地帶領著完整此論文，在您身上看到了對研究的熱誠與追根究底，讓我深受陶冶。康寧學長，當初偶然間拜讀您的研究，啟蒙了我，並成為這本論文的開端，而那輕鬆又不失嚴謹的治學態度，深深影響我這兩年來的為人處世，實為感激。張至維老師，您對於圖表的用心，成為論文中最好的典範。明彥學長，感謝您的耐心指教和鼓勵。

驀然回首，兩寒暑過得不疾不徐，研究所的生活就這麼建構在時而新鮮、時而無趣的自我追尋中。有了世彬學長在專業上給予的幫助；瑞宗學長及弘都老師提醒我作研究的意義；林春吉先生開啟我對鰕虎的癡狂；漁科所的詠政、正勳、舜豪、易賢、國薰、于正、亮均、雅雯等、一起上山下海的其穎、靖益、士弘，讓我渡過這段精彩的歲月；志慧，一路上陪著我幹譙、歡笑、和更多的關懷，讓我有勇氣考取水產技師；家人們的支持和包容，很是滿足。在此獻給大家。

中文摘要

寬頰瓢鰭鰕虎(*Sicyopterus lagocephalus*)為兩棲洄游型(amphidromy)魚類，在淡水與海水之間洄游，其中，初期生活史的階段一直是個謎。本研究於 2008 年 9 月至 2009 年 11 月期間，每月於臺灣東部秀姑巒溪河口處(測站 1)及河口往上兩公里處(測站 2)採集樣本，同時於臺灣南澳及蘭嶼採集數量不等的標本。利用耳石微細結構(日週輪、變態輪、輪寬)及微化學(鋇鈣比)的分析，配合外部形態變化，以探討該種仔稚魚在溯河過程中的初期生活史特徵，和回推其產卵期，並探討海洋浮游期(pelagic larval duration)的地理差異及其可能的擴散路徑。

結果顯示，秀姑巒溪的寬頰瓢鰭鰕虎為全年產卵型，且每個月皆有個體加入。其上溯行為俱日行性，主要集中於白天的 12:00 – 15:00 時段。依照外部型態，捕捉的樣本個體可分為五個發育階段：分別為後期仔魚的第一期(PL1)和第二期(PL2)、以及稚魚的第一期(J1)和第二期(J2)以及成魚(A)，上溯中的個體其最明顯的外形變化包括口部位置由前端位(terminal)轉變成次端位(inferior)；尾部形狀由叉型尾(fork-shape)改變為圓型尾(round-shape)。測站 1 以 PL1 期為主(93%)；測站 2 則以 J1 期為主(78%)。仔稚魚加入河口的平均體長為 27.7 mm (範圍 25.6-29.8 mm, $n = 99$)，平均日齡為 115 天(範圍 84 – 162 天, $n = 49$)，平均體成長率為 0.23 mm/天 (範圍 0.20-0.27 mm/天, $n = 49$)，兩測站間的個體長有顯著性差異($p < 0.05$)，但季節間無顯著性差異($p > 0.05$)。初期階段的耳石日成長率呈現先升後降的趨勢並持續到變態輪，輪後的成長率才再度回升，且最大成長軸由耳石後端轉換至其他軸。而耳石鋇鈣比在核心部分與變態輪後有顯著較低的現象，其 PLD 與加入體長在臺灣東部有南低北高的地理傾斜現象存在。本研究對於臺灣寬頰瓢鰭鰕虎建立基礎的生態資料，有助其物種與棲地保育的政策制定提供參考。

關鍵字：兩棲洄游型、寬頰瓢鰭鰕虎、耳石日週輪、鋇鈣比、初期生活史

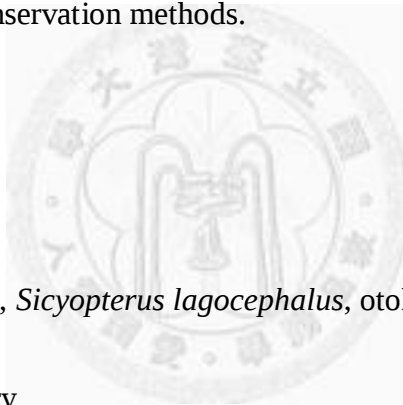
Abstract

Sicyopterus lagocephalus (Gobiidae: Sicydiinae) is an amphidromous goby and the basic details about its early life history like the duration of pelagic larval stage is still a mystery. In this study, we have used of the otolith microstructure (daily growth increments, metamorphosis check, and increment width) and microchemistry (Sr/Ca ratio) of *S. lagocephalus* collected from 2 stations in the lower reaches of Hsiukuluan River and from Nanao and Lanyu in eastern Taiwan to understand its early life history, dispersal, and recruitment dynamics.

The results showed that *S. lagocephalus* has a whole-year spawning and recruitment period. Recruitment time occurs mostly during the day with the peak at around 15:40. Based on external morphology, the specimens were characterized into five stages: post-larval stages PL1, PL2; juvenile stages J1, J2 and adult stage (A). PL1 stage individuals were mostly found in station 1 (93%) while J1 stage individuals in station 2 (78%). The total length of *S. lagocephalus* at recruitment to the estuary of Hsiukuluan River were 27.7 mm (range 25.6-29.8 mm, n = 95) with daily age at about 115 days (range 84-162 days, n = 49), and somatic growth rate at about 0.23 mm/d (range 0.2-0.27 mm/d, n = 49). No significant differentiation among seasons were observed ($p > 0.05$). The growth rate was slow at the beginning of larval life; it increased first and then decrease until recruitment to the freshwater. It increased again

after the deposition of the metamorphosis check but exhibited asymmetrical growth afterwards. The otolith Sr/Ca ratio in the core was low at the beginning of larval life and it then drastically increase as the fish migrates toward the sea. It will start to decrease as soon as the fish migrates back to the freshwater. Also, there was a geographic decline in the length at recruitment and PLD of *S. lagocephalus* larvae from south to north in eastern Taiwan. This study has allowed us to improve our knowledge on the early life history and recruitment dynamics of this species, and help managers to implement conservation methods.

Key words : amphidromous, *Sicyopterus lagocephalus*, otolith daily growth increment, Sr/Ca ratio, early life history



目錄

謝辭	i
中文摘要	ii
Abstract.....	iii
目錄	v
一、前言	1
1. 兩棲洄游型魚類的生活史特徵	1
2. 台灣產鰕虎科魚類的種類、習性及棲息環境	1
3. 寬頰瓢鰭鰕虎的外部型態及生活史概述	2
4. 魚類初期生活史研究的重要性	4
5. 耳石在魚類初期生活史研究上的應用	5
6. 寬頰瓢鰭鰕虎生活史研究的回顧	8
7. 寬頰瓢鰭鰕虎研究的問題點	9
8. 研究目的	10
二、材料與方法	11
1. 採樣設計	11
2. 魚體長與色素發育階段測量	12
3. 耳石樣本製備	12
4. 耳石型態及微細結構觀測	14
5. 耳石微量元素測定	15
6. 孵化日及產卵期回推	16
7. 個體海洋浮游期長短校正	16
8. 資料分析	17
三、結果	18
1. 仔魚加入動態	18
2. 體長及色素發育階段之變化	19

3. 耳石構造.....	20
4. 耳石成長.....	21
5. 體成長的變化.....	23
6. 產卵日回推.....	24
7. 耳石微化學.....	24
8. 海洋浮游期(PLD)長短的時空變化.....	26
四、討論.....	27
1. 仔稚魚個體發生學的變化與耳石變態輪形成之關係.....	27
2. 變態輪與耳石最大成長軸轉換的生物意義.....	28
3. 耳石 Sr/Ca 比變化與棲息環境轉換之關係.....	29
4. 全年產卵的意義及其生活史策略.....	30
5. 從耳石日成長率的變化推測寬頰瓢鰭鰕虎的成長模式.....	32
6. PLD 長短與寬頰瓢鰭鰕虎仔魚擴散範圍之關係.....	33
7. 仔魚加入期、體長及體成長率.....	37
8. 寬頰瓢鰭鰕虎的上溯行為之探討.....	39
9. 未來展望.....	39
五、結論.....	42
六、參考文獻.....	43
圖.....	64
表.....	93

一、前言

1. 兩棲洄游型魚類的生活史特徵

魚類於生活史中某一時期或特定季節，行一定方向移動之行為稱為洄游(migration)。在河海之間洄游者稱之為兩側洄游型(diadromy)，又可細分為(1)溯河洄游型(anadromy)，例如鮭魚在海洋環境中生長，進而溯河產卵；(2)降海洄游型(catadromy)，例如淡水鰻在河川中生長，而後洄游到深海產卵；和(3)兩棲洄游型(amphidromy)鰕虎類，在淡水與海水之間洄游，且其洄游目的不僅是為了生殖。

Myers (1949)對兩棲洄游型魚類下了明確的定義：(1)在淡水中生長、產卵，哺育孵化；(2)孵化之後的數天內，隨著水流移動到河口，進入海水環境；(3)仔魚在海裡攝食、成長一段時間，視魚種而定，仔魚期可從數星期至長達半年；(4)到了後期仔魚即進入河口，變態成稚魚階段同時往上溯河；(5)在河川中繼續成長至成熟產卵，完成整個生活史；(6)有些種類會遷移至下游或較低河段產卵(Herre, 1953 ; Ego, 1956 ; Kido and Heacock, 1991 ; Iguchi et al., 1998)，但成魚不會再洄游到海洋。兩棲洄游型魚種廣泛分布於熱帶與亞熱帶的島嶼地區，目前所知的種類至少 50 多種類以上，包括香魚科(Plecoglossidae)，南乳魚科(Galaxiidae)，鞘脬鮭科(Prototroctidae)，塘鱧科(Eleotridae)，以及本研究著重探討的鰕虎科(Gobiidae)等(McDowall, 1988)。但我們對其生活史所知仍相當有限。

2. 台灣產鰕虎科魚類的種類、習性及棲息環境

台灣位處熱帶-亞熱帶交界，沒有溫帶地區常見的溯河洄游型魚類，卻有類似鮭魚的上溯洄游型鰕虎魚類，但兩者洄游方式及目的則完全不同。以台灣東部秀姑巒溪為例，每年春季，在出海口附近可看到成群往上游移動的鰕虎魚，在河道兩側形成明顯的黑色帶狀魚群等上溯盛況(蕭, 1998)，在魚群溯河的季節裡，這種特殊的洄游景觀亦為東部當地漁民帶來漁獲商機，當地漁民稱之為「溪裡的

魴仔魚」。

鰕虎科(Gobiidae)為現今海洋魚類中，數量最為龐大的一科，多達2000餘種，也是台灣溪流魚類中最主要的優勢種。其中最常見的有兩屬：即吻鰕虎屬(*Rhinogobius* Gill, 1859)及瓢鰕虎屬(*Sicyopterus* Gill, 1860)。此兩屬魚類體型小，過去並未受到重視，近年來其成群溯河的仔稚魚則受到海產店的青睞，而且已蔚為地方的觀光資源。因此，其生活史及族群遺傳等保育方面的研究逐漸受到重視(沈, 1997; Tzeng et al., 1998; 朱, 2001; 林, 2009)。

鰕虎科魚類在仔魚期為浮游性的群聚魚類(ichthyoplankton)，其族群的擴散與當地的洋流系統有著密不可分的關係(Lobel and Robinson, 1986, 1988)。台灣東岸受到黑潮(Kuroshio)的影響。黑潮因含較少浮游植物等懸浮物，光穿透之後呈現深藍近乎黑色而得名。黑潮的發源地在菲律賓呂宋島東方，為北赤道洋流(North Equatorial Current)的續流。當黑潮主流流經台灣東部時，其分支由巴士海峽進入台灣海峽，另一支為主流，延著臺灣東岸北上，途經綠島及蘭嶼，至北緯26°因地形轉向東北，往日本流去。主流約一百公里寬，由南往北，流向穩定，流速相當的快，可提供洄游性魚類一個快速便捷的分散路徑，同時也提供兩棲洄游型鰕虎魚在漂浮期的擴散載體。

3. 寬頰瓢鰕虎的外部型態及生活史概述

寬頰瓢鰕虎(*Sicyopterus lagocephalus*)(Fig.1)，在分類上屬於硬骨魚綱(Osteichthyes)，鱸形目(Perciformes)，鰕虎亞目(Gobioidei)，鰕虎科(Gobiidae)，瓢鰕虎亞科(Sicydiinae)，瓢鰕虎屬(*Sicyopterus*)，本屬在世界記錄有24種(伍等, 1999)。在台灣正式記錄有寬頰瓢鰕虎和近緣種日本瓢鰕虎(*Sicyopterus japonicus*)(曾, 1986a; 中坊, 1993; 陳及方, 1999)。體型上，成魚體延長，前半部呈圓筒狀，後半部漸側扁。頭部前端圓鈍，兩眼距頗寬，眼下具一黑色紋，除頂部披小型櫛鱗外，其餘皆無鱗。口下位，呈馬蹄型，且上唇較下唇突出，下頷具

V 型齒列。體腹面具一癒合的腹鰭，形成有力的吸盤(sucker)，用來攀附於石頭的表面，抵抗水流並方便進食。第一背鰭有六根硬棘，其中第三棘條延長，平放時甚可超過第二背鰭前端點，第二背鰭有 11 根鰭條，與臀鰭相當，胸鰭則有 19~20 根鰭條。雌雄的外形及體色有別，雄魚體色與雌魚相去甚遠，前者呈褐或青色，成魚體側有藍黑色金屬光澤，據筆者野地觀察發現，其體背有 7~8 塊黑色塊橫排，其餘部分呈青色或淡橙色，各鰭呈褐色、鰭頂端為黃色，尾鰭則為顯眼的橘黃色，外緣具黑色馬蹄型條紋，有些個體還具明顯的黑色縱線；後者則是具黃色體側，各鰭呈黃色且頂端皆有黑色縱帶，第二背鰭鰭條間有黑色斑點，尾鰭為金黃色，亦具黑褐色馬蹄型花紋。

在台灣，漁民因其底棲的特性而稱之為「石貼仔」，或藉頭部較寬大平坦且少鱗等特徵稱為「和尚魚」、「禿頭鯊」，其他還有原住民語的「烏老」、英文俗名的「Bleeker」、法語的「Bichiques」、菲律賓的「Epon」等俗名。成魚體長介於 4-8 公分之間，最大個體達 10 公分。該魚種廣泛分布於印度太平洋及加勒比海中，熱帶及亞熱帶地區的島嶼，在台灣則可見於東部、南部、蘭嶼地區等溪流，例如在四重溪(Fang et al., 1999)及港口溪(曾, 1986b)等水質清澈且流速快的溪流中，另外就筆者瞭解，在蘭嶼東清溪也存在該族群。

寬頰瓢鰭鰕虎的生活史如 Fig.2 所示：成魚一般喜好棲息於水流湍急的區域中，每次約可產卵數百到數萬顆(Keith, 2003)，卵型為小球或梨形(Manacop, 1953; Yamasaki, 2005)，卵附著於石頭底部的表面上(Mizuno, 1960)，並由雄魚經 2-3 天的護卵後孵化，此階段仔魚(larvae)不具游泳能力，順著水流漂往河口，進入海洋成為浮游性魚類群聚(ichthyoplankton community) (Radtke et al., 1988)。在經歷一段時間的海洋浮游期(pelagic larval duration, PLD)生活之後，會回到河口環境，經變態(metamorphosis)並成群往河川上溯(Keith et al., 2005; Berrebi et al., 2006)。溯河行為受到許多因子影響，其中與月週期的關係最為明顯，新月較滿月時溯河量高(Bell et al., 1995)，但究竟還有哪些因子會影響其加入動態(recruitment

dynamic)，目前仍所知有限。

4. 魚類初期生活史研究的重要性

魚類族群的大小，與仔稚魚時期的活存率有關，而活存率又與仔魚期的擴散行為有相當密切的關係。不論是表層性(pelagic)或底棲性(demersal)魚類，在初期生活史都會經歷一段浮游期的仔魚階段，以便擴大其生活空間，分散風險。此階段的幼魚由產卵場進入哺育地成長的成功比例都很低，死亡率高達 90%以上。由於仔稚魚的擴散及分布是一種被動洄游機制，受海流影響非常深刻(Hernandez-Miranda et al., 2003)。因此，海流和海洋氣候的變化及漂送地的餌料生物的多寡，甚至淡水注入、潮汐和沿岸流的變化，都可能影響仔魚的輸送及存活率(Blaber, 1980 ; Tzeng and Wang, 1993 ; Govoni and Pietrafesa, 1994)。此外，仔稚魚的加入行為(recruitment behavior)也扮演很重要的角色(Boehlert and Mundy, 1988 ; Cowen et al., 1993)。因此，瞭解魚類的初期的生活史中仔稚魚階段的加入過程，有助於魚類族群動態的解析及漁業資源的管理。

對於寬頰瓢鰭鰕虎成魚來說，較易在河川捕獲以供進一步研究，但對於在海面漂游或是剛加入河口的仔稚魚則較少研究。在國內，該魚種僅在溪流生物資源調查的文章出現，或進行型態分類及同屬魚種間的分子演化研究(朱, 2001)，對於該魚種的初期生活史研究則完全闕如。過去由於此類魚的仔稚魚體型小，很難直接觀察並追蹤其在初期的生活行為。傳統的標示方法，利用體外標籤、剪鰭或是晶片標識放流等方法大多用在追蹤成魚的行為，在仔稚魚的應用有實際操作上的困難。因此，仔魚在漂送過程中的行為一直停留在揣測階段。透過日齡結構的分析，可以清楚瞭解環境變化對初期生活史階段的魚類成長及活存率的影響，進而了解影響族群加入量變化的原因。目前大多利用魚類硬組織上的年齡資訊來作分析，這些組織包括骨骼(鰭條、脊椎骨、鰓蓋及鎖骨等)、鱗片及耳石。由於鱗片有容易脫落、再生以及老齡魚的鱗片會停止生長等問題，使得在測定上容易產

生誤判的情形。而耳石在魚體的內部，無此類問題，因此，對大部分的魚類而言，耳石是最可靠的年齡指標。耳石可顯示年週期以及幼魚的日週期律動現象，因而可以研究其初期生活史。近年來，由於魚類耳石分析技術的開發(Secor, 1992 ; Campana, 1999 ; Begg et al., 2005 ; Campana, 2005)，繼耳石微細結構等技術在仔稚魚的出生日、變態、仔稚魚漂浮期及河口加入日齡等初期生活史的研究之後(Pannella, 1971 ; Tzeng, 1990 ; Cheng and Tzeng, 1996 ; Shen and Tzeng, 2002 ; Meisfjord et al., 2006)，耳石上的微化學，能記錄魚類初期生活史階段的洄游環境訊息(Tzeng and Tsai, 1994 ; Severin et al., 1995 ; Turan, 2006 ; Rutten berg and Warner, 2006)，再度開啟魚類初期生活史研究的新契機。因此，本研究希望藉由魚類的耳石微細結構及微化學的分析技術，來瞭解寬頰瓢鰭鰕虎仔稚魚的初期生活史及洄游環境。

5. 耳石在魚類初期生活史研究上的應用

耳石(otolith)是硬骨魚類特有的硬組織，利用其成長速率的季節及日周變化所形成的年齡及日齡，來判定魚類年齡大小以及利用耳石上沉積的化學元素來回推其洄游環境。魚類內耳(inner ear)的迷路膜質系統(membranous labyrinth system)為三個互相垂直的半規管組成，分別是橢圓囊(Utr, utriculus vestibule)、球囊(Sac, sacculus vestibule)和壺囊(Lag, lagena vestibule)，在充滿淋巴液的內部，有三對相呼應的耳石—礫石(lapillus)、矢狀石(sagitta)和星狀石(asteriscus) (Secor et al., 1992)，當中以矢狀石最大，在生態應用上也較為常用。魚體在接觸到外界的運動和聲波等因素造成不同程度的震動，會使耳石給感覺毛細胞(hair cell)不同的壓力，產生聽覺及平衡的作用(Jennings et al., 2001 ; Mori et al., 2001)。耳石的增大是一種非細胞性的結晶形成之添加成長(Accretionary growth)所造成的結果，跟細胞分裂的體成長機制不同(Simkiss, 1974)。也就是說，耳石的沉澱作用具規律性，且會隨著魚體成長逐漸變大。Hunt (1992)敘述到，耳石的大小與魚體的大小(包括體長、

體重等)之間呈現明顯的正相關性。也就是說，測量耳石的年(日)輪形成時的半徑便能回推各個年(日)齡的魚體長大小。此外，耳石與魚體長的回歸關係，因種或棲息環境不同而有所差異，因此也可用來判定不同種群及其生活史策略(Campana, 1990)。

5.1 耳石微細結構

Pannella (1971)在溫帶魚類的耳石中觀察到日週輪的結構後，魚類的年齡測定便可精確到以日為單位。而這樣的發現為研究魚類的日齡(Campana & Neilson, 1985)、生活史階段變化(Campana, 1984)、初期成長率(Volk et al., 1984)、加入量和死亡率(Healey, 1982)等等魚類初期生活史及生態方面的研究，開創了一個新的里程碑。魚類耳石的沉積受到生理因子與環境變化的影響而有不同，例如一天24小時週期性的日夜現象，便會形成可供辨識的日週輪，每個日週輪都依透光度及成分不同而分成兩個部分：(1)魚類在活動時新陳代謝速率增快，耳石增長的速率也隨著增快，大量的碳酸鈣沉積在耳石上所構成的明帶(light band)或稱為成長帶(incremental zone)；(2)相反的，魚類在休息時新陳代謝速率下降，耳石增長的速度降低，有機質沉澱量增加，形成暗帶(dark band)或稱不連續帶(discontinuous zone)，這樣一明一暗交替形成的時間大約是一天，故稱為日週輪，且一天形成一輪的週期性在常態環境下不會改變(Pannella, 1971)。

除了日週輪外，有些魚類在發育過程中若外在因素改變時，會在耳石上留下較深的輪紋，例如變態輪(metamorphosis check) (Victor, 1986 ; Cheng and Tzeng, 1996)。在魚類的發育階段發生變化時會出現這種記號，例如珊瑚礁魚類由浮游期仔魚進入底棲性生活的過程中會出現變態輪。或者像鰻魚孵化後柳葉魚期(leptocephalus)，體型側扁，適合洋流漂送，等到進入沿岸大陸棚時，開始變態為玻璃鰻，此時體型轉變且主動游泳能力增加，此生理的轉變在耳石上留下變態輪記號(Cheng and Tzeng, 1996)。Shen and Tzeng (2002)對日本瓢鰭鰕虎(*Sicyopterus japonicus*)的仔稚魚進行研究，發現該魚種在由海洋進入溪流的過程

中，經歷明顯的型態變化以利適應溪流的生活，最明顯的變化包括口的位置由前端位(*terminal*)轉變為次端位(*inferior*)，上顎結構也變得較發達以便刮食岩石表面的藻類，這一系列型態變化的過程中，也在耳石上形成一蛋白質含量較高的輪紋，反映變態過程中旺盛的生理作用。

5.2 耳石微化學

耳石為碳酸鈣(CaCO_3)與有機基質交互作用形成的生物礦化結晶(Carlstorm, 1963; Morales-Nin, 1987; Saito and Yamada, 1989; Zhang, 1992)。耳石於胚胎時期就開始形成(Degens et al., 1969)。耳石中的元素主要來自於外在水體環境，這些元素藉由鰓或是消化道的吸收，透過血液的傳輸由耳石囊壁細胞進入內淋巴系統，最後才沉積在耳石上。耳石主要成分是構成碳酸鈣的鈣(Ca)、氧(O)、和碳(C)。另外還有各類微量元素如鋇(Sr)、鋇(Ba)、錳(Mn)、銅(Cu)、鉻(Cr)等，這些微量元素合起來還不到總量的 1%，卻提供許多環境訊息(Campana, 1999)。例如：鋇和鈣同為二價的金屬元素，且離子半徑相似，使得鋇很容易競爭並取代鈣沉積在耳石中。隨著水體中的鋇濃度升高，沉積在耳石上而被偵測到的鋇就變多，而在海水環境中，鋇的濃度為 $8.7 \times 10^{-5} \text{M}$ ，在淡水中為 $9 \times 10^{-7} \text{M}$ ，相差約 100 倍(Campana, 1999)，透過耳石中的鋇鈣比(Sr/Ca ratio)，便可對應至外在環境的鹽度關係(Secor et al., 1995; Tzeng, 1996)，若配合生活史時間軸與環境因子，即能重建個體的洄游環境史。因此，耳石微化學廣泛運用於洄游性魚類的淡、海水洄游環境研究，如降海洄游型的鰻魚(Casselman, 1982; Tzeng, 1996; Tzeng et al., 1997, 2005)，溯河洄游型的鮭鱒類(Kalish, 1990)、鱸魚(Secor, 1992)，及兩棲洄游型的鰕虎魚(Radtke et al., 1996; Shen et al., 1998; Shen and Tzeng, 2002; Keith, 2003; Maeda and Tachihara, 2005; Yamasaki and Tachihara, 2006; Hoareau et al., 2007; Lord et al., 2009)。在本研究中，將透過耳石的微細結構和微化學中鋇鈣比的時序列變化，來重建寬頰瓢鰕虎從孵化之後，歷經海洋浮游期，以至溯至河川為止，其初期生活史階段的洄游環境史。

6. 寬頰瓢鰭鰕虎生活史研究的回顧

寬頰瓢鰭鰕虎生活史的最早研究是 Manacop (1953)對分布於菲律賓的該種魚產卵行為作一描述。將近 40 年後，才有法國學者對非洲東岸的法屬留尼旺島上的該種魚資源進行調查，發現每個月皆有仔稚魚加入河口，且於 12 月達到高峰(Delacroix, 1992)。而後有研究利用分子遺傳技術探討其種內多樣性(Berrebi, 2005 ; Keith, 2005 ; Hoareau, 2007a)。Hoareau et al. (2007b)利用耳石上的日週輪，分析留尼旺島的寬頰瓢鰭鰕虎仔稚魚的海洋漂浮期(PLD)約 133-266 天，為瓢鰭鰕虎屬(*Sicyopterus*)中海洋漂浮期最長的魚種。推測與其廣泛的擴散範圍有關(超過 18000 公里)，並與僅分布於該島上的特有種鰕虎比較(78-150 days for *Cotylopus acutipinnis*)，顯示海洋浮游期因種而異，並提出了海洋浮游期的長短與該魚種分布範圍呈正比的假設。也就是說，若分布範圍廣，則其仔魚在海上漂浮的時間也較長，且仔稚魚的擴散距離與海流系統有很大關係。Lord et al. (2009)也證明此論點，該文比較在澳洲東北方的萬那杜島和新喀里多尼亞島上兩種當地鰕虎的 PLD 長短(131 ± 3.4 days for *S. lagocephalus*, 79.2 ± 4.6 days for *S. aiensis*, 76.5 ± 3.9 days for *S. sarasini*)。另外，Keith et al. (2008)將上溯中的寬頰瓢鰭鰕虎仔稚魚依照外部型態，區分成五個主要的時期(Post-larval stages 1 and 2, Juvenile stages 1 and 2, Adult stage)，這些階段的仔稚魚經歷了一連串的外型變化，稱為變態(metamorphosis)。最主要的變化就是口部由嗜食浮游生物的前端位(terminal)，在進入溪流後，會轉變成行水底刮食藻類的次端位(inferior)，以及尾部形狀由適合在表層洄游的叉型尾(fork-shape)變成在底棲魚類中常見的圓形尾(round-shape)。另外，Valade et al. (2009)也發現該魚種仔魚在孵化後，必須在 2-4 天內進入海水，才能進一步生長，否則不論在何種孵化環境，其死亡率皆達 100%。

總歸而言，過去的研究多半著重於以分子遺傳技術探討其種內多樣性，或利用其海洋浮游期較長的特性，與其他種作比較，來解釋鰕虎魚種的分布擴散機制，

且研究範圍多侷限在印度洋及澳洲東邊的小島。然而在完全不同海流系統上的臺灣，目前僅有少數文章，針對台灣產瓢鰭鰕虎屬之型態及 mtDNA 分子演化上的分類加以研究(朱, 2001)，對於該魚種不論是初期生活史特徵及加入過程中的所知都還停留在基礎階段，因此，建立該魚種基礎生態資料及相關的生態是相當迫切的。

7. 寬頰瓢鰭鰕虎研究的問題點

近年來，大量上溯中的寬頰瓢鰭鰕虎仔稚魚，已然成為印度-太平洋一帶群島上居民的主要捕獲對象及食物來源(Reunion Island, Vanuatu, French Polynesia, Philippines, etc) (Manacop, 1953 ; Bell, 1999 ; Keith et al., 2006)。這種情況在留尼旺島上，更是明顯。而在萬那杜共和國中，亦將該種成魚視為桌上佳餚，成為主要的捕獲對象(Hoareau et al., 2007)。但是同樣此物種，卻因數量稀少，日本在 2003 年將其列為 I 級瀕臨絕種的淡水魚類(日本環境省自然環境局野生生物課, 2003)。而數量較少的原因，可能是氣候關係，該魚種主要分布於熱帶-亞熱帶，日本是牠們分佈最北限，島上的四季水均溫相差很多，可能導致習慣較高水溫的該魚種無法完全適應當地環境，故數量不多。而台灣橫跨熱帶與亞熱帶，數量上應介於中間，但截至目前為止，並無類似調查可供比對。另外，這種魚的洄游習性特殊，我們對於牠們的生活史及相關的水文環境因子，特別是這種魚在海洋及上溯的過程的生態習性所知有限(Bell et al., 1995 ; Shen et al., 1998 ; Radtke et al., 2001 ; Hoareau et al., 2007)。

近年來由於溪流及沿岸海域的汙染及過度開發，導致適合兩棲洄游型魚類的生活棲地逐漸減少。例如夏威夷或菲律賓等地的鰕虎魚之族群量都有減少趨勢，甚至有些種類已瀕臨絕種，如斯氏瓢鰭鰕虎(*Sicyopterus stimpsoni*)及同色裂唇鯊(*Lentipes concolor*)等(Deacon et al., 1979 ; Lindstrom, 1999)。這些現象使得魚類資源的保育日益重要。因此，必須先了解其完整的生活史，而仔稚魚的漂散及加入

河口等初期生活史是生活史中最關鍵的部分。有鑑於此，我們有必要研究該魚種在海洋浮游與加入河口的特性及行為，以供往後制定物種保育和棲地保護策略及管理之參考。

8. 研究目的

本研究擬利用耳石的微細結構及微化學分析，配合外部型態測定，來探討兩棲洄游型寬頰瓢鰭鰕虎初期生活史的各项參數。包括：

- (1)在秀姑巒溪河口的加入時期、體長和日齡的季節性變化特徵，以及加入過程中外部型態、耳石型態變化與環境的對應關係。
- (2)利用耳石日週輪等微細構造來推算產卵日及估算其初期成長率，同時比較臺灣東部不同河口間的海洋浮游期長短。
- (3)使用耳石微化學的鋁鈣比分析推估該種魚從孵化至加入淡水時的洄游環境史，以及溯河過程中的變態過程細節。

期望本研究在寬頰瓢鰭鰕虎初期生活史的探討，能對其棲地和魚種保育政策的制訂及管理提供基礎生態資料。

二、材料與方法

1. 採樣設計

秀姑巒溪(Hsiukuluan River) 發源於花蓮與台東兩縣之間的崙天山南側，為台灣東部第一大河川，整個河系總長約 104 公里，流域面積廣達 1790.46 平方公里，平均坡度為 1:34。秀姑巒溪上游原為向東流，因受阻於海岸山脈，轉而沿花東縱谷向北流，匯集各支流後在瑞穗鄉往東，經過海岸山脈後，進入太平洋。是台灣唯一一條切過海岸山脈的溪流。過去在秀姑巒溪及該河系所進行的長期仔稚魚種類組成調查，發現當地的優勢種主要為日本禿頭鯊和大吻鰕虎，佔了總數的 99%左右，對當地基礎生態生物學資料的建立有一定貢獻(曾, 1986b, 1996, 1997)。該河系由於水量充沛，全年皆有穩定水源注入海洋，沒有斷流等情形，影響鰕虎族群上溯。因此選擇秀姑巒溪進行寬頰瓢鰕虎的初期生活及史加入動態研究。

本研究在秀姑巒溪的採集點如 Fig.3b 所示，樣本是於 2008 年 9 月至 2009 年 11 月，由漁民於秀姑巒溪的出海口處以三角網(Triangle net)所捕獲，此方法為主動撈取剛加入河口的仔魚。採集時間選在清晨，網口面向海，一手持撈網，另一手握住網側長竿，涉水至河口附近流速較緩的淺灘，斜插入水至底部，以網目盛接往河口衝過來的海浪，待浪沖力稍減時，將網上所撈取的物體抖入後方魚網末端的小袋中，達一定重量時上岸檢查漁獲物，每次一人操作，約 30 分鐘。同時，每個月在河口往上兩公里處(距長虹橋約 500 公尺)的河道旁架設陷阱網(Trap net)一次，以捕捉上溯中的仔稚魚，此方法偏向為被動性捕魚法，若魚苗沒有上溯行為則不會捕獲。陷阱網捉魚的原理及過程如下：先利用挖掘工具將河道旁的砂石挖開，另闢成一條小型水道，此道緊臨且開口面對著主流道，由於仔稚魚傾向利用流速不會過快的區域上溯，而主流流速過快，引誘部分魚苗游至人工挖掘的誘魚道內，此河道長 20m，寬為 1.4m，水深為 25cm，流速約在 0.5m/sec，與

當地主流的流速(>1m/sec)相差許多。而陷阱網體本身則架設在較頂端的位置，待魚苗上溯至該處，便會掉入所設好的網袋內，該網袋上方另加裝網蓋以免捕獲物攀爬逃逸。陷阱網架設兩天一夜(如該日上午 7 時 40 分至隔日上午 7 時 40 分)，期間每四個小時檢查漁獲物種類及數量，同時測量當地水質因子，包括濁度、pH 值、導電度、流速、溶氧量、水深及水溫等。由於每個月所採的標本數量差異過大，或某些月份個體數過少，因此本研究以季節為單位來分析資料，如 2009 年 3-5 月歸於 2009 年春季，以此類推。採集時間共有五個季節：2008 年秋季、冬季及 2009 年春季、夏季及秋季(其中包含 2008 及 2009 兩年間的秋季以作對照)。除此之外，分別於 2008 年 4 月 25 日至宜蘭南澳的海產店，購買漁民於河口捕捉到甫加入的個體、以及 2010 年 9 月 12 日在蘭嶼的東清溪下游，以手抄網採得已經溯河的寬頰瓢鰭鰕虎成體(Fig.3a)，並實地觀察成魚的行為。

實驗期間總共捕獲 157 尾個體，其中全數用來探討並區分個體發育階段，隨機挑選 101 尾個體進行耳石微細結構及微化學等分析。本研究各次採集所得以及用於分析之個體數如 Table 1.所示。

2. 魚體長與色素發育階段測量

捕捉到的個體計數後立即冰藏包存，而後運回實驗室進行外部型態測量，以電動游標尺測量魚體的全長(TL, total length)，精確度至 0.1mm；成魚方面，另以電子秤測量體重(BW, body weight)，精確度至 0.01g。而後將個體置於解剖顯微鏡(SMZ-10, Nikon)下觀察外部體表色素發育情況，依據 Keith et al. (2008)將寬頰瓢鰭鰕虎的色素發育階段區分之，可明顯分為五個發育階段：後期仔魚第一期(PL1, post-larval stage 1)、第二期(PL2)；稚魚第一期(J1, juvenile stage 1)、第二期(J2)；及成魚期(A, adult stage)，即完成外部型態觀察。

3. 耳石樣本製備

個體置於解剖顯微鏡下放大 10 至 40 倍，每個發育階段的魚隻各取數尾拍照，

在本實驗中，左右兩邊耳石分別用於不同分析。接著按照以下程序置備耳石樣本：

(1) 摘取：以手術刀將魚體頭蓋骨切開，摘除大腦後便可見魚耳內的耳石，再使用毛細玻璃管將耳石輕輕取下，應盡量避免使用金屬探針，以免影響耳石的微化學分析結果。

(2) 清洗：將其中最大的矢狀石(Sagitta, 以下稱為耳石)取出，以鑷子除去表面附著組織，加入二次水(dd H₂O)，並使用超音波震盪器約 3~5 分鐘去除周圍結締組織，取出耳石再次於解剖顯微鏡下觀察確認後，放入乾燥的離心管(Eppendorff)內，置於烘箱烘乾 24 小時以上，完成動作後進入包埋程序。

(3) 包埋：取出乾燥後的耳石樣本，將耳石凹面處，亦即內側面(Internal face)朝下置放包埋模具中。另以 5 : 0.7 比例調製環氧樹脂(Epofix Resin, Struers)及硬化劑(Epofix Hardener)混合液，輕輕攪拌避免產生氣泡，以垂直方式滴入包埋模具中，直至淹沒耳石為止，置於顯微鏡下觀察，將耳石翻轉確認去除表面殘存氣泡，包埋著耳石的模具靜置一兩天使樹脂硬化，或可放入 80°C 烤箱中烘烤 40 至 60 分鐘，待硬化成型後，耳石便包埋成功。

(4) 切割：將包埋過的耳石自包埋模具中取出，置於慢速切割機(Isomet low speed saw, Buehler)上，將樹脂中耳石所在的區域露出，並割除不需要的區域，切成適當大小即可。

(5) 研磨：樣品利用平置轉盤式研磨機(Metaserv grinder-polisher, Buehler)以 2000 後之砂紙加水沿縱切面(sagitta plane)作初步研磨，再以 2400 號的砂紙細磨，同時在光學顯微鏡下以表面光(reflect light)和穿透光(transmitted light)交互觀察研磨的程度，至耳石中心點(primordium)附近，利用絨布(polishing cloths, Buehler)加上 0.05μm 的氧化鋁粉(Al₂O₃)將表面拋光，過程持續至表面光下看到耳石表面出現核心黑點為止，最後以絨布加水磨，去除切面上的雜質後完成。

4. 耳石型態及微細結構觀測

4.1 耳石外型

耳石包埋前先置於光學顯微鏡(Optiphot, Nikon)下拍照，在同倍率下拍比例尺(scale bar)，精確度達 0.01mm，接著利用影像處理軟體(ImageJ Launcher)，測量耳石長度(OL, otolith length 以下稱為耳石長)，本研究以耳石最大軸，也就是輪寬變化較明顯的前後軸(anterior – posterior axis)為計數日週輪及測量耳石長的基準線，同時觀察耳石外形與仔稚魚發育階段之關係。並將測得的耳石長與魚體體長作圖後，利用直線迴歸式估算兩者間的關係。另外，本研究於包埋耳石時皆以內側面朝下，可避免耳石滾動難以固定，實驗期間另將數樣本以外側面朝下包埋，發現核心初現於表面時，邊緣部分還未磨到，會影響讀輪及微化學分析結果，初步推斷耳石核心可能在較偏內側面的位置。

4.2 日週輪假設

本研究在耳石輪紋一天形成一輪的前提下進行日齡的計數。這個假設是根據：(1) Pannella (1971)提出硬骨魚類的耳石中，最小的輪紋單位為日週輪(daily increments)。(2)兩側洄游型鰕虎魚 *Stenogobius genivittatus* 已證明有耳石日週輪存在(Radtke et al., 1988)；而同屬於瓢鰕鰕虎亞科(Sicydiinae)的黑鰕枝牙鰕虎 *Stiphodon percnopterygionus*，透過人工蓄養驗證耳石日週輪成立(Yamasaki et al., 2007)。(3) 寬頰瓢鰕鰕虎(本實驗魚種)的日週輪驗證，已由 Hoareau et al. (2007)發表的文章中證實，該研究利用茜素(ALC, alizarin complexone)溶液浸泡魚體，使之滲透魚體後沉積在耳石上形成一個螢光環作為訊號，移至其他缸中飼養數天後，檢查耳石上的輪數，發現與飼養天數相符。綜合以上結果，本實驗認為本魚種的耳石日週輪可代表其日齡。

4.3 日週輪計數及初期成長率計算

研磨完成的耳石樣本以 5% EDTA (Ethylene diamine tetracetate)腐蝕 60–120 秒，使耳石上的明暗帶變成凹凸面，增強日週輪的效果以便計數，而後置於光學

顯微鏡放大 400 – 1000 倍下拍照後觀測日週輪數。其中部分標本以真空鍍金 (coating)處理後，利用掃描式電子顯微鏡(FEI-SEM, scanning electronic microscopy, Tatung)分別放大 600、1200、2000 倍，檢視耳石的微細結構及判讀日輪，藉此與光學顯微鏡的日週輪判讀結果作比較。

日週輪的計算，是先將拍下的耳石照以接圖軟體(autostitch)拼接，再以影像處理軟體(photoimpact X3)增強明暗對比，在電腦下判讀日週輪輪數並佐以計數器計數。此外，為求估算日齡的準確性，本實驗中每個樣本都經過重覆判讀至少兩次以上，由同一判讀者一天內計數兩次(包括核心至邊緣、邊緣至核心兩個不同方向)，結束兩個禮拜後再隨機取樣進行第三次日週輪計數，若判讀結果誤差大於 10 輪以上，則再次腐蝕作處理或捨棄不用，其餘的樣本則作一平均為最終值。將測站 1 的個體長與日齡加入以下方程式推估初期的體成長率：

體成長率(Growth rate, mm/d) = (體長 - 1.1) / 日輪數，式中的 1.1mm 為寬頰瓢鰭鰕虎仔魚孵化時的體長(Manacop, 1953)。

同時，對電子顯微處理的部份樣本，計算自核心至邊緣內每十輪的距離，除以十取平均輪寬，以推算耳石的成長率。

4.4 變態輪判別

魚類一般在經歷生理上的轉變，如從浮游型態轉變為底棲型態時，外表及體型皆會出現明顯的差異，此轉變過程會在耳石上留下變態輪(MC, metamorphosis check)。本實驗由耳石微細結構、輪紋形態、以及微量元素之分析，發現此點的 Sr/Ca 比值由高點急速下降，該位置定義為變態輪。

5. 耳石微量元素測定

耳石微量元素的測定以秀姑巒溪所採的樣本為主，在兩測站的各個季節間隨機選取不等的耳石樣本來測定。耳石中的元素僅測鋇(Sr)和鈣(Ca)兩種。確認乾燥後的耳石樣本以碳膠固定在樣本台上，並以鍍碳儀(SPI Modle carbon coater,

SPI Supplies Division of Structure Probe)，在高真空(10^{-5} - 10^{-6} torr)狀態下，鍍上一層約 500Å 的碳膜，以增加樣本導電性。製備好的樣本，送入電子微探儀(EPMA, Electron Probe Microanalyzer, JEOL JXA-8900R)進行分析，設定在加速電壓 15KV、電流強度 10nA、及長方形電子束 $5 \times 4 \mu\text{m}$ 的條件下，以穿越線連續打點的方式，選擇耳石切面上的最大軸從核心至邊緣作定點測量，每一點連續測定 5 次，每次 10 秒。分別以 CaCO_3 和 $(\text{Sr}0.95\text{Ca}0.05)\text{CO}_3$ 之標準試片檢量，分析其化學成分之重量百分比(weight percentage, wt%)。儀器所偵測到的 X-ray 為 Sr 之 LaX-ray 和 Ca 之 $\text{K}\alpha \text{ X-ray}$ ，X-ray 強度經 ZAF 程式(Criss and Birks, 1966)校正後，與標準樣本之已知值比較，即可求出標本中 SrO 和 CaO 的重量百分比，再由氧化物中的原子量比求出耳石中的 Sr 和 Ca 的重量百分比，最後將 Sr 的重量百分比除以 Ca 的重量百分比便可得到耳石上每個測量點的鋇鈣比(Sr/Ca ratios)。由於電子束撞擊後的耳石表面會留下痕跡，因此容易用來比對 Sr/Ca 比變化與耳石微細結構，特別是變態輪位置之確認。

6. 孵化日及產卵期回推

孵化日是由採集魚隻的日期，減去該個體的日齡後求得。Keith et al. (2003) 提到瓢鰭鰕虎亞科魚種的孵化時間，多在 24-70 小時之間，而寬頰瓢鰭鰕虎的受精卵孵化時間在人工環境下約須 1-2 天左右(Delacroix et al., 1992)，產卵時間實際上非常接近孵化時間。在本研究中並沒有修正這些數據，由採樣日期往前回推孵化日時，同時代表了產卵時間，為求精準，以月份或季節作描述。

7. 個體海洋浮游期長短校正

兩棲洄游型鰕虎魚類的 PLD 長短，是指在海洋裡過著群聚性浮游生活，直至再次回到淡水環境之間的仔魚期。因此在估算海洋浮游期時，應先行考慮仔魚孵化後順水流漂到有鹽度水體的天數。估計寬頰瓢鰭鰕虎仔魚自孵化到接觸海水

之間約 72 小時(Delacroix et al., 1992 ; Bell and Brown, 1995)，而人工孵化實驗更進一步指出，該階段仔魚在淡水環境中的最大存活時間為 4 天，也就是說，仔稚魚的加入日齡與該魚隻的 PLD 僅差約 3-4 天的時間，本實驗在計數 PLD 上將此忽略，以加入日齡來代表海洋浮游期長短。另一方面，過去在計算鰕虎成魚的 PLD 上，是以耳石核心至變態輪(MC)中間的輪數表示(Lord et al., 2009)，但由另一篇文章中表示，在人工飼養下，該魚種的變態輪約在仔稚魚進入淡水環境 12 – 14 天(約兩個禮拜)後始形成(Keith et al., 2008)，因此本實驗合併上述兩者方法，以從核心至變態輪中間的輪數減去 14 天，來表示其 PLD 長短。

8. 資料分析

魚體長與耳石長、魚體長與日齡、耳石長與日齡、成魚體重與體長等資料，以簡單線性迴歸式 $Y = a + bX$ 表示，並以共變數分析(Analysis of covariance, ANCOVA)檢定兩測站間是否具差異，再以單向變方分析(One-way ANOVA)比較各季節間的差異，以及魚體長與各發育階段之間的關係。由於本實驗中，秀姑巒溪以外的採樣點所捕到的個體數及分析的樣本數(sample size)較少或相差過大，故採用無母數分析中的 Kruskal-Wallis test on ranks 法，以檢定各地點間的 PLD 長短之差異性，以及利用 Mann-Whitney test 進行兩地點間的個體長比較。以上分析方法，皆採用 Microsoft office 中的 Excel 2007 及統計軟體 Statistica 6.0 (StatSoft, Inc.) 運算。其顯著水準(significance level)為 $\alpha = 0.05$ 。

三、結果

1. 仔魚加入動態

1.1 仔魚加入期

2008-2009 年間每個季節於秀姑巒溪河口及下游段進行長期監測結果，顯示全年皆有寬頰瓢鰕虎加入河口及上溯(Fig.4)。由於委託漁民捕集，測站 1 每個月每人的採樣次數無法精確估算，因而無法計算 CPUE 來估算寬頰瓢鰕虎在秀姑巒溪的相對資源量。從採樣數量與水溫的時間對應關係圖來看，冬季平均水溫最低，約為 19.6 °C；春、秋季為 23.8 °C；而夏季最高，平均水溫為 28 °C。

1.2 溯河的日周變化及行為

以測站 2 為例，不論季節，其一天內的漁獲量變化顯示寬頰瓢鰕虎仔稚魚皆傾向於利用白天午後的時間上溯，而不選擇晚上(Fig.5)。上溯個體最多的時間區間集中於 11:40 - 15:40，約佔一天中捕獲量的 54.9%，而夜晚時段則未捕捉到任何個體，15:40 - 19:40 也僅捉到 1 隻，顯示出寬頰瓢鰕虎的溯河行為屬於日行性。經實地訪查亦得到相同結果，鰕虎魚苗在夜晚時會在岸邊緩流處休息，幾乎不作移動，白天時段則成群地向前溯河。

1.3 成魚日行性行為之觀察結果

本研究另於 2010 年 7 月 7 日及 9 月 12 日，天氣晴天，於蘭嶼東清溪進行一整天的水下行為觀察，該條溪源自於西北側的殺蛇山，西向東流，注入太平洋，全長 6km，月平均降雨量分別為 225.0 mm 及 394.2 mm，河口寬僅 5 m，水深約 20-50 cm，水溫平均 29.6 °C。結果發現由河口往上約 40 m 處便有寬頰瓢鰕虎的成魚出沒，持續往上游前進，至 420 m 時仍可見成魚分布，牠們多棲息於岸邊的水表或水底緩流處，以避開流速較快的區域，無明顯的群聚行為，常利用腹鰭及嘴部吸附於石頭表面上刮食藻類，利用尾部拍動並一鼓作氣跳到下一顆石頭上，以這樣方式在移動。寬頰瓢鰕虎在白天的活動情形相當頻繁，而當黃昏及晚上，

甚至是天氣轉陰時，便會躲在附近的石頭下，可見其活動行為的向光性。

2. 體長及色素發育階段之變化

2.1 魚體長的時空分布

秀姑巒溪所採的個體之體長頻度分布如 Fig.6 和 Table 2.所示。測站 1 的個體平均體長為 27.7 ± 2.1 mm (範圍 22.6 - 32.3 mm, $n = 95$)；測站 2 個體平均體長則為 29.1 ± 1.7 mm (範圍 26.9 - 32.1 mm, $n = 31$)，以 unpaired t test 檢定結果，發現兩測站間的個體長有顯著性差異($p < 0.05$)，表示個體到了河口之後確實有一面上溯一面成長的情形。另外，各季節間的平均體長無差異($p > 0.05$)，顯示寬頰瓢鰭鰕虎在一年內可能有多個相同體長的加入群。又，2009 年夏季於測站 2 捕獲一尾成魚，體長為 58.5mm，唯恐影響該季節的體長分布，故不列入體長檢定。另一方面，為了探討海洋浮游期，而在宜蘭南澳河口採得的仔稚魚，其平均體長為 29.8 ± 1.5 mm (範圍 27.5 - 31.9 mm, $n = 9$)、蘭嶼東清溪河口段採到的成魚，其平均體長為 47.6 ± 7.2 mm (範圍 39.1 - 63.2 mm, $n = 21$)。

2.2 外部型態及發育階段組成的站間變化

寬頰瓢鰭鰕虎由海洋進入淡水環境的過程中，其體型從浮游型轉變成底棲型，此外部型態的變化稱之為變態。Table 3.和 Fig.7 顯示五個發育階段的魚體外形圖。變態過程中最明顯的外形變化有：(1)頭頂色素斑的分佈增多：最初的 PL1 階段僅有數黑點分布，PL2 階段開始有塊狀色素斑，J1 階段的色素斑分布密集，到 J2 階段可明顯看出色素斑已覆蓋整個區域，與成魚類似；(2)口部形狀由前端位(*terminal*)明顯轉變至次端位(*inferior*)，頭部似乎跟隨著有變高的情形；(3)體側的色素斑自 PL1 階段有數個色素點排列，PL2 的個體出現線狀分布，而 J1 階段則帶有雲般的色素塊排列，J2 階段後體側色素斑幾近覆蓋全身，達 A 階段後體表色素斑有兩性分化，可區分雌雄；(4)尾部形狀則由叉型尾(*fork-shape*)逐漸改變為成魚的圓型尾(*round-shape*)。其中測站 1 以 PL1 期為主(93%)；測站 2 則以 J1

期為主(78%) (Fig.8)。

2.3 體長與色素發育階段變化之關係

寬頰瓢鰭鰕虎各發育階段的平均體長如 Table 4.所示。以 Kruskal-Wallis test 比較各階段的體長結果，發現 PL1 個體長顯著小於其他發育階段($p<0.05$) (Fig.9)，其餘三個發育階段之間則無差異($p>0.05$)，顯示出仔稚魚在變態過程中體成長有趨緩的現象。趨緩時間出現於 PL1-PL2 的轉換階段，也正是頭部結構產生劇烈變化的期間。

3. 耳石構造

3.1 外部型態

Fig.10 顯示寬頰瓢鰭鰕虎的耳石相對位置。圖中可見兩對耳石，較大的一對為矢狀石(sagitta)，其次為礫石(Lapillus)，星狀石(Asteriscus)最小。矢狀石的內外側清楚可分，內側面較為平坦微凹，有深溝(Sulcus acusticus)，外側面則為凸面，圖中可清楚看到耳石內-外側面的差別，其次為礫石。取下耳石後，將同側的三種耳石成行排列如 Fig.11 所示，明顯看出耳石的大小，本研究選擇最大的矢狀石進行接下來的分析。

Fig.12 是對應至各發育階段個體的耳石外觀，仔魚期(PL1 and PL2)時，耳石的形狀為橢圓形，成魚階段則逐漸變成長方形，前後端邊緣有鋸齒狀分布。發育過程中，耳石前後軸(Anterior-Posterior axis)成長速度最快，為最長軸，其次為背腹軸(Dorsal-Ventral axis)，最小的是內外軸(Proximal-Distal axis)，故接下來的微細結構及微化學分析皆以前後軸為準。

3.2 內部微細結構

耳石從內側面研磨後，可呈現前後軸及背腹軸的縱切面構造。腐蝕後在光學顯微鏡及掃描式電子顯微鏡下，分別觀察微細結構如 Fig.13 所示。寬頰瓢鰭鰕虎的耳石為單一核心(mono-primordium)，呈內凹狀結構，外圍為一圈一圈的日週輪

(daily growth increments, DGI)。日週輪由一個成長帶(incremental zone, IZ)及一個不連續帶(discontinuous zone, DZ)構成，光學顯微鏡下呈現明帶、暗帶交錯(Fig.14a)，電子顯微鏡下則呈現凹凸狀(Fig.14b)。另外，在 J2 階段的個體，可以清楚地看到耳石邊緣出現一圈明顯的黑色輪紋，配合 Sr/Ca 比值在此處的陡降，以及個體發育上的特徵，包括嘴部及尾形皆已符合底棲型態，顯示這個耳石的記號，應該是變態輪(metamorphosis check, MC)。此輪在光學顯微鏡下較不透光呈黑色帶狀(Fig.15a)，而在 SEM 下更加明顯，有凹陷的現象(Fig.15b)。變態輪在剛加入河口的後期仔魚耳石中並未發現，而在測站 2 的個體中，J2 階段及成魚耳石中皆可發現明顯的變態輪，J1 階段則僅有一隻存在該輪。顯示變態輪應是鰕虎進入溪流的過程中從 PL2 變成 J1 時才形成。此現象在探討寬頰瓢鰕虎的其他文獻中亦有記載(Keith et al., 2008)。

4. 耳石成長

4.1 耳石長與魚體長之關係

耳石長(OL, μm)和魚體全長(TL, mm)之間的直線相關式為：

$$\text{Station 1 : OL} = 17.35\text{TL} + 132.48 \dots(1)$$

$$(R^2 = 0.7143, n = 49)$$

$$\text{Station 2 : OL} = 17.11\text{TL} + 172.66 \dots(2)$$

$$(R^2 = 0.4876, n = 23)$$

經 ANCOVA 檢定結果，兩關係式間俱顯著差異($p < 0.05$) (Fig.16)。兩式之斜率無明顯差異，表示相同體長下，測站 2 的個體耳石長顯著大於測站 1 的個體。

4.2 耳石長與日齡之關係

耳石長(OL, μm)和日齡(Age, day)之間的關係式如下：

$$\text{Station 1 : OL} = 2.09\text{Age} + 369.82 \dots(4)$$

$$(R^2 = 0.6618, n = 49)$$

$$\text{Station 2 : OL} = 0.80\text{Age} + 544.91 \dots(5)$$

$$(R^2 = 0.3542, n = 23)$$

經 ANCOVA 檢定結果，兩關係式間無顯著差異($p>0.05$)，表示耳石的成長率無測站間的差異性存在。將兩測站樣本合併後計算，耳石長範圍 521-750 μm ，估算日齡範圍在 84-218 days 之間，直線迴歸關係式如下：

$$\text{OL} = 1.36\text{Age} + 454.64 \dots(6)$$

$$(R^2 = 0.6452, n = 72) (\text{Fig.17})$$

式中的斜率，即可代表耳石的日成長率，為 1.36 $\mu\text{m/day}$ 。

4.3 耳石的初期成長模式

從每個季節剛加入河口的仔魚中各隨機挑取 6 隻樣本，在耳石的 SEM 照片測量自核心到耳石邊緣，每 10 輪為一計數單位的平均輪寬之變化。Fig.18 所顯示的是不同季節的個體耳石輪寬變化，從核心處往外推，前 10 輪的平均輪寬較窄，約為 $1.35 \pm 0.53\mu\text{m}$ ，之後輪寬急遽增加，至 30 輪時達最高峰，平均輪寬為 $5.62 \pm 0.94\mu\text{m}$ ，在 40 輪之後輪寬逐漸變窄，下降至約 1 μm 左右持續至邊緣，亦即耳石邊緣輪寬皆為相當窄。將各季節的耳石樣本合併作圖(Fig.19)，由於每隻個體的日齡不同，此圖僅顯示前期 10 - 120 輪的成長情形。結果發現，寬頰瓢鰭鰕虎耳石的初期成長情形一致，呈現輪寬先昇後降的現象。以 ANOVA 檢定各季節間是否有差異，若有顯著再進一步以 Duncan's 法做兩兩比較，發現在第 20 輪的平均輪寬，2009 年春季個體顯著小於 2008 年春、秋兩季個體($p<0.05$)；而在 110 輪時，2008 年冬季顯著大於 2009 年春、夏季的個體($p<0.05$)，其餘輪數的平均輪寬在各季節間皆無顯著差異。顯示除了少數時間上有個體間的差異外，大體而言，在初期階段的耳石成長情形沒有季節性的差異存在。

4.4 變態輪形成的不對稱性及其前後的成長率變化

仔魚階段，耳石的最大成長軸在後端(posterior, P)，而變態之後的稚魚，其最大成長軸則轉換到其餘三端如 Fig.20 所示。變態前最大成長軸為後端(P)，平

均半徑為 $404.52 \pm 28.93 \mu\text{m}$ ，明顯大於前端(A)、腹端(V)、背端(D)三端的 $188.69 \pm 27.05 \mu\text{m}$ 、 $255.29 \pm 29.09 \mu\text{m}$ 及 $188.97 \pm 8.94 \mu\text{m}$ ($n = 6$)。但從 6 顆有變態輪的耳石樣本中，發現變態後的成長軸皆轉移到其餘三軸，爾後才漸漸包覆整顆耳石，Fig.20 上可以很明顯看出，P 端成長軸上無變態輪，而 A、V、D 三軸的變態輪外皆已出現日周輪，與未研磨前的耳石外形圖(Fig.12 - J2 and A stage)兩相比較後，應該不是研磨角度的人為因素所造成的實驗誤差。由此可見，耳石最大成長軸是隨著魚體變態而改變。為了避免損失變態輪的資訊，本研究分析日週輪時以穿越核心的最長軸之直徑為準，接下來的耳石 Sr/Ca 比時序列變化分析也將以此軸呈現。另外，發現在耳石變態輪前後的輪寬有些許變化(Fig.21)，距離變態輪最近的十輪平均輪寬為 $0.55 \pm 0.05 \mu\text{m}$ ，而變態輪後的前十輪平均輪寬為 $0.92 \pm 0.51 \mu\text{m}$ ($n = 3$)，有逐漸加寬的現象，可見個體變態時成長率會下降，變態後的成長率有回昇的現象。

5. 體成長的變化

5.1 加入體長、日齡與體成長率的季節性變化

寬頰瓢鰭鰕虎加入河口時的平均體長為 $27.7 \pm 2.1 \text{ mm}$ (範圍 22.6 - 32.3 mm, $n = 95$)，平均日齡為 115 ± 17.33 天(範圍 84 - 186 天, $n = 49$)，平均體成長率為 $0.2335 \pm 0.25 \text{ mm/d}$ (範圍 0.1857 - 0.2837 mm/d, $n = 49$)(Table 5.)，經檢定得知此三項參數的平均值在各季節間，皆無顯著差異($p > 0.05$)。但每一項參數的變化範圍非常大，表示寬頰瓢鰭鰕虎在各季節間加入河口的個體情形差異相當大。

5.2 魚體長與日齡之關係

魚體長(TL, mm)和日齡(Age, day)之間的關係式如下：

$$\text{Station 1 : TL} = 0.09\text{Age} + 16.92 \dots (7)$$

$$(R^2 = 0.5544, n = 49)$$

$$\text{Station 2 : TL} = 0.028\text{Age} + 24.89 \dots (8)$$

$$(R^2 = 0.2641, n = 23)$$

經 ANCOVA 檢定後得知兩關係式間有顯著差異($p < 0.05$) (Fig.22)。式中的斜率即為魚體成長率，測站 1 為 0.09 mm/day，而測站 2 較低，僅為 0.028 mm/day。此結果顯示出寬頰瓢鰭鰕虎在上溯的過程中，於此兩測站間的體成長率有逐漸變緩的趨勢，這種現象與 Fig.9 結果相佐。

測站 1 的個體長與日齡相關性各季節間不同，2009 年春、夏季的個體線性關係較低， R^2 值較低，分別為 0.3764 和 0.3375，其餘季節皆達 0.7 左右，顯示在某些季節的採樣中，加入日齡與體長線性關係顯著關係不高(Fig.23)，亦即仔稚魚加入時的體長可能與年齡無關(age-independent)。

6. 產卵日回推

產卵日回推是從樣本被捕獲的日期逆算耳石日齡得知，結果顯示寬頰瓢鰭鰕虎的產卵期相當長，整年都有發生(Fig.24)。春季在秀姑巒溪河口所採獲的仔魚大多在前一年的秋末冬初(11-1 月)出生，兩年的秋季各產於該年 4 月到 7 月的春夏季，而冬季個體則於秋季(8-10 月)出生，2009 年夏季的個體由於日齡差異較大，回推之產卵期較長，包含冬末及春季(2-5 月)，其中 2 月份出生頻率較高。產卵期的分佈如 Table 5.所示。

7. 耳石微化學

7.1 耳石 Sr/Ca 比與鹽度之關係

耳石最外緣的元素組成，可反映魚體被捕撈前不久的水體鹽度。在河口(測站 1)所捕獲的個體，其耳石 Sr/Ca 比沒有下降到純淡水環境的程度，可能由於該地水體仍受到海水漲退潮的影響。而測站 2 為淡水環境，因此測站 2 個體的耳石外緣的 Sr/Ca 比明顯下降，平均為 2.74×10^{-3} ($n = 3$)，最高值為 3.89×10^{-3} ，也不超過 4×10^{-3} ，此結果與蕭(1998)同樣於秀姑巒溪河口段採集的樣本，其測得耳

石 Sr/Ca 比結果類似。本研究以 4×10^{-3} 為耳石 Sr/Ca 比淡海水的分界值，以下為淡水，以上便為海水環境。

7.2 Sr/Ca 比的時序列變化特徵與個體發生學的關係

Fig.25 是寬頰瓢鰭鰕虎耳石最大軸的 Sr/Ca 比值的時序列變化圖，數值 $\times 100$ 後，以 $100(\text{Sr/Ca})$ 表示。耳石 Sr/Ca 比以 0.4 為分界，核心及邊緣處的值明顯低於其他區域，這與寬頰瓢鰭鰕虎的洄游環境史非常吻合，亦即仔魚在淡水環境中孵化後，很快地進入海水環境，一直到仔稚魚再次進入淡水上溯的時間點為止。配合耳石的微細結構，發現耳石核心的 Sr/Ca 比值很低，約在 $0.24(n = 3)$ ，而在第二個測點時 Sr/Ca 比急遽升高至 $1.18(n = 3)$ ，此階段反映了魚體的孵化時期是在淡水環境中，且個體孵化後急速地被水流帶往有鹽度的地方，此結果與過去的研究相符(Manacop, 1953; Delacroix, 1992; Hoareau, 2005; Hoareau et al., 2007; Pierre et al., 2009)。然而，某些個體的核心 Sr/Ca 比值偏高，約在 0.8 左右($n = 4$)，已經超過淡海水分界值(Fig.26 Type 2)，可能原因是在孵化後於淡水環境停留的時間短或是 EPMA 的時間分辨率(time resolution)問題，詳細情形將在討論中說明。整體來看，利用 Sr/Ca 比可看出寬頰瓢鰭鰕虎的初期仔魚階段，確實在淡水環境中。Sr/Ca 比上昇後會一直維持高值，在 0.63 - 1.32 之間，這是海洋浮游期的海水環境信號。到了耳石邊緣的部分，約在第 18 - 19 個測點時 Sr/Ca 比急速下降到約 0.38，在淡鹹水分界點之下，顯示鰕虎由海水進入淡水環境的過程，此結果在其他兩側洄游魚類中也有發現(Kalish, 1990; Shen et al., 1998)。進一步與微細結構比較後發現，變態輪約落在 19 - 20 測點的位置，表示變態輪在 Sr/Ca 比的下降過程中才形成，因此 Sr/Ca 比下降是該魚變態的一個信號，同時也表示變態與棲地轉換是同步發生的。應是可對應至個體的變態情形。值得一提的是，測站 1 的耳石樣本邊緣皆無 Sr/Ca 比下降的情形($n = 5$)(Fig.27)，可能由於該地點還有海水的漲退潮影響鹽度，而變態還正在發生。但在測站 2 的個體中，雖有 Sr/Ca 比陡降現象(Fig.24 left side)，但只發生在一側。正如先前所述，耳石成長是不對

稱的，因此分析耳石微量元素，不能只測定一側，否則可能會失去變態輪的資訊。

8. 海洋浮游期(PLD)長短的時空變化

為瞭解寬頰瓢鰭鰕虎 PLD 的地理變異及其仔魚擴散的關係，本研究分別在宜蘭南澳、花蓮秀姑巒溪及蘭嶼東清溪三個採樣地點採集樣本，並比較其加入體長及 PLD。其中秀姑巒溪的樣本為全年，經檢定各季節間的 PLD 無差異($p>0.05$)，因此將秀姑巒溪的所有樣本混在一起，與其他兩地區的個體作比較。南澳個體的 PLD 平均為 178 ± 24.99 天(範圍 151–218 天, $n = 9$)，顯著大於花蓮個體的 115 ± 17.33 天(範圍 84 – 186 天, $n = 49$)和蘭嶼成魚個體回推後的 118 ± 16.75 天 (109 – 163, $n = 14$)，但花蓮與蘭嶼之間無顯著差異($p>0.05$)，三採樣點間的 PLD 分布如 Table 6. 所示，並以 Box plot 作圖表示三地區間的 PLD 差異關係(Fig.28)，結果發現台灣東部個體的 PLD 有南低北高現象。另外，以 Mann-Whitney test 檢定結果，也發現到南澳仔魚的加入體長平均 29.7 ± 1.54 mm(範圍 27.5–31.9 mm, $n = 9$)，顯著大於南邊花蓮的個體長 27.7 ± 2.1 mm(範圍 22.6 - 32.3 mm, $n = 95$) ($p<0.05$)，同時作圖表示(Fig.29)。這些結果表示，台灣東部的寬頰瓢鰭鰕虎，不論是加入體長或 PLD 長短，皆有從南低北高的趨勢存在。

四、討論

1. 仔稚魚個體發生學的變化與耳石變態輪形成之關係

本研究發現耳石變態輪(MC)僅出現在稚魚階段以上的個體，J1 的稚魚階段個體僅出現一隻，其餘無變態輪的個體可能是正經歷變態期，但 J2 的稚魚以後的發育階段則是百分之百存在($n=6$)。而在河口域所捕獲的仔魚個體，皆無觀察到變態輪，此結果與 Reunion 島上的個體情形相同(Keith et al., 2008)，同屬的 *S. japonicus* 也有相同傾向(Shen and Tzeng, 2002)。Keith et al.(2008)在文章中提到，MC 約在寬頰瓢鰭鰕虎進入河口之後 12-14 天左右才形成，此時個體發育都已到稚魚階段。而 Shen and Tzeng(2002)更進一步指出 MC 形成與生活環境改變(海水→淡水)有關，進而導致攝食行為的變化以及所產生外部型態變化，例如頭部上顎的變高變寬、攝食行為從浮游生物轉變到底藻的變化等等。因此當鰕虎由浮游型態轉變成底棲型態時，其生理生態的改變才是形成變態輪的主因。過去在珊瑚礁魚類的研究中，所發現的變態輪為浮游型的仔魚沉降到底棲的稚魚階段所形成的，因此變態輪又稱為沉降輪(settlement mark)。在 Wilson and McCormick (1999)的文章中，分析 44 種珊瑚礁魚類的沉降輪類型，並將沉降記號分成四種類型：Type 1 為陡峭型沉降輪(abrupt)，特徵為日週輪輪寬急速下降，降幅達 50%，研究魚種中的約 80%屬於此特徵；Type 2 為帶狀型沉降輪(zonal)，指輪寬在此階段會變寬，後來才回復至原本的寬度，這類型的魚種較少，僅在隆頭魚科(Labridae)、刺尾鯛科(*Acanthurus* sp.)中數種類觀察到類似的現象(Victor, 1982, 1986)；Type 3 為漸進型(gradual)，僅有短喙鼻魚(*Naso brevirostris*)一種屬於此類；最後一種就是鰕虎魚類的沉降記號類型，其特徵為先窄後寬，故無法歸類在上述三型的任何一型，獨立稱為 Type 4，可見其獨特性。

變態輪主要成分為有機基質。經 EDTA 酸性溶液腐蝕後在光學顯微鏡下呈現明顯黑帶，置於 SEM 下更有陷落的情況。此輪前後輪寬變化是由窄而寬，變態

輪前的輪寬較窄，顯示出此階段的個體成長率變慢，持續到變態輪後，配合輪寬變寬的情形，代表魚體成長率在變態後又開始回昇，此點也可反映在變態期間的體長上，PL2、J1 及 J2 階段之間的個體，其體長無差異，此時期正是變態階段，儘管河口半淡鹹水域的食物豐富，魚體將能量分配於型態的變換，而非成長發育 (Keith et al., 2008)。待 J2 階段後的個體，其外部型態已與成魚差距不多，表示已經變態完全，過去研究亦顯示寬頰瓢鰭鰕虎在變態完成後成長率會再度回昇 (Keith et al., 2008)，而加勒比海的兩種鰕虎 *Gnatholepis thompsoni* 和 *Coryphopterus glaucofraenum* 也有相同特徵 (Sponaugle and Cowen, 1994)。由此可見，耳石變態輪是魚類發育階段變化所遺留下來的非常重要的特徵。這在利用耳石微細結構重見魚類生活史時，提供了一個非常方便的標的。

2. 變態輪與耳石最大成長軸轉換的生物意義

進入溪流後的稚魚，不但在耳石上出現了變態輪，而且變態後耳石最大成長軸也有後端轉為前端。在仔魚階段的個體，耳石後端的成長率顯著大於其他端，但在變態後的個體中，卻發現其他三軸先出現輪後的日周輪沉積，漸漸包覆住整顆耳石後才繼續向外擴展。因此，到了成魚階段時，耳石外型由仔魚階段的橢圓形轉變成接近長方形。此結果與 *S. japonicus* 如出一轍，沈(1997)提到該魚種在變態過程中，耳石成長軸由變態前的後端轉變成背側方向，且發現此現象發生的時間與魚體外部型態改變的時間吻合，尤其是頭部上顎的改變，因此提出頭上顎的變高變寬，可能影響到存放耳石的耳石囊空間軸，進而使耳石的結構改變。另一個更相似的證據魚類是比目魚(flatfish)從浮游期轉變為沉降前後的明顯外形變化，轉變之後發現耳石上出現了明顯的次成長軸，亦稱為副核心 (AP, accessory primordial) (Campana, 1984； Sogard, 1991； Toole et al., 1993)，他們進一步對北方海域的比目魚研究後發現，AP 的出現與沉降時期同步 (Alhossaini et al., 1989； Karakiri et al., 1989)。Modin et al. (1996)對比目魚 *Pleuronectes platessa* 進行飼養

實驗，以驗證沉降過程中，外部型態變化與耳石成長的關係。結果發現，未沉降時期(stage 4b)的耳石呈對稱的圓形，而當沉降第一天(stage 5)，比目魚的左眼漸漸轉移到右眼側，而此時耳石邊緣出現第一個 AP，成長軸開始轉換，隨著沉降後的日數增加，AP 數也跟著增加，直到第 10 天，AP 共 4 個佈滿耳石四周，此時左眼已經與右眼同側，而魚體也已由浮游轉變成底棲型態，接近成魚。該研究提出 AP 的生成，受到沉降期間的魚體游泳方向由背腹軸轉變成橫軸，所引發的引力方位不同所控制(Ambrose et al., 1993; Toole et al., 1993)，且此情況在魚鰭形態的改變，比起眼睛位置的改變更為明顯，因此推測魚體的游泳行為改變才是導致耳石上出現其他成長軸的主因。Iida et al. (2009)利用水下觀察 *S. japonicus* 仔魚加入河口的游泳行為，發現其保持頭下尾上的姿勢立於緩流中，待吸盤及腹鰭發育後(Keith, 2003)，改成橫躺於水底，準備進行上溯，表示游泳方向軸確實有了變換(垂直軸→水平軸)。本研究推斷寬頰瓢鰭鰕虎耳石成長軸轉換的情況，可能代表著個體由浮游型態轉變成底棲型態時，魚體游泳行為的變化，引力方向不同導致成長軸轉移至耳石背端以外的區域先行生長，待底棲型態確立後，再漸漸包覆整顆耳石恢復原本的成長情形。由此可見，耳石變態輪是瞭解仔稚魚發育階段變化，一項非常有效的生物指標。

3. 耳石 Sr/Ca 比變化與棲息環境轉換之關係

由於 Sr 元素在海水中的濃度遠高於淡水，而 Sr 元素又容易取代耳石中的 Ca，取代量的多寡視水中濃度而定，因此耳石的 Sr/Ca 比常被用來研究魚類在海水和淡水之間移動的指標。最廣泛的應用是重建兩側洄游型(diadromous)魚種的洄游環境史(Casselman, 1982; Kalish, 1990; Secor, 1992; Limburg, 1995; Tzeng, 1996; Radtke and Kinize, 1996; Limburg et al., 2001; Tzeng et al., 1997, 2005; Daverat et al., 2005)。本研究為第一篇利用耳石微化學來推估寬頰瓢鰭鰕虎洄游環境史的文章。研究中結合過去在秀姑巒溪進行鰕虎的研究(蕭, 1998)，及耳石

邊緣 Sr/Ca 比與採樣點鹽度關係的對照，以 4×10^{-3} 該值為淡、海水交界值。可發現本實驗魚種的整體 Sr/Ca 比變化與其他淡水鰕虎魚類相似，皆有明顯地下降情形，反映出仔稚魚由海水進入淡水的過程。耳石核心的 Sr/Ca 比值很低，約在 0.24 ($n = 3$)，此階段反映了魚體的孵化時期是在淡水環境中的母源效應(maternal effect)，而在第二個測點時 Sr/Ca 比急遽升高至 1.18 ($n = 3$)，表示個體孵化後急速地被水流帶往有鹽度的地方。另外，某些個體的核心 Sr/Ca 比值較高，約在 0.8 左右($n = 4$)，可能是由於實驗儀器的 EPMA 在時間軸上的解析度限制所造成。因本研究以穿越線打點的方式，電子束是以 $5 \times 4 \mu\text{m}$ 的長方型區塊打下，因此在日輪緊密的核心區域，可能一個值便包含了數天的時間，也就是說，若個體一孵化便在很短的時間內接觸到海水，可能會將核心該點的平均拉高，而呈現出比淡水環境還高的 Sr/Ca 比值，此結果也表現出不同個體自孵化至漂到海水裡的時間不相同，可能反映出不同河段間或不同流域的個體孵化情形。之後的 Sr/Ca 比維持高值，顯示個體穩定的海洋時期，並無在淡海水之間互相遷徙的現象。直到耳石邊緣附近 Sr/Ca 比開始下降，這顯示出鰕虎魚由海水進入淡水的過程(沈, 1997)。與鰻魚的柳葉鰻在變態為鰻線時，正值由高鹽度之黑潮水域進入低鹽度之沿岸河口域，因而導致 Sr/Ca 比降低的機制不同(Tzeng and Tsai, 1994)。Shen et al.(1998) 利用耳石微化學，研究台灣東北角的隆隆溪中的 11 種淡水鰕虎魚，發現所有個體的耳石 Sr/Ca 比在仔稚魚進入河川後皆由高轉低，與寬頰瓢鰕鰻虎的模式相同，與全球超過 100 種瓢鰕鰻虎屬魚種一樣俱有兩側洄游型特徵(Fitzsimons et al., 1993；Bell et al., 1995；Radtke et al., 2001；Keith, 2003)。因此，由耳石 Sr/Ca 比的變化來回推鰕虎科魚類棲地變化是無庸置疑的。

4. 全年產卵的意義及其生活史策略

秀姑巒溪(23°N)的寬頰瓢鰕鰻虎產卵期經日齡逆推而得，以月份及所屬季節為單位表示。經逆算後得知，每個月份都有個體產卵記錄，也就是其產卵期為全

年。此結果與分布於熱帶菲律賓(8°N)的同種個體相同(Manacop, 1953)，也與其他熱帶型瓢鰭鰕虎種類(Sicydiinae)相似(Hawaii 的 *Sicyopterus stimpsoni* (Fitzsimons et al., 1993)；Dominica 的 *Sicydium punctatum* (Bielsa et al., 2003))，但較南半球 Reunion 島(19°S)上的個體產卵期長(7-9 months)(Bielsa et al., 2003)，某些位於熱帶及亞熱帶交界的鰕虎種類也呈現相同情況(Hawaii 的 *Lentipes concolor* (Kinize, 1993)；Okinawa 的 *Stiphodon percnopterygionus* (Yamasaki and Tachihara, 2006))，顯示出全年產卵型為寬頰瓢鰭鰕虎等熱帶分布型鰕虎科魚類的共同特徵。與溫帶分布種 *S. japonicus* 相比，顯然有較長的產卵期。過去台灣的研究中，在東北角的隆隆溪及東南部金崙溪進行採樣，發現 *S. japonicus* 的產卵期為春季到秋季(7-9 mos)，且生殖期和降雨量有關，其中有生殖高峰，且為分批同步產卵型(group synchronism)魚類，加入體長與產卵期有顯著的週期關係存在(Shen, 1997；Ju, 2001)；而日本(32°N、34°N)的個體有被壓縮的現象，產卵期僅3個月(Dotu and Mito, 1955；Iida et al., 2009)，其產卵期長短有隨著緯度增加而縮短的情形，推測水溫為影響鰕虎生殖活動一個主要的因子(Gill et al., 1996；沈, 1997；Yamasaki, 2006)。在其他洄游型魚種也有相同現象。以鰻魚而言，熱帶鰻為一年多次產卵或全年皆有產卵現象，溫帶鰻則有較短而固定的產卵季節(Beumer and Sloane, 1990；Arai et al., 1999；Marui et al., 2001；Silberschneider, 2001；蕭, 2002；Tsukamoto et al., 2011)。台灣分布的瓢鰭鰕虎屬有 *S. lagocephalus* 和 *S. japonicus*，前者主要分布在熱帶及亞熱帶地區，產卵期為全年，但秀姑巒溪位處熱帶與亞熱帶交界，可能意味著該地的個體可能部分源自熱帶地區，即台灣較南端或菲律賓等地；後者分布範圍為台灣-日本，產卵期較短且有季節性變化，可見雖同為台灣分布的同屬魚種，其生殖情形卻是南轅北轍。一般而言，產卵期是否集中，與初級生產力(primary production)的出現時序及量有關，寬頰瓢鰭鰕虎的生殖策略似乎是為了迎合熱帶海域中較低而連續穩定的海洋生產力，故傾向拉長其生產季節，增加仔魚的活存率及加入河口的成功率。

5. 從耳石日成長率的變化推測寬頰瓢鰭鰕虎的成長模式

秀姑巒溪各季節個體的耳石輪寬變化，從核心處往外推，前 10 輪平均輪寬較緊密，約為 $1.35 \pm 0.53 \mu\text{m}$ ，之後輪寬急遽增加，至 30 輪時達最高值約 $5.62 \pm 0.94 \mu\text{m}$ ，在 40 輪之後輪寬逐漸變窄，下降至約 $1 \mu\text{m}$ 左右持續至耳石邊緣，此現象無季節性的差異存在。由此可見，這種現象為該魚種的通則，其輪寬呈現先升後降的情形，顯示出寬頰瓢鰭鰕虎在初生階段的成長率較慢，仔魚很快地在 3-4 天內漂到海裡，因此 Sr/Ca 比也急速升高，此時成長率急遽加快，且在 30 天左右達到最高峰，過了這個階段之後逐漸變慢，直到耳石邊緣。此結果與 *S. japonicus* 相同(沈, 1997)，另一種底棲產卵型(demersal spawners)的海水鰕虎 *Coryphopterus glaucofraenum* 亦同(Sponaugle and Cowen, 1994)。而這種初期生長模式也與鰻魚相似，Kuroki et al.(2007)揭示了蘇門答臘島附近的熱帶鰻 *Anguilla bicolor bicolor*，在初期階段的耳石輪寬，孵化後初期的成長率很慢($0.69 \pm 0.09 \mu\text{m/day}$)，而後有一高峰出現在 30 天($1.13 \pm 0.09 \mu\text{m/day}$)，此時期正值前柳葉魚期(preleptocephalus)轉變成柳葉魚(leptocephalus)初期，過了之後成長率漸漸減緩至耳石邊緣($0.52 \pm 0.05 \mu\text{m/day}$)。且在溫帶鰻或熱帶鰻中皆發現類似現象，例如 *A. japonica* (Tsukamoto & Umezawa, 1990)、*A. anguilla* (Lecomte-Finiger, 1992)、*A. b. pacifica* (Arai et al., 2001)、*A. australia*、*A. reinhardtii*、*A. dieffenbachia* (Shiao, 2002)、*A. marmorata* (Arai et al., 2001; Kuroki et al., 2005; Robinet et al., 2008)。推測導致耳石成長率出現高峰的原因，可能是由於沿岸環境的營養條件較好，俱充足的外源性食物(exogenous diet)，能提供攝食，正好補足轉換至柳葉鰻初期所需的能量，因而成長率在攝食初期有上升的趨勢，而形成此高峰(Kuroki et al., 2007)。此外，柳葉鰻體表含有特殊的膠狀分子，其主要成分為 GAG(glycosaminoglycan)(Pfeiler, 1984)，允許牠們儲存足夠能量提供變態期的需求，可解釋為何會有此成長率上升的情形(Lord et al., 2009)。然而，也有研究提

供另一種看法，Kuroki et al.(2005)認為造成出現在 *Anguilla marmorata* 初期成長上的第一個高峰，主要是體內荷爾蒙分泌等生理因素，而非水溫或攝食等外在環境導致。Shiao and Hwang(2004)更進一步表示甲狀腺素(Thyroid hormones)的分泌，對 *Megalops cyprinoides* 及其他硬骨魚類的變態十分重要，可能導致耳石成長率出現高峰。另一方面，Keith et al.(2009)區分寬頰瓢鰭鰕虎的仔魚階段，剛孵化的 L1 階段為無附著能力的胚胎(Bell, 1994)，會快速地被水流帶往有鹽度的河口，此時期還未消耗卵黃囊(Valade, 2001)，個體開始吸收卵黃囊的作用僅起始於海水環境中，鹽度似乎會觸發寬頰瓢鰭鰕虎進行一系列生理上的轉變，包括了鰭的發育和口部的開啟。而這些功能在淡水環境中不會發生，過去研究也發現相同現象，以此種策略來延緩仔魚的發育，避免因卵黃囊吸收完畢而個體還未能進食，導致死亡率徒增的情形(Lindstrom and Brown, 1994；Bell and Brown, 1995；Yokoi and Hosoya, 2005)，直到進入海裡。待至 L2 階段，仔魚開始有能力進食並消化外來的食物，卵黃囊也吸收殆盡，同時有自體的營養及外源性食物提供能量成長，此現象似乎解釋了為何初期的耳石成長率會上升。McDowall (2009)也提出相同假設，並認為這是 *Sicyopterus* 屬魚種為增加其仔稚魚存活量的成功演化策略之一。

6. PLD 長短與寬頰瓢鰭鰕虎仔魚擴散範圍之關係

仔魚到達河口的耳石日周輪數即代表該個體的海洋浮游期長短。花蓮秀姑巒溪為全年採樣，個體平均 PLD 為 115 ± 17.33 天 (範圍 84 – 186 天, $n = 49$)，與其他地區的個體相比，*S. lagocephalus* 的 PLD 在 Reunion(19°S)上為 199 ± 33 天(範圍 133 – 266 天) (Hoareau et al., 2007a)；在萬那杜共和國及新喀里多尼亞島(15°S)為 131 ± 3.4 天(Lord et al., 2009)，顯示出不同地區間的個體雖略有差異，但至少都有達 100 天以上，再次解釋 *S. lagocephalus* 為何具有廣泛的分佈範圍。與其他魚種作比較後發現，同樣分佈於台灣的 *S. japonicus* PLD 為 163.72 ± 12.79 天(範圍 125 – 212 天)(Shen and Tzeng, 2008)，上述兩者皆屬於廣泛型(cosmopolitan)鰕

虎種，其 PLD 皆顯著大於其他分布範圍較狹窄的在地型(endemism)鰕虎種，例如 *S. sarasini* 為 76.5 ± 3.9 天、*S. aiensis* 為 79.2 ± 4.6 天(Lord et al., 2009)；*Cotylopus acutipinnis* 為 101 ± 14 天(Hoareau et al., 2007a)；*S. punctatum* 的 83(54 – 136)天、*S. antillarum* 的 87(63 – 139)天(Bell et al., 1995)；*L. concolor* 為 86(63 – 106)天(Radtke et al., 2001)；*S. percnopterygionus* 的 99(78 – 146)天(Yamasaki and Maeda, 2007)及同樣於秀姑巒溪的 *Rhinogobius gigas* 海洋時期約 40 天左右(Shiao, 1998)，也顯著大於各地約 20 – 60 天之間的海水鰕虎及其他海水魚種 (Brothers et al., 1983; Victor, 1986; Wellington and Victor, 1989; Sponaugle and Cowen, 1994; Shafer, 1998; Wilson and McCormick, 1999)。若在秀姑巒溪的 *S. lagocephalus*，為該區域本身的在地族群或出現自體加入(self-recruitment)的現象，應不需要如此長的 PLD，這個證據可以顯示出，應是由其他地方漂來的。目前證據顯示 *S. lagocephalus* 為所有 Sicydiinae 中分布範圍最廣泛的一種(Keith et al., 2005)，包括印度-太平洋海域上的群島，至少 18000 km 以上(Watson et al., 2000)，而長的 PLD，在其散布距離及族群結構上扮演非常重要的角色，Keith et al.(2005)解釋，這個特點可能使該族群能逐漸擴散至較遠的島，逐漸分布在印度-太平洋的大範圍島嶼。經 Berrebi et al.(2005)利用等位酶電泳法(allozyme electrophoresis)得知整個 Indo-Pacific 的個體為單一族群；而 Hoareau et al.(2007b)於 Madagascar 附近的 Mayotte、Mauritius 及 La Re´union 島上採集，各地的個體中無基因分化(genetic divergences)現象。作者解釋 Madagascar 的族群是由印度洋的海流系統(current system)帶著漂浮的仔魚個體，經澳洲東岸逐步地(step-by-step)擴散至 Madagascar 附近的群島，詳細而言，一些個體可能加入並生存於中途的島嶼，待下一代漂出來後繼續被海流帶走，而某些個體可能橫越數個島後才作加入，而漂送的過程中，族群之間可能不斷有混和的現象，存在基因交流(gene flow)，抑制了族群的分化，而這也可以解釋為何 Re´union 島上的個體 PLD 差異如此大(133 – 266 天)，上述的證據顯示，長的 PLD 與較廣的分布範圍應是相輔相成的關係。

S. lagocephalus 的 PLD 於各季節間無差異，以此代表在時間上的分佈，也就是說，秀姑巒溪的寬頰瓢鰭鰕虎個體其 PLD 可以不必考慮季節間的影響而加總，來與其他兩地區的個體作比較。然而，在 Reunion 島上卻不是如此，個體 PLD 俱年間變化(varies annually)：1 到 3 月的加入個體較年長，約 200 天，而 5 到 9 月的個體約 150 天最年輕(Lord et al., 2009)，可見在不同地區間的情形不同。隆隆溪的 *S. japonicus* 的 PLD 為冬季較小，夏季較大，推測與該海域沿岸生產力的季節變化有關(Shen and Tzeng, 2008)。另外，寬頰瓢鰭鰕虎的加入日齡與魚體長之線性迴歸雖然成立，但相關性不高， R^2 值僅 0.5544，顯示加入日齡的變異很大，不同季節間，體長及日齡關係式的 R^2 值從 0.3~0.7 都有。Shen and Tzeng (2008) 在 *S. japonicus* 中闡述過此情形($R^2 = 0.123$)，其他如 *L. concolor* 等多種洄游性鰕虎種類也發現有類似現象(Radtke et al., 1988；Radtke et al., 2001)。

於台灣東部三個採樣點中，最北部的南澳個體的 PLD 平均為 178 ± 24.99 天(151 – 218 天, $n = 9$)，顯著大於花蓮的個體和蘭嶼成魚個體回推後的 118 ± 16.75 天(109 – 163 天, $n = 14$)，此結果呈現出 *S. lagocephalus* 在臺灣的分布中，北部個體的 PLD 顯著較南部的長 60 天，約 2 個月左右。這個結果顯示出寬頰瓢鰭鰕虎的 PLD 隨著緯度增加而有增加的趨勢，本研究假設個體由臺灣南方海域往北流，且藉著黑潮系統達到漂送，雖然就目前證據而言，無法直接性的觀察或捕捉到來自黑潮上的個體，但透過 PLD 的南北差異，配合黑潮系統的流經方向，似乎可以解釋該原因。而魚類仔稚魚藉由潮流系統漂送，以擴大族群大小及分布範圍，已在多篇洄游型的魚蝦類研究中討論過(Tsakamoto, 1990；Sugisaki, 1996；Sekiguchi and Inoue, 2002；Miller et al., 2002；Sassa et al., 2004；Liu et al., 2008)。Iida et al.(2009)統整並分析溫帶分布型的 *S. japonicus* 仔魚漂流情形，顯示 *S. japonicus* 的 PLD 在日本和歌山(Wakayama)(34°N)為 173 - 253 天(Iida et al., 2008)；在日本沖繩(Okinawa) (26°N)為 182 - 215 天(Yamasaki, 2006)；而在臺灣福隆(Fulong)(23°N)為 125 - 186 天(Shen et al., 1998)，顯示出 PLD 在這幾個地點有隨

著緯度升高而漸拉長的趨勢存在。而 *S. japonicus* 的長距離分布是順著黑潮行進，且該特性可能導致各分布地點間，無族群分化的現象(Watanabe et al., 2006)。此外，林(2009)利用 mtDNA 分析來自台灣東部的福隆、南澳、以及花蓮春、秋季三個地點共 119 隻，以及日本沖繩、高知縣(Kochi)、和歌山、靜岡(Shizuoka)四個地點共 77 隻的 *S. japonicus* 仔魚，顯示花蓮的秋季樣本與其他樣本間有明顯遺傳差異，並解釋該原因可能是東北季風阻擾了秋季魚苗向北的輸送，其餘地點間無顯著的遺傳分化現象，可能和海流漂送仔稚魚造成族群間有基因交流有關。該研究進一步解釋，黑潮的輸送速度固定為 96(77-116) km/day，而 *S. japonicus* 的 PLD 在日本(208 ± 22 天)比臺灣(163.72 ± 12.79 天)多 45 天，足以使個體至臺灣漂至日本。而同樣情形亦發生在日本奄美大島(Amami-Island)至臺灣各水系的族群上(朱, 2001)。潮流系統經常扮演族群漂散的重要角色，但也有例外存在，Radtke et al.(2001)對夏威夷群島的 *L. concolor* 進行日齡估算，由西北向東南方向分別是 Kaua'i、O'ahu、Maui 及 Hawai'i，結果顯示 PLD 在兩端的 Kaua'i 及 Hawai'i 島上較長(87.3 ± 0.09 及 88.3 ± 0.07 天)，而中間的 Maui 島較短(80.7 ± 0.11 天)，約七天的差距，而該處的洋流行進方向是由西北往東南，若個體皆利用該洋流漂流，應不能解釋島間的 PLD 差異。該研究提出這個現象可能與 Maui 島附近有渦流(eddies)存在有關，該島的個體可能被限制在附近海域，而後有自體加入(self-recruitment)的情形，導致該處的個體 PLD 較短。因此在提出臺灣東部海域的漂送，可能得排除自體加入的現象，或是將其他可能會影響的可能性降到最低，檢視臺灣附近海域地圖後發現，唯一較強烈的渦流區域(eddy region)在黑潮流經區域的東方海域，因此漂出的個體應不易接觸到該渦流，主要還是受到黑潮的影響。而南澳的個體 PLD 比花蓮及蘭嶼的個體長約 2 個月的時間，若配合黑潮的流速，蘭嶼離南澳約 250 - 300 公里遠，經計算後僅需 2 - 3 天，其餘的時間可能是個體漂出後加入黑潮，或是從離開黑潮漂往該河口所需的時間。另一方面，為何較南的蘭嶼和花蓮的個體 PLD 無差異?可能的原因如前述，花蓮個體的 PLD

的變異相當大，從 84 - 168 天都有。推論該處的個體可能由臺灣南端，包括恆春、蘭嶼等地經漂出後由黑潮送達，亦或是從更南端的位置進入潮流後漂送至此，而蘭嶼因正處於黑潮主流，加入島上的個體，很可能僅有一條路徑，即更南端的島上，如菲律賓等地，導致出現此現象。然而南澳的個體也有可能來自臺灣的其他地區，目前的樣本數($n = 9$)不足以討論到族群的層次，僅能從緯度分布上解釋為何擁有較長的 PLD。類似現象在幾種鰻魚中也可發現(Kimura et al., 1994; Kimura et al., 2001; Kimura and Tsukamoto, 2006; Zenimoto et al., 2009)。由此可見，PLD 長短是鰻虎演化的一種生存策略，也是研究仔稚魚擴散的一項有力指標。

7. 仔魚加入期、體長及體成長率

本研究發現寬頰瓢鰭鰻虎在秀姑巒溪的加入期為全年。由於漁民在河口捕撈魚苗的時機較不固定，目前僅知多會選擇在清晨的首次漲潮時段進行採集。另外，根據過去漁民說法，春季有鰻虎魚苗大量加入河口，因此會增加捕撈次數。研究期間於 2009 年春季採樣 26 次，為所有季節中最多，也因此該季獲得的加入個體最多。有鑑於各季節間採樣次數不盡相同，無法利用 CPUE 計算，故不討論資源量及環境因子造成的差異。首先針對寬頰瓢鰭鰻虎的全年加入期進行討論，此結果和不同分布地區的個體相同，位於熱帶的菲律賓及留尼旺島的加入期皆為全年。然而，對於上述兩地而言，都有加入高峰存在，分別是菲律賓的 1-3 月(Manacop, 1953)；及留尼旺島的 12 月(Delacroix, 1992)。該結果也與其他熱帶-亞熱帶瓢鰭鰻虎類類似(Bell et al., 1995; Nishimoto and Kuamo'o, 1997; Radtke et al., 2001)。*S. japonicus* 是目前所知加入期最短的瓢鰭鰻虎，在臺灣為 9 個月，而在日本平均 4 個月，推測與水溫有關。溫帶海域水溫隨四季有劇烈變化，跟幾近於恆定的熱帶海域不同。在日本太田川(Ota River)水域低溫可至 9°C，低水溫可能壓縮了加入期長短(Iida et al., 2009)。而在臺灣由於水溫較高，全年至少有 16°C 以上，因此影響仔魚加入的另一項因子反而浮現出來，即為河口鹽度，在河口鹽度低於

16ppt 時，幾乎都可以捕獲加入個體，反之在鹽度太高時，儘管在加入期也無法捕獲，該結果可能與降雨導致河口鹽度變化有關(Shen, 1997)。因此，低鹽度的水可能是誘導鰕虎科魚類仔魚溯河的可能因子之一。

寬頰瓢鰕虎在秀姑巒溪的加入個體長平均為 27.7 ± 2.1 mm(範圍 22.6 - 32.3 mm, $n = 95$)，平均體成長率為 0.2335 ± 0.025 mm/d (範圍 0.1857 - 0.2837 mm/d, $n = 49$)。僅以全長(TL)跟其他地區比較後發現，類似於菲律賓(25.9 ± 0.7 mm)(Manacop, 1953)，但略小於留尼旺島(32.7 ± 1.1 mm)的個體(Hoareau et al., 2007)，萬那杜和新喀里多尼亞等太平洋小島間的加入體長有些微差異(29.96 ± 0.46 mm for Penaorou; 30.98 ± 0.33 mm for Peavot; 32.30 ± 0.51 mm for Maewo)(Hoareau, 2005)，亦跟 *S. japonicus* 差不多(26-33mm)(沈, 1997; Iida et al., 2009)，而顯著大於其他瓢鰕虎(Fitzsimons et al., 1993; Kinize, 1993; Bell et al., 1995; Radtke et al., 2001; Yamasaki et al., 2007; Hoareau et al., 2007)。加入體長受到許多因素的影響，Lord et al.(2009)針對此現象提出以下數點假設。

(1)季節性週期變化：寬頰瓢鰕虎在秀姑巒溪的加入體長和成長率各季節間無差異，然而根據 Shen and Tzeng (2008)，*S. japonicus* 加入體長和成長率俱週期性變化，以秋冬較大而春末較小，且與日齡相反，並推測各季節的海域生產力不同，可能是導致該現象的主要原因。而寬頰瓢鰕虎很可能來自於熱帶海域，全年有較低但較穩定的海洋生產力，使之到達的體長及成長情形無季節間差異。

(2)加入日齡：即仔魚在抵達河口前，在海上待的時間不同(Bell et al., 1995)所致，也就是說加入體長應與日齡呈正比關係。本研究發現在南澳的個體加入日齡，大於花蓮的個體約 2 個月，而加入體長為 29.7 ± 1.54 mm (範圍 27.5-31.9 mm, $n = 9$)，亦顯著大於花蓮的個體，也就是說，不論加入體長或日齡都有往北漸增的趨勢，再次符合我們的假設，反映仔魚由南向北漂送，且跟黑潮有著密不可分的關係。

(3)個體成長率：海洋環境本身條件的不同，例如食物來源的變化等，對於

浮游於海洋的仔魚成長率造成影響，影響加入河口的體長。

無論上述何者為主因，亦或交互影響，目前都缺乏直接證據解釋。尤其是海洋浮游階段個體的獲得，應是一突破的關鍵，此則有待進一步的研究證明。

8. 寬頰瓢鰭鰕虎的上溯行為之探討

本研究於秀姑巒溪進行一整年的採樣中，僅捕獲一隻成魚，因而無針對仔稚魚之後發育階段之上溯情形進行探討。原本根據曾(1996)對秀姑巒溪洄游性鰕虎的調查研究，發現日本瓢鰭鰕虎具有很強的上溯能力，可深入黃麻溪和塔洛木溪等支流，生存河段超過 80 km。而寬頰瓢鰭鰕虎仔稚魚及較小的成魚多分布於河口或距河口不遠處(Balon and Bruton, 1994)，較大的個體才可能溯至河川上游處，隨著河口距離增加，體長亦有增加之趨勢，這種分布結果可能有助於增加仔魚存活率(Valade et al., 2001；McDowall, 2009)。而研究期間於蘭嶼東清溪的水下觀測結果亦顯示如此。由此可見，這個因素應不足以解釋為何無法捕捉到寬頰瓢鰭鰕虎成魚個體，進而導向採樣方法的選擇性。由於本實驗選擇架設陷阱網，並採用在主流道旁另闢分流來吸引上溯中的個體，這種方法可能造成了魚具選擇性。一來是上溯中的仔稚魚受制於有限的游泳能力，可能會選擇較緩的主流旁邊前進，避開流速過快的主流中間(蕭, 1998)。過去觀察研究也發現，漁民亦利用此特點，以排水管置於水壩旁的壁上，吸引魚苗往該處上溯，一段時間後再行採收。然而成魚可能有較發達的吸附能力，能在流速較高的水域中前進。研究期間於蘭嶼東清溪的水下觀察得知，成魚俱跳躍式的上溯行為，以腹部吸盤和嘴部幫助上溯，與過去研究相佐(Schoenfuss and Blob, 2007)，顯示成魚可以抵抗較強水流，因此本研究認為陷阱網的誘魚道，較能吸引仔稚魚進入，而不是成魚。有關成魚在溪流中的分布，則有待今後的研究。

9. 未來展望

本研究中利用耳石的微細結構及微化學，深入瞭解寬頰瓢鰭鰕虎的兩側洄游行為特徵及個體發生學的變化。這些資料對其初期生活史特徵的探討提供許多新的發現。然而，仍受限於許多客觀因素的限制而無法全面性的探討，本章節列舉接下來可以繼續發展的方向，以期今後作更完整的研究：

(1)利用 mtDNA 基因序列探討西北太平洋寬頰瓢鰭鰕虎的遺傳結構。過去研究僅限於其他地區，包括印度洋的留尼旺島及太平洋西南方的群島上(Berrebi et al., 2005; Keith et al., 2005; Hoareau et al., 2007)，對於西北太平洋的族群較無著墨，目前僅知朱(2001)和林(2009)使用 mtDNA 來研究臺灣-日本的日本瓢鰭鰕虎，瞭解其分子演化與類源關係，得出相同結果為樣本間無遺傳分化現象，顯示西北太平洋的日本瓢鰭鰕虎很可能為同一個族群，並與其長 PLD 有關。此技術可證明即使寬頰瓢鰭鰕虎成魚分布於相互隔離的淡水系統，仍能利用黑潮系統進行仔稚魚的漂散，且基因有交流從而抑制了族群遺傳的分化。未來若進行 mtDNA 的研究可更深入瞭解整個西北太平洋寬頰瓢鰭鰕虎的擴散情形。

(2)測定耳石核心微量元素指紋圖(otolith elemental signature)回推哺育場。耳石的微量元素沉積是一種複雜的生物礦化作用，同時受到環境或生理影響(Dove et al., 1996; Brown et al., 2001; Chang et al., 2006; Tzeng et al., 2007)，目前經控制實驗得知，水中 Sr、Ba、Mg 等濃度會直接影響耳石上的濃度(Bath et al., 2000; Milton and Chenery, 2001; Elsdon and Gillanders, 2003)，而微量元素 Ba、Cd、Zn 則與河川污染有關(Bruland, 1983; Alibert et al., 2003; Wells et al., 2003)。過去張(2008a)使用該技術追蹤台灣西岸的極樂吻鰕虎仔稚魚，判別率高達 93%以上，顯示不同河口域間有其特殊的耳石微量元素標記。此外，Lord and Keith (2008)研究發現新喀里多尼島上的 *S. sarasini*，存在於當地提煉鎳(Ni)的流域，而這元素可能對其他鰕虎魚種有害而退卻，可能造成該種鰕虎對該棲地具有忠誠性，若使用耳石微量元素分析便能追蹤其產卵地。利用此技術應可回推寬頰瓢鰭鰕虎的產卵母川，進一步證明臺灣個體的發源地。

(3)以生命條碼技術(DNA Barcoding Methods)追蹤海洋浮游期的仔魚動向。寬頰瓢鰭鰕虎由於仔魚個體小且漂浮於海面上，過去無海上仔魚的捕捉記錄，且個體過小難以從形態上作鑑定，遲遲無法瞭解仔魚在海洋的動態，此時可利用 DNA 生命條碼分析，並比對條碼資料庫以幫助鑑種。臺灣過去也有許多研究利用該方法對附近海域魚類的魚卵及仔魚，進行初期生活史之分類研究，顯示該技術的可行性(柯, 2007；張, 2008b)。



五、結論

本研究利用耳石的微細結構及微化學，配合外部型態，重建了寬頰瓢鰭鰕虎的初期生活史、成長及洄游環境史。主要發現如下：(1)寬頰瓢鰭鰕虎全年皆可加入河口，為全年產卵型鰕虎。其全年產卵的生殖策略，乃是熱帶性魚類為了迎合熱帶海域中，較低而穩定的海洋生產力所演化出來的一種生活史策略，其目的為可以增加仔魚的活存率及加入河口的成功率。(2)耳石輪寬比的變化，顯示仔魚的初期成長率呈現先昇後降的趨勢，其確實原因不明，但初期成長率上升原因推測可能與沿岸海域的生產力較高有關，而後期成長率的下降，可能是為了減緩成長以免消耗過多能量以適應長距離的漂送。(3)由臺灣東岸三採樣點的個體之海洋浮游期(PLD)長短及加入體長比較，發現有南低北高的地理傾斜現象，暗示寬頰瓢鰭鰕虎某些個體可能順由黑潮系統由南向北輸送至臺灣東部海域。(4)寬頰瓢鰭鰕虎加入河口後外部形態發生劇烈變化，此時成長率變慢，並在耳石上形成明顯變態輪。而變態輪前後的成長方向由耳石後(P)端轉變至其他三端，這樣的改變疑與仔魚由海洋漂浮型態轉入淡水的底棲型態時，游泳方向改變導致引力不同有關。(5)耳石 Sr/Ca 比值的時序列變化驗證了寬頰瓢鰭鰕虎的兩棲洄游型生活史特徵。(6)採樣記錄及野外行為觀察得知寬頰瓢鰭鰕虎的溯河行為俱日行性。

總合以上結果，本研究發現寬頰瓢鰭鰕虎如此長的 PLD，可能是為了分散族群風險所演化出來的一種策略。另外，從海洋進入河川的過程，透過耳石微化學可以證明棲地利用的改變。另一方面，從耳石外部形態及微細結構的劇烈變化，皆可證明寬頰瓢鰭鰕虎在適應棲地變化時，生理生態同步急遽變化，以及生活史策略的特殊性。

六、參考文獻

中文部分：

臺灣魚類資料庫 (<http://fishdb.sinica.edu.tw/2001new/main1.asp>)

方力行、韓僑權、李展榮 (1999)。枋山溪及四重溪河川生態調查研究。行政院農業委員會特有生物研究保育中心，59頁。

陳義雄，方力行 (1999)。臺灣淡水及河口魚類誌。國立海洋生物博物館，288 頁。

沈世傑 (1993)。臺灣魚類誌。臺大動物系。臺北，534頁。

曾晴賢 (1986a)。臺灣的淡水魚類。臺灣省教育廳自然叢書12號，194頁。

曾晴賢 (1986b)。欖仁溪攔沙壩之魚道規劃設計研究。墾丁國家公園管理處。

曾晴賢 (1996)。秀姑巒溪洄游性魚苗資源之研究(一)。行政院農業委員會85年生態研究第19號，40頁。

曾晴賢 (1997)。秀姑巒溪洄游性魚苗資源之研究(二)。行政院農業委員會86年生態研究第18號，20頁。

李浩祥 (2007)。耳石結構及微化學應用在大肚溪河口日本海鰲的成長與洄游環境史之研究。國立臺灣大學漁業科學研究所碩士論文，62頁。

林德 (2009)。西北太平洋兩棲洄游鰕虎魚日本禿頭鯊的族群遺傳結構之研究。國立臺灣大學漁業科學研究所碩士論文，258頁。

林筱齡 (2003)。利用耳石估算臺灣海域劍旗魚幼魚的日齡與成長。國立臺灣大學海洋研究所碩士論文，67 頁。

國立臺灣大學動物學研究所碩士論文，92頁。

柯慧玲 (2007)。南台灣墾丁周邊海域仔魚群聚之時空分布及DNA生命條碼在鑑種上之應用。國立中山大學海洋生物研究所碩士論文。104頁。

蕭仁傑 (1998)。秀姑巒溪洄游性鰕虎魚初期生活史與資源量。國立清華大學生命科學系碩士論文，58 頁。

- 蕭仁傑 (2002)。以耳石日周輪特性探討淡水鰻 *Anguilla australis*、*A. reinhardtii* 以及 *A. dieffenbachii* 的初期生活史與輸送途徑。國立臺灣大學動物學研究所博士論文，110 頁。
- 張美瑜 (2008a)。利用耳石元素指紋圖研究仔稚魚在河口間的擴散模式—以鰕虎與鯛科為例。國立臺灣大學漁業科學研究所博士論文，112 頁。
- 張至維 (1997)。由耳石的微細構造探討淡水河口域烏魚稚魚的日齡與成長。國立臺灣大學漁業科學研究所碩士論文，82 頁。
- 張至維 (2003)。以耳石微細構造及微化學研究臺灣近海烏魚的生活史及其洄游環境。國立臺灣大學動物學研究所博士論文，102 頁。
- 張榮樺 (2008b)。利用生命條碼方法從事臺灣海域魚類早期生活史之分類研究。國立臺灣大學動物學研究所碩士論文，115 頁。
- 朱育民 (2001)。臺灣產瓢鰭鰕虎屬之型態分類與 mtDNA 分子演化及日本瓢鰭鰕虎生殖生態之研究。國立中山大學海洋資源研究所碩士論文，118 頁。
- 陳慧倫 (2004)。大眼海鰱 *Megalops cyprinoides* 變態過程中耳石的微細構造與微化學改變之研究。國立臺灣大學動物學研究所碩士論文，62 頁。
- 楚涵 (2002)。臺灣地區珊瑚礁魚類之群聚構造、種類鑑定及初期生活史之研究。
- 沈康寧 (1997)。兩棲洄游型鰕虎魚日本禿頭鯊的初期生活史及加入動態之研究。國立臺灣大學漁業科學研究所碩士論文，84 頁。
- 施佳宏 (2007)。蘭陽溪河口仔稚魚類群聚結構之研究。國立臺灣海洋大學海洋生物研究所碩士論文，157 頁。
- 曾明彥 (2010)。臺灣淡水河流域烏魚的生活史特徵及洄游行為。國立臺灣大學漁業科學研究所碩士論文，89 頁。
- 巫金翰 (2007)。利用耳石日周輪來研究臺灣東北部海域花腹鯖的孵化日及初期成長。國立臺灣海洋大學環境生物與漁業科學研究所碩士論文，65 頁。
- 王佳惠 (1996)。耳石的微細構造和微化學在美洲鰻和歐洲鰻初期生活史上之應

用研究。國立臺灣大學漁業科學研究所碩士論文，73 頁。

日文部分：

中坊徹次 (1993)。日本産魚類検索。東海大學出版會。東京，1474頁。

環境省自然環境局野生生物課 (2003)。改訂日本の絶滅のおそれのある野生動物レッドデータブック4汽水・淡水魚。自然環境研究センター。東京，230頁。

鈴木寿之、涉川浩一、矢野維幾 (2007)。日本のハゼ(A photographic Guide to the Gobioid Fishes of Japan)。平凡社。東京，48頁。



英文部分：

- Alhossaini M, Liu Q, and Pitcher TJ (1989). Otolith microstructures indicating growth and mortality among plaice, *Pleuronectes platessa* L., post-larval sub-cohorts. *Journal of Fish Biology*, 35 (supplement A): 81–90.
- Alibert C, Kinsley L, Fallon SJ, McCulloch MT, Berkelmans R, and McAllister F (2003). Source of trace element variability in Great Barrier Reef corals affected by the Burdekin flood plumes. *Geochimica et Cosmochimica Acta* 67: 231-246.
- Ambrose Jr, Sass SL, and Davis MF (1993). Early growth, behaviour and otolith development of the winter flounder *Pleuronectes americanus*. *U.S. Fishery Bulletin* 91: 65–75.
- Arai T, Limbong D, Otake T, and Tsukamoto K (2001). Recruitment mechanisms of tropical eels *Anguilla* spp. and implications for the evolution of oceanic migration in the genus *Anguilla*. *Marine Ecology Progress Series* 216:253–264.
- Arai T, Limbong D, Otake T, and Tsukamoto K (1990). Metamorphosis and coastal migration of tropical eels *Auguilla* spp. in the Indo-Pacific. *Marine Ecology Progress Series* 182: 283-293.
- Balon EK and Bruton MN (1994). Fishes of the Tatinga River, Comoros, with comments on freshwater amphidromy in the goby *Sicyopterus lagocephalus*. *Ichthyological Exploration of Freshwaters* 5: 25-40.
- Bath GE, Thorrold SR, Jones CM, Campana SE, McLaren JW, Lam JWH (2000). Strontium and barium uptake in aragonitic otoliths of marine fish. *Geochimica et Cosmochimica Acta* 64: 1705-1714.
- Begg GA, Campana SE, Fowler AJ, Suthers IM (2005). Otolith research and application: current directions in innovation and implementation. *Marine Freshwater Research* 56: 477-483.

- Bell KNI (1994). Life cycle, early life history, fisheries and recruitment dynamics of diadromous gobies of Dominica, W.I., emphasising *Sicydium punctatum* Perugia. Ph.D. Thesis, Memorial University of Newfoundland.
- Bell KNI and Brown JA (1995). Active salinity choice and enhanced swimming endurance in 0-d-old to 8-d-old larvae of diadromous gobies, including *Sicydium punctatum* (Pisces), in Dominica, West Indies. *Marine Biology* 121: 409–417.
- Bell KNI, Pepin P, and Brown JA (1995). Seasonal, inverse cycling of length and age-at-recruitment in the diadromous gobies *Sicydium punctatum* and *Sicydium antillarum* in Dominica, West Indies. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* 52: 1535–1545.
- Berrebi P, Cattaneo-Berrebi G, Valade P, Ricou JF, and Hoareau T (2005). Genetic homogeneity in eight freshwater populations of *Sicyopterus lagocephalus*, an amphidromous gobiid of La Reunion Island. *Marine Biology* 148: 179–188.
- Berrebi P, Galewski T, and Keith P (2006). *Sicyopterus* “*lagocephalus*”, a unique widespread taxon confirmed by mtDNA sequences. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 40: 903–904.
- Beumer J and Sloane R (1990). Distribution and abundance of glass-eels *Anguilla* spp. in East Australian waters. *Internationale revue der gesamten hydrbiologie* 75: 721-736.
- Bielsa S, Francisco P, Mastrorillo S, and Parent J P (2003). Seasonal changes of periphytic nutritive quality for *Sicyopterus lagocephalus* (Pallas, 1770) (gobiidae) in three streams of Reunion Island. *Annales De Limnologie-International Journal of Limnology* 39: 115–127.
- Blaber SLM and Milton DA (1990). Species composition, community structure and zoogeography of fishes of mangrove estuaries in the Solomon Islands. *Marine*

- Biology* 105: 259-267.
- Boehlert GW and Mundy B C (1988). Roles of behavioral and physical factors in larval and juvenile fish recruitment to estuarine areas. *American Fisheries Society Symposium* 3: 51-67.
- Brothers EB, Williams D, and Sale PF (1983). Length of larval life in twelve families of fish at 'One Tree Lagoon', Great Barrier Reef, Australia. *Marine Biology* 76: 319–324.
- Brown AL, Busby MS, and Mier KL (2001). Walleye pollock *Theragra chalcogramma* during transformation from the larval to juvenile stage: otolith and osteological development. *Marine Biology* 139 (5): 845-851.
- Bruland KW (1983). Trace elements in sea- water. *Chemical Oceanography* 8: 157-220.
- Campana SE (1984). Microstructural growth patterns in the otoliths of larval and juvenile starry flounder *Platichthys stellatus*. *Canadian Journal of Zoology* 62: 1507–1512.
- Campana SE (2005). Otolith science entering th3 21st century. *Marine Freshwater Research* 56: 485-495.
- Campana S E and Neilson JD (1985). Microstructure of fish otoliths. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Science* 42: 1014–1032.
- Campana SE (1999). Chemistry and composition of fish otoliths: pathways, mechanisms and applications. *Marine Ecology Progress Series* 188: 263–297.
- Carlstrom D (1963). A crystallographic study of vertebrate otoliths. *Biology Bulletin (Woods Hole)* 125: 441–463.
- Casselman JM (1982). Chemical analyses of the optically different zones in eel otoliths. In K. H. Loftus, (ed.). *Proceedings of the 1980 North American Eel*

- conference, Ontario Fish. *Technical Rep*: 74-82.
- Chang MY, Wang CH, You CF, Tzeng WN (2006). Individual-based dispersal patterns of larval gobies in an estuary as indicated by otolith elemental fingerprints. *Scientia Marina* 70: 165-174.
- Chang MY, Tzeng WN, Wang CH, and You CF (2008). Difference in elemental composition in otolith of larval goby *Rhinogobius giurinus* among estuaries of western Taiwan: Implication for comprehending the larval dispersal and metapopulation connectance. *Zoological Studies*: in press.
- Cheng PW and Tzeng WN (1996). Timing of metamorphosis and estuarine arrival across the dispersal range of the Japanese eel *Anguilla japonica*. *Marine Ecology Progress Series* 131: 87–96.
- Cowen RK, Hare JA, and Fahay MP (1993). Beyond hydrography: can physical processes explain larval fish assemblages within the middle Atlantic Bay? *Bulletin of Marine Science* 53: 567–587.
- Deacon JE, Kobetich G, Wallians JD, and Conteras S (1979). Fishes of North America: endangered, threatened or of special concern. *Fisheries*. 4(2): 29-44.
- Degens ET, Deuser WG, Haedrich RL (1969). Molecular structure and composition of fish otoliths. *Marine Biology* 2: 105–113.
- Delacroix P and Champeau A (1992). Ponte en eau douce de *Sicyopterus lagocephalus* (Pallas) poisson Gobiidae amphibionte des rivières de la Réunion. *Hydroécologie Appliquée* 4, 49–63.
- Dotu Y and Mito S (1955). Life history of the gobioid fish, *Sicydium japonicum* Tanaka. Scientific Bulletin of the Faculty of Agriculture Kyushu University 10: 120–126.
- Dove SG, Gillanders BM, and Kingsford MJ (1996). An investigation of

- chronological differences in the deposition of trace metals in the otoliths of two temperate reef fishes. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* 205: 15-33.
- Ego K (1956). Life history of freshwater gobies. Project 4-4-R. Freshwater and Game Fish Management Resources. Department of Lands and Natural Resources. Honolulu, Hawaii. 23.
- Elsdon TS and Gillanders BM (2003). Relationship between water and otolith elemental concentrations in juvenile fish, *Acanthopagrus butcheri*. *Marine Ecology Progress Series* 260: 263-272.
- Fitzsimons JM, Nishimoto RT, and Yuen AR (1993). Courtship and territorial behavior in the native Hawaiian stream goby, *Sicyopterus stimpsoni*. *Ichthyological Exploration of Freshwaters* 4: 1–10.
- Gill HS, Wise BS, Potter IC, and Chaplin JA (1996). Biannual spawning periods and resultant divergent patterns of growth in the estuarine goby *Pseudogobius olorum*: temperature-induced? *Marine Biology* 125: 453–466.
- Govoni JJ and Pietrafesa LJ (1994). Eulerian views of layered water currents, vertical distribution of some larval fishes, and inferred advective transport over the continental shelf off North Carolina, USA, in winter. *Fisheries Oceanography* 3: 120–132.
- Healey MC (1982). Timing and relative intensity of size-selective mortality of juvenile chum salmon (*Oncorhynchus keta*) during early sea life. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Science*. 39: 952-957.
- Hernández-Miranda EA, Palma T, and Ojeda FP (2003). Larval fish assemblages in nearshore coastal waters off central Chile: temporal and spatial patterns. *Estuarine, Coastal and Shelf Science* 56: 1075-1092.

- Herre AWCT (1953). Marine fishes in Philippines rivers and lakes. *Philippine Journal of Science* 87: 65–88.
- Hoareau T (2005). Dynamique structurale des populations de ‘‘bichiques’’ (*Sicyopterus lagocephalus*), Gobiide’s amphidromes de rivie`res de La Re’union. Saint Denis: PhD thesis, Universite’ de La Re’union: 266.
- Hoareau TB, Bosc P, Valade P, and Berrebi P (2007). Gene flow and genetic structure of *Sicyopterus lagocephalus* in the south-western Indian Ocean, assessed by intron-length polymorphism. *Journal of experimental marine biology and ecology* 349: 223–234.
- Hoareau TB, Lecomte-Finiger R, Grondin HP, ConandC, and Berrebi P (2007). Oceanic larval life of La Reunion ‘bichiques’, amphidromous gobiid post-larvae. *Marine Ecology Progress Series* 333: 303–308.
- Hunt JJ (1992). Morphological characteristics of otoliths for selected fish in the Northwest Atlantic. *Journal of Northwestern Atlantic Fisheries Science*. 13: 63-75.
- Iguchi K, Ito F, Yamaguchi M, and Matsubara N (1998). Spawning downstream migration of ayu in the Chikuma River. *Bulletin of the National Research Institute of Fisheries Science* 11: 75–84
- Iida M, Watanabe S, and Tsukamoto K (2009). Life history characteristics of a Sicydiinae Goby in Japan, compared with its relatives and other amphidromous fishes. *American Fisheries Society Symposium* 69: 355–373.
- Jennings S, Kaiser MJ, and Reynolds JD (2001). *Marine Fisheries Ecology*. Oxford: Blackwell Science. Chapter 3:55-65.
- Kalish JM (1990). Use of otolith microchemistry to distinguish the progeny of sympatric anadromous and non-anadromous salmonids. *Fishery Bulletin* 88:

657–666.

Karakiri M, Berghahn R, and von Westernhagen H (1989). Growth differences in 0-group plaice *Pleuronectes platessa* as revealed by otolith microstructure analysis. *Marine Ecology, Progress Series*. 55: 15–22.

Keith P (2003). Biology and ecology of amphidromous Gobiidae of the Indo-Pacific and the Caribbean regions. *Journal of Fish Biology* 63: 831–847.

Keith P, Hoareau T, and Bosc P (2005). A new species of freshwater goby (Pisces: Teleostei: Gobiidae) from Mayotte Island (Comoros) and comments about the genus *Cotylopus* endemic to the Indian Ocean. *Journal of Natural History* 39: 1395–1405.

Keith P, Lord C, and Vigneux E (2006). In vivo observations on post-larval development of freshwater gobies and eleotrids from French Polynesia and New Caledonia. *Ichthyological Exploration of Freshwaters* 17: 187–191.

Keith P, Lord C, Marquet G, and Kalfatak D (2009). Biodiversity and biogeography of amphidromous fishes from New Caledonia, a comparison with Vanuatu. *Zoologica Neocaledonica* 7. Biodiversity Studies of New Caledonia. *Memoires du Museum national d'Histoire naturelle* 198: 175–183.

Keith P, Hoareau TB, Lord C, Ah-Yane O, Gimonneau G, Robinet T, and Valade P (2008). Characterisation of post-larval to juvenile stages, metamorphosis and recruitment of an amphidromous goby, *Sicyopterus lagocephalus* (Pallas)(Teleostei: Gobiidae: Sicydiinae). *Marine and Freshwater Research* 59:876–889.

Keith P, Galewski T, Cattaneo-Berrebi G, Hoareau T, and Berrebi P (2005). Ubiquity of *Sicyopterus lagocephalus* (Teleostei : Gobiidae) and phylogeography of the genus *Sicyopterus* in the Indo-Pacific area inferred from mitochondrial

- cytochrome *b* gene. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 37: 721–732.
- Kido MH and Heacock DE (1991). The spawning ecology of ‘o’opu-nakea (*Awaous stamineus*) in Wainiha River and selected other north-shore Kauai Rivers. New directions in research, management and conservation of Hawaiian freshwater stream ecosystems: proceedings of the 1990 symposium on freshwater stream biology and management. *Division of Aquatic Resources, Department of Land and Natural Resources*: 142–157.
- Kimura S, Inoue T, and Sugimoto T (2001). Fluctuation in the distribution of low-salinity water in the North Equatorial Current and its effect on the larval transport of the Japanese eel. *Fisheries Oceanography* 10: 51-60.
- Kimura S, Tsukamoto K, and Sugimoto T (1994). A model for the larval migration of the Japanese eel: roles of the trade winds and salinity front. *Marine Biology* 119: 185-190.
- Kimura S and Tsukamoto K (2006). The salinity front in the North Equatorial Current: a landmark for the spawning migration of the Japanese eel (*Anguilla japonica*) related to the stock recruitment. *Deep Sea Research II*, 53: 315–325.
- Kinzie RA (1993). Reproductive biology of an endemic, amphidromous goby *Lentipes concolor* in Hawaiian streams. *Environmental Biology of Fishes* 37: 257–268.
- Kuroki M, Aoyama J, Miller MJ, Arail T, Sugeha HY, Minagawa G, Wouthuyzen S, and Tsukamoto K (2005). Correspondence between otolith microstructural changes and early life history events in *Anguilla marmorata* leptocephali and glass eels. *Coastal Marine Science* 29: 154-161
- Kuroki M, Aoyama J, Wouthuyzen S, Sumardhiharg K, Miller MJ, and Tsukamoto K (2007). Age and growth of *Anguilla bicolor bicolor* leptocephali in the eastern

- Indian Ocean. *Journal of Fish Biology* 70: 538–550.
- Lecomte-Finiger R (1992). Growth history and age at recruitment of European glass eels (*Anguilla anguilla*) as revealed by otolith microstructure. *Marine Biology* 114: 205–210.
- Limburg KE (1995). Otolith strontium traces environmental history of subyearling American shad *Alosa sapidissima*. *Marine Ecology Progress Series* 119: 25–35.
- Lindstrom DP (1999). Molecular species identification of newly hatched Hawaiian amphidromous gobioid larvae. *Marine Biotechnology* 1:167–174.
- Lindstrom DP and Brown CL (1994). Early development and biology of the amphidromous Hawaiian stream goby *Lentipes concolor*. In: Systematics and evolution of Indo-Pacific fishes. Proceedings of the Fourth Indo-Pacific Fish Conference. Bangkok, Thailand: Faculty of Fisheries: 397–409.
- Liu SV, Kokita T, and Dai CF (2008). Population genetic structure of the neon damselfish (*Pomacentrus coelestis*) in the northwestern Pacific Ocean. *Marine Biology* 154: 745–753.
- Lobel PS and Robinson AR (1986). Transport and entrapment of fish larvae by ocean mesoscale eddies and currents in Hawaiian waters. *Deep-Sea Research*. 33: 483–500.
- Lobel PS and Robinson AR (1988). Larval fishes and zooplankton in a cyclonic eddy in Hawaiian waters. *Journal Plankton Research*. 10(6): 1209–1223.
- Lord C and Keith P (2008). Threatened fishes of the world: *Sicyopterus sarazini* Weber and De Beaufort (Gobiidae). *Environmental Biology of Fishes* 83: 169–170.
- Lord C, Brun C, Hauteœur M, and Keith P (2010). Insights on endemism: comparison of the duration of the marine larval phase estimated by otolith

- microstructural analysis of three amphidromous *Sicyopterus* species (Gobioidei: Sicydiinae) from Vanuatu and New Caledonia. *Ecology of Freshwater Fish* 19: 26-38.
- Maeda K and Tachihara K (2005). Recruitment of amphidromous sleepers *Eleotris acanthopoma*, *Eleotris melanosoma*, and *Eleotris fusca* into the Teima River, Okinawa Island. *Ichthyological Research* 52: 325-335.
- Manacop PR (1953). The life history and habits of the goby, *Sicyopterus extraneus* Herre (Anga) gobiidae with an account of the goby-fry fishery of Cagayan River, Oriental Misamis. *The Philippine Journal of Fisheries* 2: 1-58.
- Marui M, Arai T, Miller MJ, Jellyman DJ, and Tsukamoto K (2001). Comparison of early life history between New Zealand temperate eels and Pacific tropical eels revealed by otolith microstructure and microchemistry. *Marine Ecology Progress Series* 213: 273-284.
- McDowall RM (1988). Diadromy in fishes: migrations between freshwater and marine environments. Croom Helm, London.
- McDowall RM (2008). Early hatch: a strategy for safe downstream larval transport in amphidromous gobies. *Reviews in Fish Biology and Fisheries* 19: 1-8.
- McDowall RM (2009). Why be amphidromous: expatrial dispersal and the place of source and sink population dynamics? *Reviews in Fish Biology and Fisheries* 20: 87-100.
- McDowall RM (2009). Early hatch: a strategy for safe downstream larval transport in amphidromous gobies. *Reviews in Fish Biology and Fisheries* 19: 1-8.
- Meisfjord J, Midtøy F, and Folkvord A (2006). Validation of daily increment deposition in otoliths of juvenile *Limnothrissa miodon* (Clupeidae). *Journal of Fish Biology* 69: 1845-1848.

- Miller MJ, Mochioka N, Otake T, and Tsukamoto K (2002). Evidence of a spawning area of *Anguilla marmorata* in the western North Pacific. *Marine Biology* 140: 809-814.
- Milton DA and Chenery SR (2001). Sources and uptake of trace metal in otoliths of juvenile barramundi (*Lates calcarifer*). *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* 264: 47-65.
- Mizuno N (1960). Study on freshwater goby, *Rhinogobius Similis* Gill with a proposition on the relationship between lanlocking and speciation of some freshwater gobies in Japan. *Memoirs of the College of Science, University of Kyoto series* 27: 331-343.
- Modin J, Fagerholm B, Gunnarsson B, and Pihl L (1996). Changes in otolith microstructure at metamorphosis of plaice, *Pleuronectes platessa* L. – ICES *Journal of Marine Science* 53: 745–748.
- Morales-Nin B (1987). Ultrastructure of the organic and inorganic constituents of the otoliths of the sea bass. In the age and growth of fish (Robert C and Gorden EH eds.) The Iowa State University Press: 331-343.
- Mori T, Noda T, Matsuishi T, and Lee TH (2001). Relationships between otolith weight and fish swimming speed. *Journal of the Fisheries Society of Taiwan* 28 (3): 203-207.
- Myers GS (1949). Usage of anadromous, catadromous and allied terms for migratory fishes. *Copeia* 2: 89–97.
- Nishimoto RT and Kuamo'o DGK (1997). Recruitment of goby postlarvae into Hakalau stream, Hawaii island. *Micronesica* 30: 41–49.
- Pannela G (1971). Fish otoliths: daily growth layers and periodical patterns. *Science* 173: 1124–1127.

- Pease BC, Silberschneider V, and Waldford T (2002). Seasonal characteristics of migration into fresh water by glass eels of two *Anguilla* species in the Hacking River, New South Wales, Australia. *American Fisheries Society Symposium* in press.
- Pfeiler E (1984). Glycosaminoglycan breakdown during metamorphosis of larval bone fish *Albula*. *Marine Biology Letters* 5: 241-249.
- Radtke RL and Kinzie RA III (1996). Evidence of a marine larval stage in endemic Hawaiian stream gobies isolated from high-elevation locations. *Transaction of the American Fisheries Society* 125: 613–621.
- Radtke RL, Kinzie RA, and Shafer DJ (2001). Temporal and spatial variation in length of larval life and size at settlement of the Hawaiian amphidromous goby *Lentipes concolor*. *Journal of Fish Biology* 59: 928–938.
- Radtke RL, Kinzie RA, and Folsom SD (1988). Age at recruitment of Hawaiian freshwater gobies. *Environmental Biology of Fishes* 23: 205–213.
- Robinet T, Re'veillac E, Kuroki M, Aoyama J, Tsukamoto KV, Rabenevanana MW, Valade P, Gagnaire PA, Berrebi P, and Feunteun E (2008). New clues for freshwater eels (*Anguilla* spp.) migration routes to eastern Madagascar and surrounding islands. *Marine Biology* 154: 453–463.
- Ruttenberg B J and Warner RW (2006). Spatial variation in the chemical composition of natal otoliths from reef fish in the Galapagos Islands. *Marine Ecology Progress Series* 328: 225-236.
- Ryan PA (1991). The success of the Gobiidae in tropical Pacific insular streams. *New Zealand Journal of Marine and Freshwater Research* 18: 25-30.
- Saito S and Yamada J (1989). Ultrastructure of the saccular epithelium and the otolithic membrane in relation to otolith growth in tilapia, *Oreochromis niloticus*

- (Teleoste: Cichlidae). *Transactions of the American Microscopy Society* 108: 223-238.
- Sassa C, Kawaguchi K, Hirota Y, and Ishida M. (2004). Distribution patterns of larval myctophid fish assemblages in the subtropical-tropical waters of the western North Pacific. *Fisheries Oceanography* 13(4): 267-282.
- Schoenfuss HL and Blob RW (2007). The importance of functional morphology for fishery conservation and management: applications to Hawaiian amphidromous fishes. *Bishop Museum Bulletin of Cultural and Environmental Studies* 3: 125–141.
- Secor DH, Henderson-Arzapalo A, and Piccoli PM (1995). Can otolith microchemistry chart patterns of migration and habitat utilization in anadromous fishes? *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* 192: 15–33.
- Secor DH, Dean JM, and Campana SE (1992). Otolith removal and preparation for microstructural examination. In: Stevenson, D.K. and Campana, S.E., eds. Otolith microstructure examination and analysis. *Ottawa, ON, Canada: Canadian Special Publication of Fisheries and Aquatic Sciences* 117: 19–57.
- Sekiguchi H and Inoue N (2002). Recent advances in larval recruitment processes of Scyllarid and Palinurid lobsters in Japanese Waters. *Journal of Oceanography* 58(6): 747-757.
- Severin KP, Carroll J, and Norcross BL (1995). Electron microprobe analysis of juvenile walleye pollock, *Theragra chalcogramma*, otoliths from Alaska: a pilot stock separation study. *Environmental Biology of Fishes* 43: 269-283.
- Shafer DJ (1998). Evaluation of periodic and aperiodic otolith microchemistry and somatic-otolith scaling for use in retrospective life history analysis of a tropical marine goby, *Bathygobius coalitus*. *Marine Ecology Progress Series* 199:

217–229.

Shen KN and Tzeng WN (2002). Formation of a metamorphosis check in otoliths of the amphidromous goby *Sicyopterus japonicus*. *Marine Ecology Progress Series* 228: 205–211.

Shen KN, Lee YC, and Tzeng WN (1998). Use of otolith microchemistry to investigate the life history pattern of gobies in a Taiwanese stream. *Zoological Studies* 37: 322–329.

Shen KN and Tzeng WN (2008). Reproductive strategy and recruitment dynamics of amphidromous goby *Sicyopterus japonicus* as revealed by otolith microstructure. *Journal of Fish Biology* 73: 2497–2512.

Shiao JC and Hwang PP (2004). Thyroid hormones are necessary for teleostean otolith growth. *Marine Ecology Progress Series* 278: 271–278.

Silberschneider V (2001). Recruitment dynamics of *Anguilla australis* and *A. reinhardtii* glass eels in New South Wales, Australia. in Proceedings of the International Symposium, advances in eel biology, Japan Society of the Promotion of Science: 131–133.

Simkiss K (1974). Calcium metabolism of the fish in relation to aging. In: Bagenal TB (ed) *Aging of Fish*. Unwin Brothers, Old Working, UK: 1–12.

Sogard SM (1991). Interpretation of otolith microstructure in juvenile winter flounder (*Pseudopleuronectes americanus*): ontogenetic development, daily increment validation and somatic growth relationships. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Science* 48: 1862–1871.

Sponaugle S and Cowen RK (1994). Larval durations and recruitment patterns of two Caribbean gobies (Gobiidae): contrasting early life histories in demersal spawners. *Marine Biology* 120: 133–143.

- Sugisaki H (1996). Distribution of larval and juvenile Japanese sardine (*Sardinops melanostictus*) in the western North Pacific and its relevance to predation on these stages. In "Survival Strategies in Early Life Stage of Marine Resources". Watanabe, Yamashita and Dozeki (eds.) Rotterdam: Balkema: 261-270.
- Toole CL, Markle DF, and Harris PM (1993). Relationships between otolith microstructure, microchemistry, and early life history events in Dover sole, *Microstomus pacificus*. U.S. *Fishery Bulletin* 91: 732–753.
- Tsukamoto K (1990). Recruitment mechanism of eel, *Anguilla japonica*, to the Japanese coast. *Journal of Fish Biology* 36: 659-671.
- Tsukamoto K and Umezawa A (1990). Early life history and oceanic migration of the eel, *Anguilla japonica*. *La mer* 28: 188-198.
- Tsukamoto K, Chow S, Otake T, Kurogi H, Mochioka N, Miller MJ, Aoyama J, Kimura S, Watanabe S, Yoshinaga T, Shinoda A, Kuroki M, Oya M, Watanabe T, Hata K, Ijiri S, Kazeto Y, Nomura K, and Tanaka H (2011). Oceanic spawning ecology of freshwater eels in the western North Pacific. *Nature Communications* 2:179.
- Tsunagawa T and Arai T (2008). Flexible migration of Japanese freshwater gobies *Rhinogobius* spp. as revealed by otolith Sr: Ca ratios. *Journal of Fish Biology* 73: 2421–2433.
- Turan C (2006). The use of otolith shape and chemistry to determine stock structure of Mediterranean horse mackerel *Trachurus mediterraneus* (Steidachner). *Journal of Fish Biology* 69 (Supplement C): 165-180
- Tzeng CS (1986). Distribution of the freshwater fishes of Taiwan. *Journal of Taiwan Museum* 39(2): 127-146
- Tzeng WN, Severin KP, Wang CH, and Wickstrom H (2005). Elemental composition

- of otoliths as a discriminator of life stage and growth habitat of the European eel, *Anguilla anguilla*. *Marine and Freshwater Research* 56: 1-7.
- Tzeng WN, Severin KP, and Wickström H (1997). Use of otolith microchemistry to investigate the environmental history of European eel *Anguilla anguilla*. *Marine Ecology Progress Series* 149: 73–81.
- Tzeng WN and Tsai YC (1994). Changes in otolith microchemistry of the Japanese eel, *Anguilla japonica*, during its migration from the ocean to the rivers of Taiwan. *Journal of Fish Biology* 45: 671–683.
- Tzeng WN (1990). Relationship between growth rate and age at recruitment of *Anguilla japonica* elvers in the Taiwan estuary as inferred from otolith growth increment. *Marine Biology* 107: 75–81
- Tzeng WN (1996). Effects of salinity and ontogenetic movement on strontium: calcium ratio in otolith of the Japanese eel, *Anguilla japonica* Temminck and Schlegel. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* 199: 111–122
- Tzeng WN and Wang YT (1993). Hydrography and distribution dynamics of larval and juvenile fishes in the coastal waters of the Tanshui River estuary, Taiwan, with reference to estuarine larval transport. *Marine Biology* 116: 205.
- Tzeng WN, Chang CW, Wang CH, Shiao JC, Iizuka Y, Yang YJ, You CF, Lőzys L (2007). Misidentification of the migratory history of anguillid eels by Sr/Ca ratios of vaterite otoliths. *Marine Ecology Progress Series* 348: 285-295.
- Valade P (2001). Etude de la biologie de reproduction et des premiers stades larvaires des cabots bouches ronde a` l`r`le de la Re`union. MSc thesis, University of La Reunion.
- Valade P, Lord C, Grondin H, Bosc P, Taillebois L, Iida M, Tsukamoto K, and Keith P (2009). Early life history and description of larval stages of an amphidromous

- goby, *Sicyopterus lagocephalus* (Gobiodei: Sicydiinae). *Cybiurn* 33(4): 309-319.
- Victor BC (1982). Daily otolith increments and recruitment in two coral-reef wrasses, *Thalassoma bifasciatum* and *Halichoeres bivittatus*. *Marine Biology* 71: 203-208
- Victor BC (1986). Duration of the planktonic larval stage of one hundred species of Pacific and Atlantic wrasses (Family Labridae). *Marine Biology* 90: 317–326.
- Volk EC, Wissmar RC, Simenstad CA, and Egger DM (1984). Relationship between otolith microstructure and the growth of juvenile chum salmon (*Oncorhynchus keta*) under different prey ratios. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Science* 41: 126-133.
- Watanabe S, Iida M, Kimura Y, Feunteun E, and Tsukamoto K (2006). Genetic diversity of *Sicyopterus japonicus* as revealed by mitochondrial DNA sequencing. *Coastal Marine Science* 30: 473–479.
- Watson RE, Marquet G, and Poullabauer C (2000). New Caledonia fish species of the genus *Sicyopterus* (Teleostei: Gobiodei: Sicydiinae). *Aquatic Journal of Ichthyology and Aquatic Biology* 4: 5–34.
- Wellington GM and Victor BC (1989). Planktonic larval duration of one hundred species of Pacific and Atlantic damselfishes (Pomacentridae). *Marine Biology* 101: 557–567.
- Wells BK, Rieman BE, Clayton JL, Horan DL, and Jones CM (2003). Relationships between water, otolith, and scale chemistries of westslope cutthroat trout from the Coeur d' Alene River, Idaho: The potential application of hard-part chemistry to describe movements in freshwater. *Transactions of the American Fisheries Society* 132: 409-424.
- Wilson DT and McCormick MI (1999). Microstructure of settlement-marks in the otoliths of tropical reef fishes. *Marine Biology* 134: 29–410.

- Yamasaki N and Tachihara K (2006). Reproductive biology and morphology of eggs and larvae of *Stiphodon percnopterygionus* (Gobiidae: Sicydiinae) collected from Okinawa Island. *Ichthyological Research* 53: 13-18.
- Yamasaki N and Tachihara K (2006). Reproductive biology and morphology of eggs and larvae of *Stiphodon percnopterygionus* (Gobiidae: Sicydiinae) collected from Okinawa Island. *Ichthyological Research* 53:13–18.
- Yamasaki N, Maeda K, and Tachihara K (2007). Pelagic larval duration and morphology at recruitment of *Stiphodon percnopterygionus* (Gobiidae: Sicydiinae). *The Raffles Bulletin of Zoology Supplement* 14:209–214.
- Yokoi KI and Hosoya K (2006). Early development of the endangered freshwater goby, *Rhinogobius* sp. BI (Gobiidae). *Ichthyological Research* 53: 160–165.
- Zenimoto K, Kitagawa T, Miyazaki S, Sasai Y, Sasaki H, and Kimura S (2009). The effects of seasonal and interannual variability of oceanic structure in the western Pacific North Equatorial Current on larval transport of the Japanese eel *Anguilla japonica*. *Journal of Fish Biology* 74: 1878–1890.
- Zhang Z and Runham NW (1992). Temporal deposition of incremental and discontinuous zones in the otoliths of *Oreochromis niloticus* (L.). *Journal of Fish Biology* 40: 333–340.



Fig.1 External morphology of male and female of amphidromous goby *Sicyopterus lagocephalus* collected in the Tung-Chin River estuary, Lanyu on Sep. 12, 2010. (Male ♂ = 46.16mm TL, Female ♀ = 42.81mm TL)

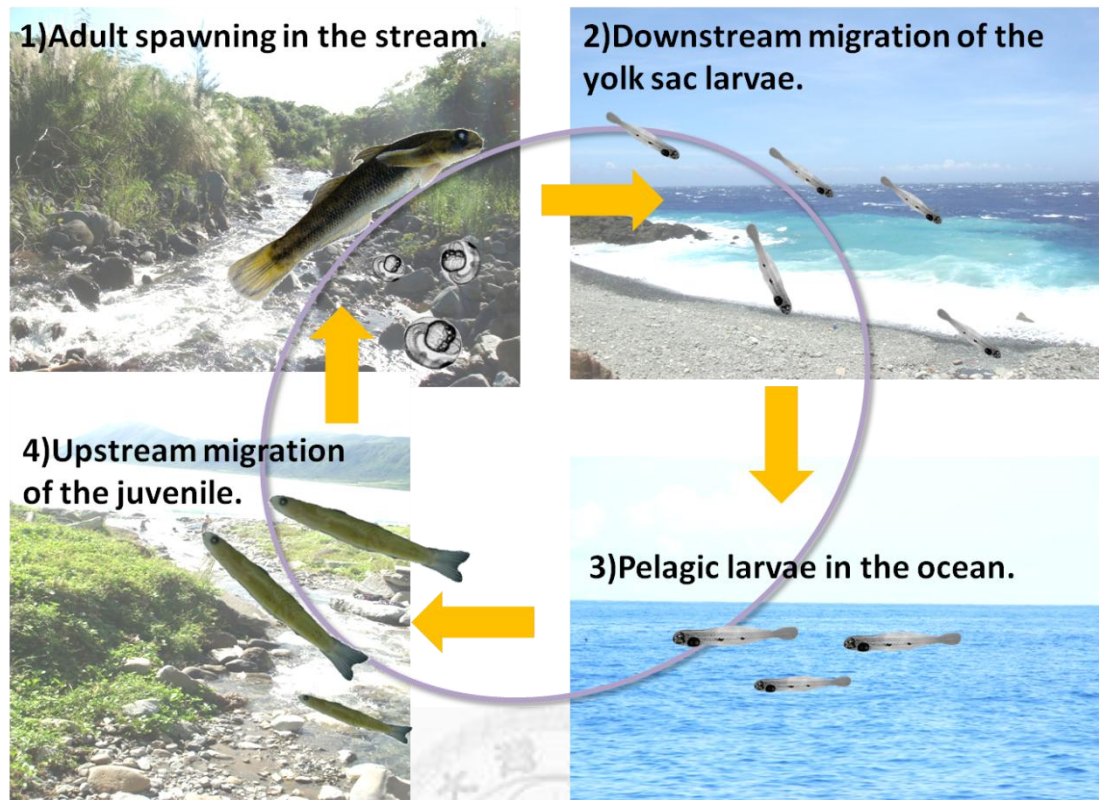


Fig.2 Life cycle of amphidromous goby *Sicyopterus lagocephalus*.

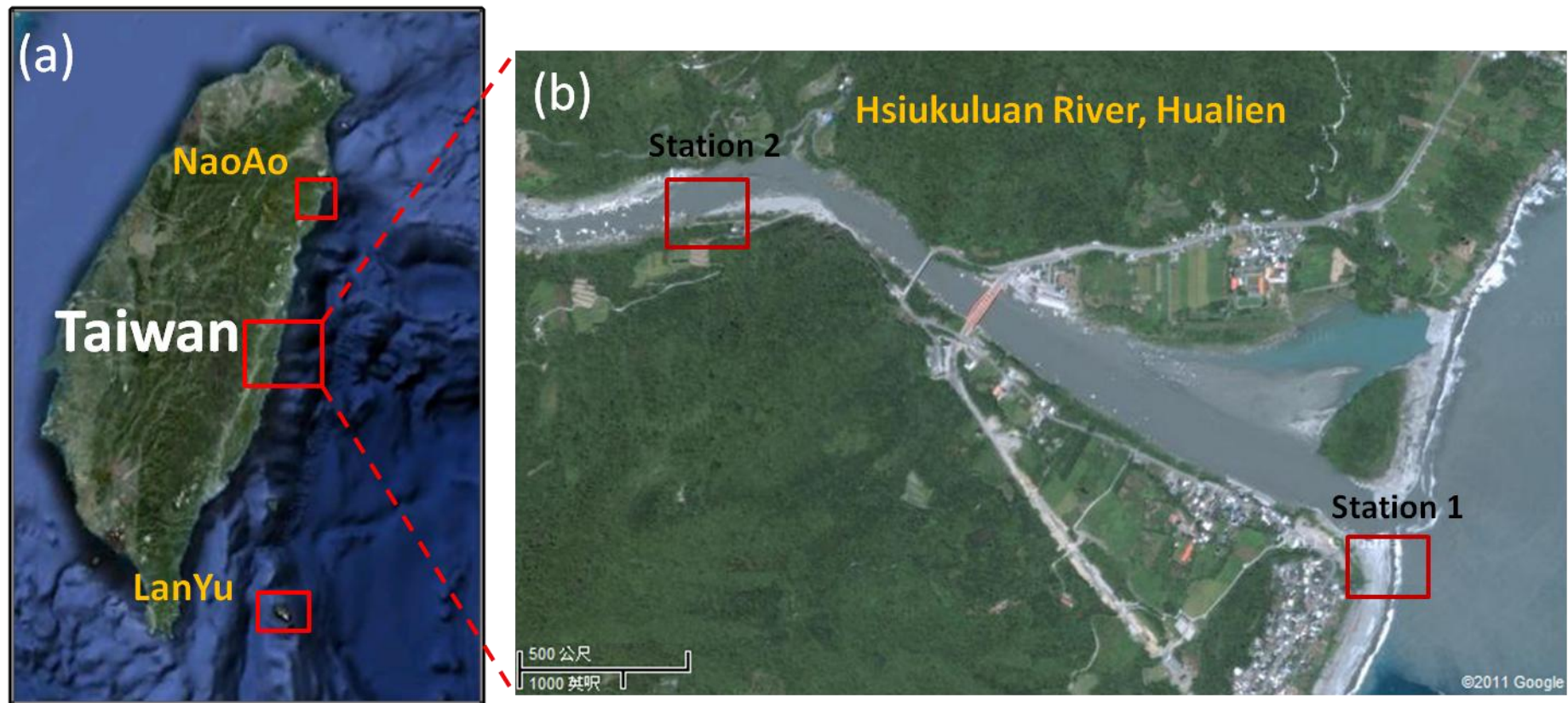


Fig.3 Sampling sites of *S. lagocephalus* collected in three sampling locations in eastern Taiwan (a) and in two stations in the lower reaches of Hsiukuluan River in Hualien (b).

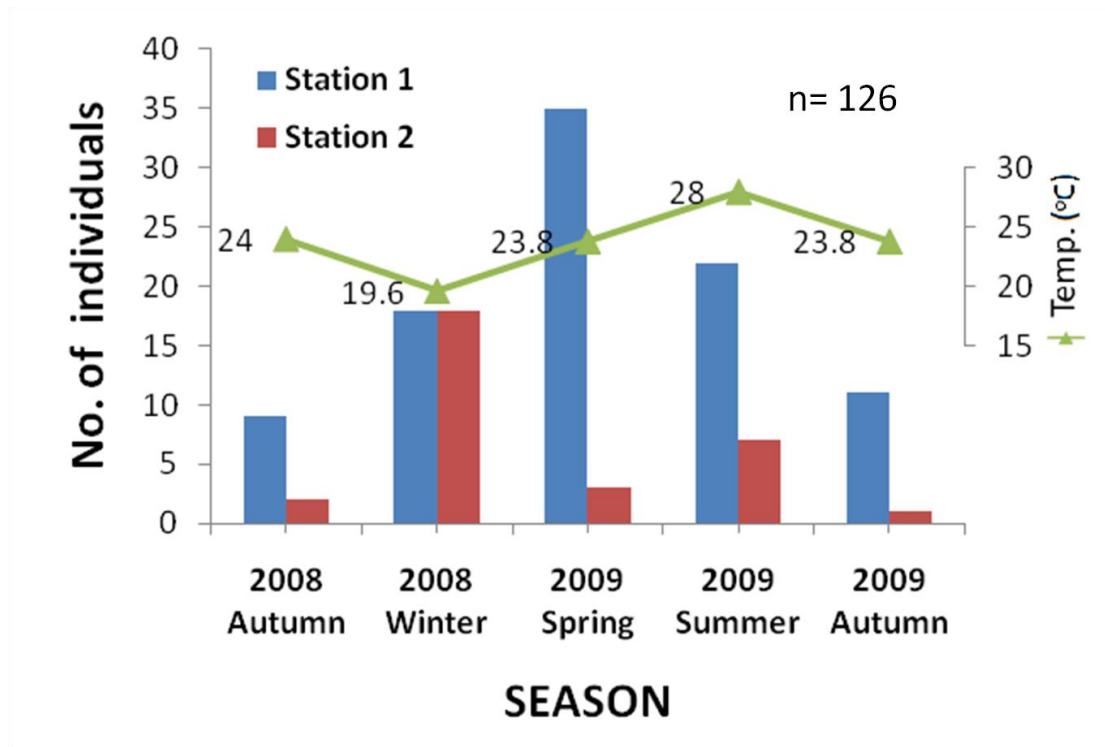


Fig.4 Seasonal changes in numbers of *S. lagocephalus* collected from 2 stations in the lower reaches of Hsiukuluan River and water temperature. n = sample size.

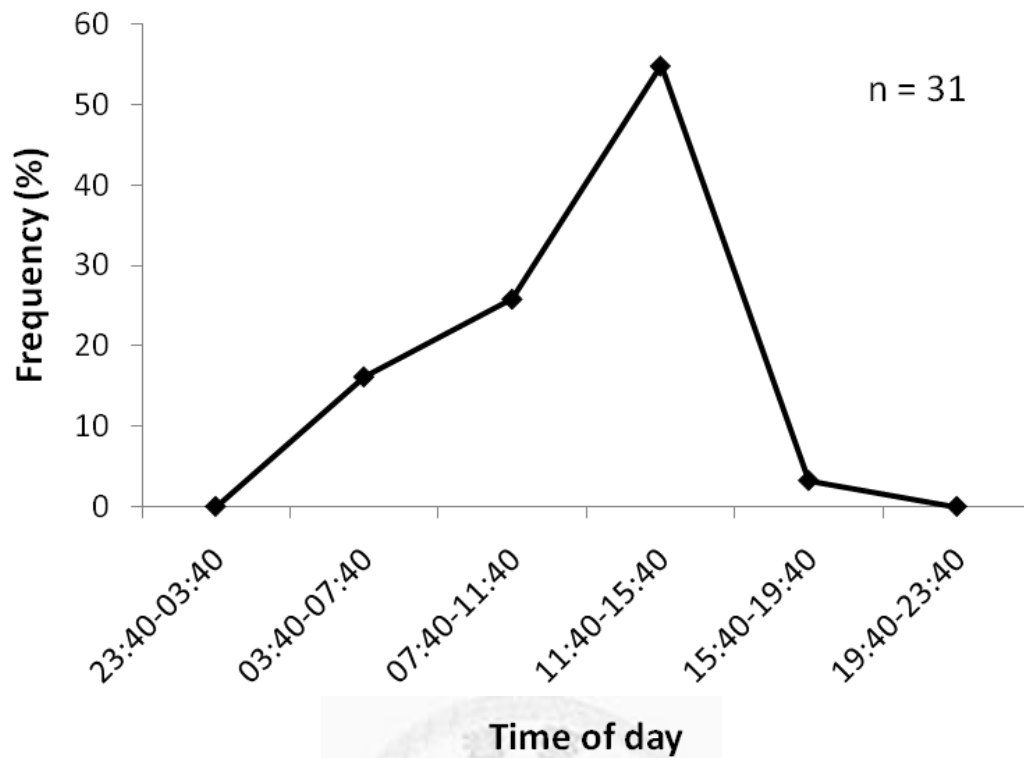


Fig.5 Diel change in the number of recruiting individuals collected every 4 hours a day in Station 2 in the lower reaches of Hsiukuluan River during the period from Oct. 25, 2008 to Oct. 20, 2009.
n = sample size.

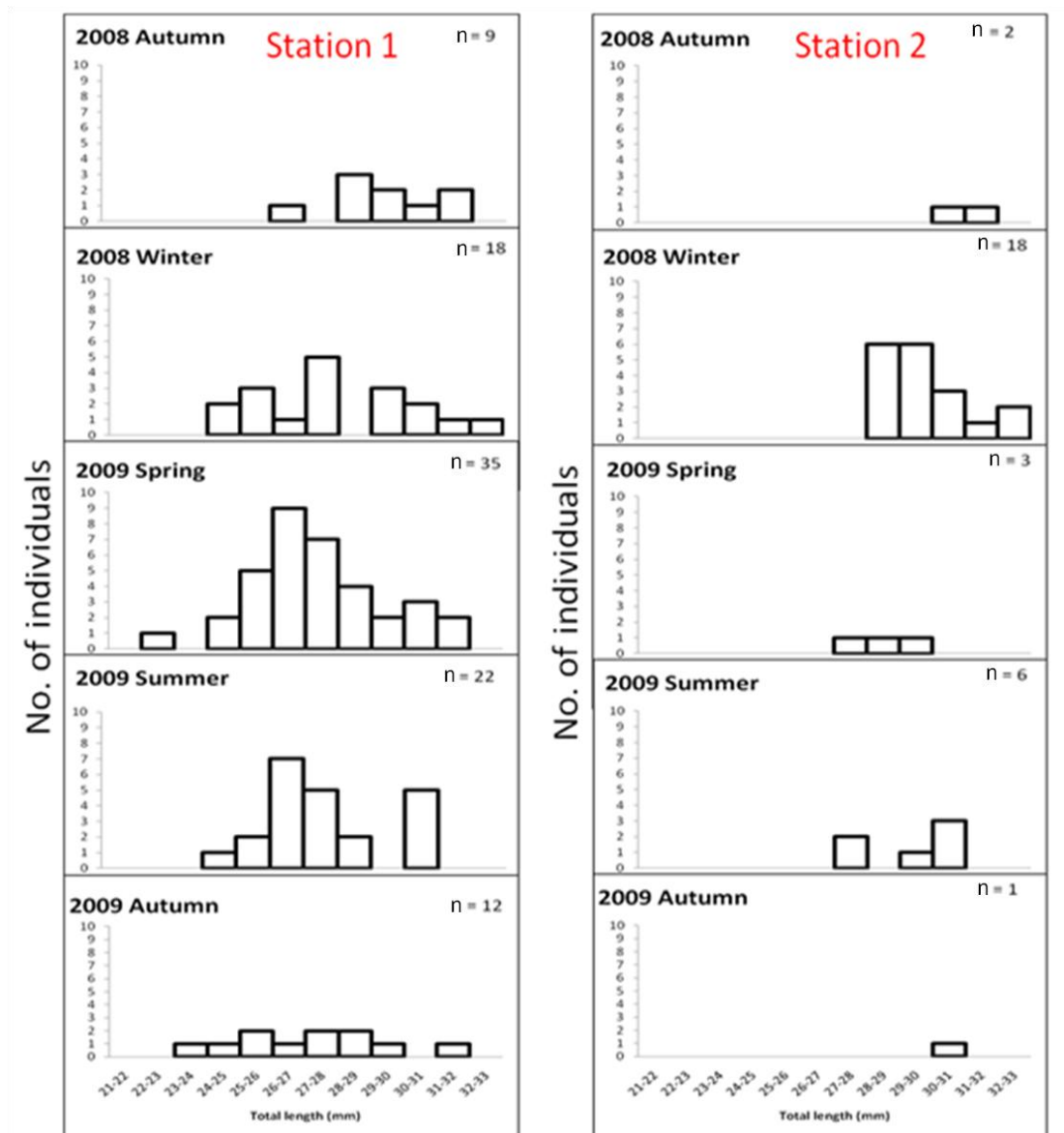


Fig.6 Length-frequency distribution of the larval and juvenile individuals of *S. lagocephalus* collected from 2 stations in the lower reaches of Hsiukuluan River during the period from Oct. 29, 2008 to Sep. 23, 2009. n = sample size.

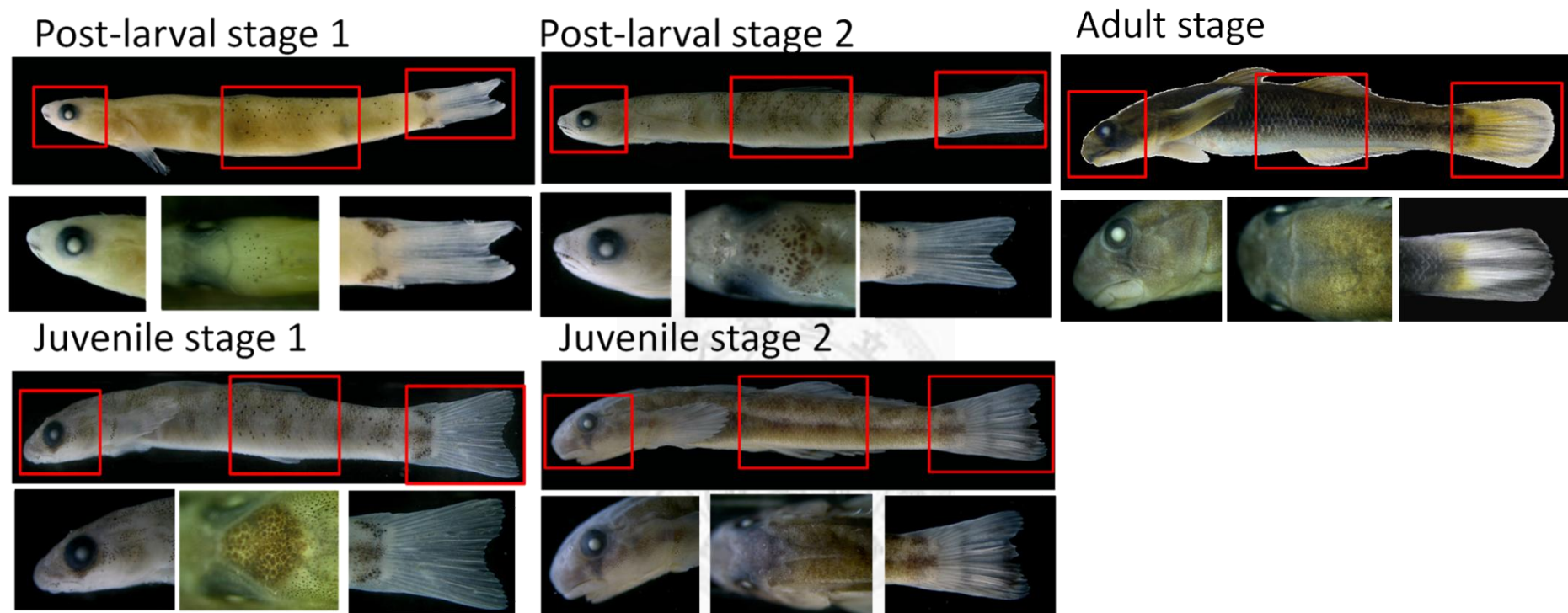


Fig.7 Changes of external morphology of *S. lagocephalus* from post larvae (PL1, PL2) through juveniles (J1, J2) until adult.

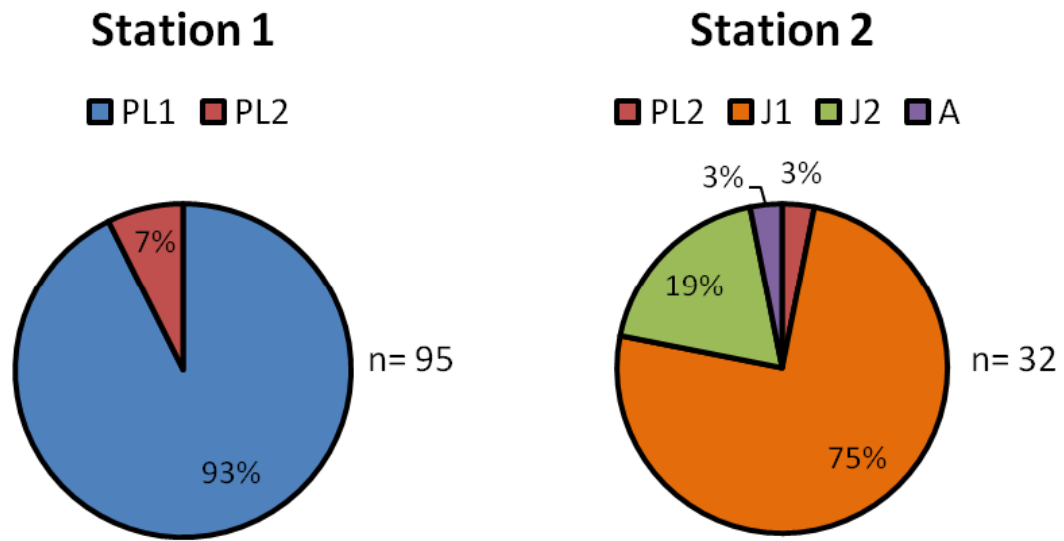


Fig.8 Developmental stages composition of *S. lagocephalus* collected from two stations in the lower reaches of Hsiukuluan River during the period from Oct. 25, 2008 to Oct. 20, 2009. PL1, PL2, J1, J2 refer to Fig.7. n= sample size.

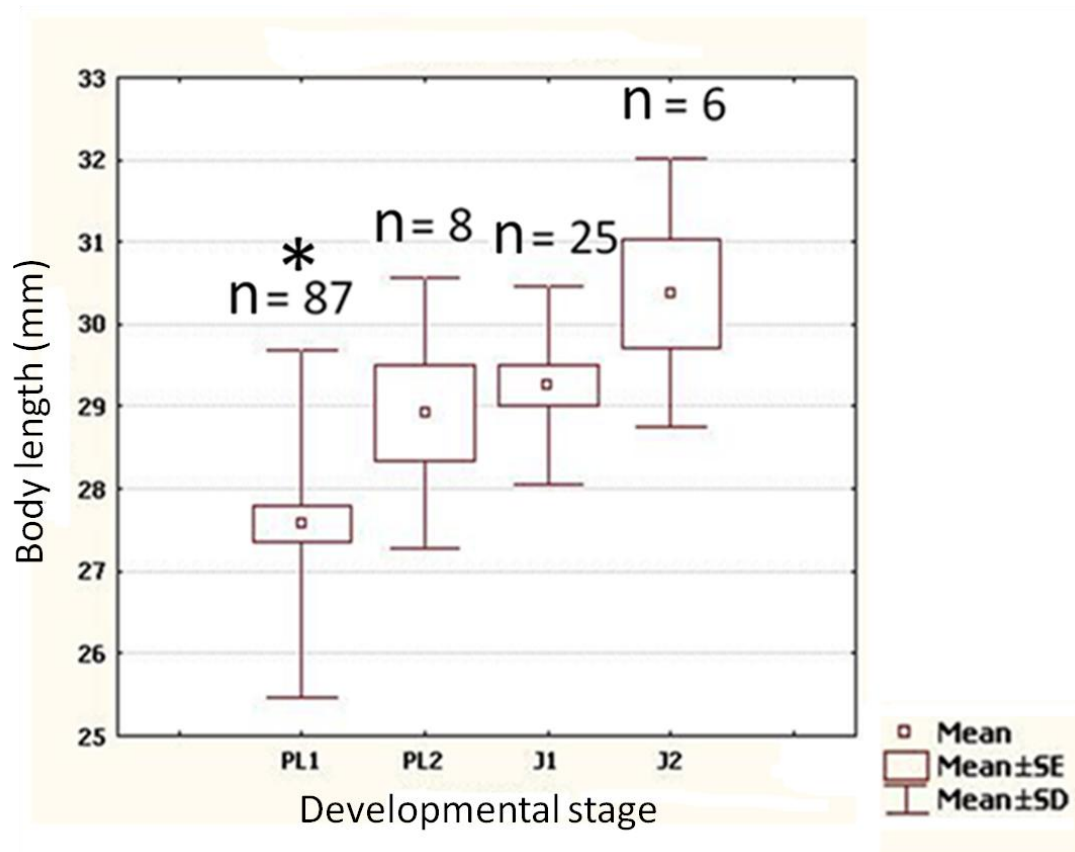


Fig.9 Changes in mean total body length of *S. lagoccephalus* during metamorphosis from post larva to juvenile stages. PL1, PL2, J1, J2 refer to Fig.7. Asterisk (*) indicates significant difference from other three stages ($p < 0.05$). n = sample size.

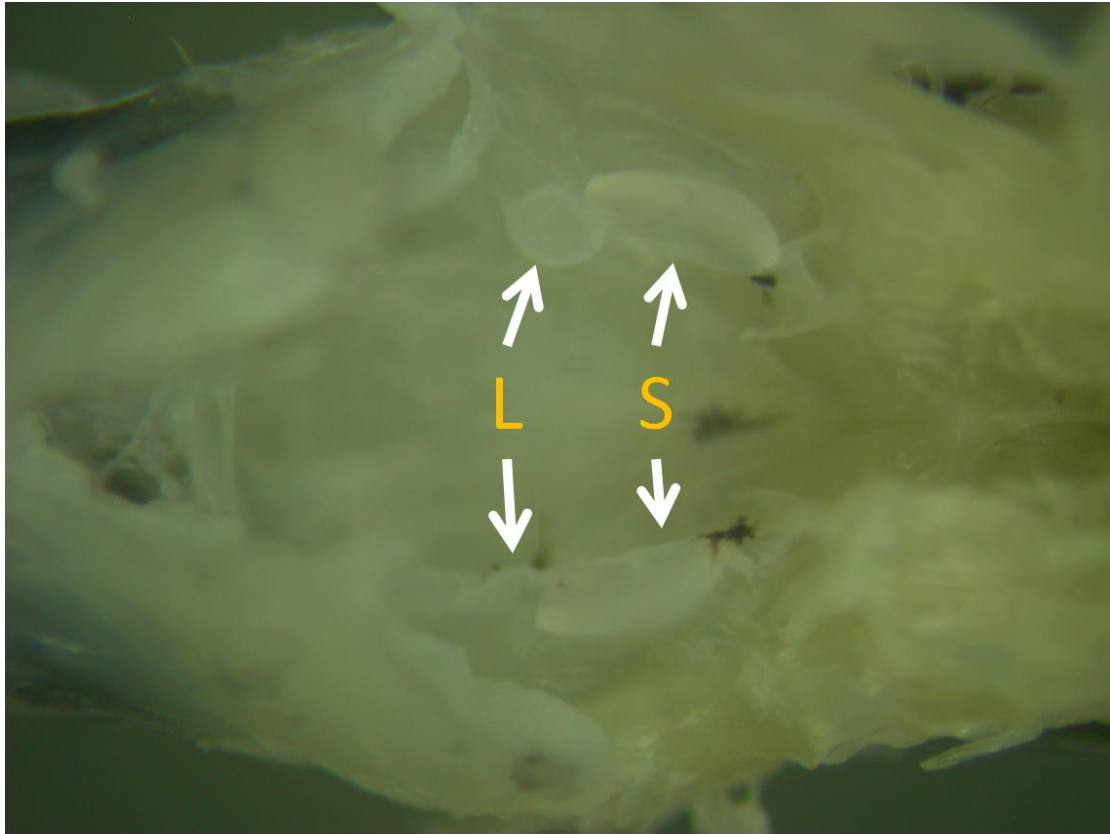


Fig.10 Horizontal section of the head showing the internal and external faces of sagittal otoliths of *S. lagocephalus* (25.9 mmTL, PL1 stage) collected in Hsiukuluan River on May. 25, 2009.

S = Sagitta, L = Lapillus.

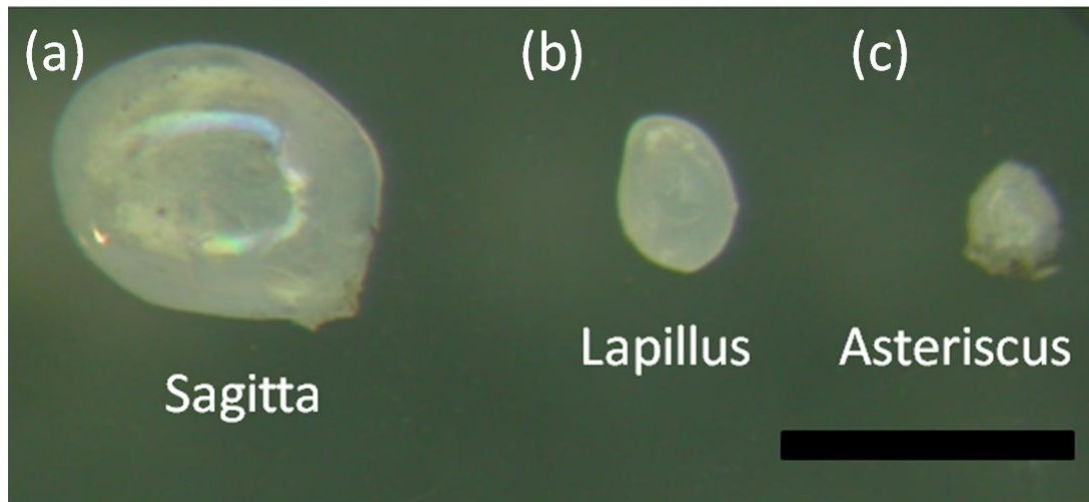


Fig.11 Size and morphology of the 3 pairs of otoliths, Sagitta (a), Lapillus (b), and Asteriscus (c).

Scale bar = 500 μm .



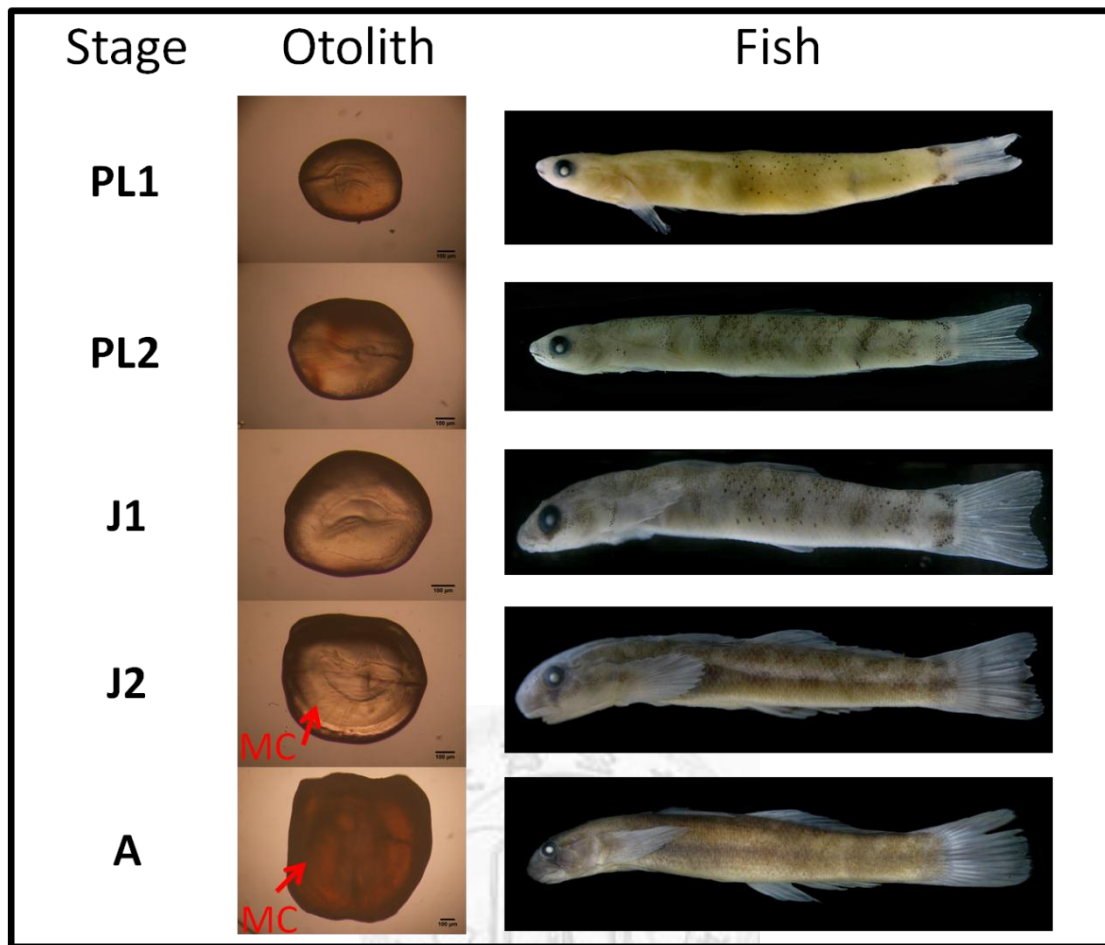


Fig.12 Changes of otolith morphology and external morphology from post larval (PL) to adult (A) stages of *S. lagocephalus* collected in Hsiukuluan River. MC = metamorphosis check, A = anterior, D = dorsal, V = ventral, P = posterior.

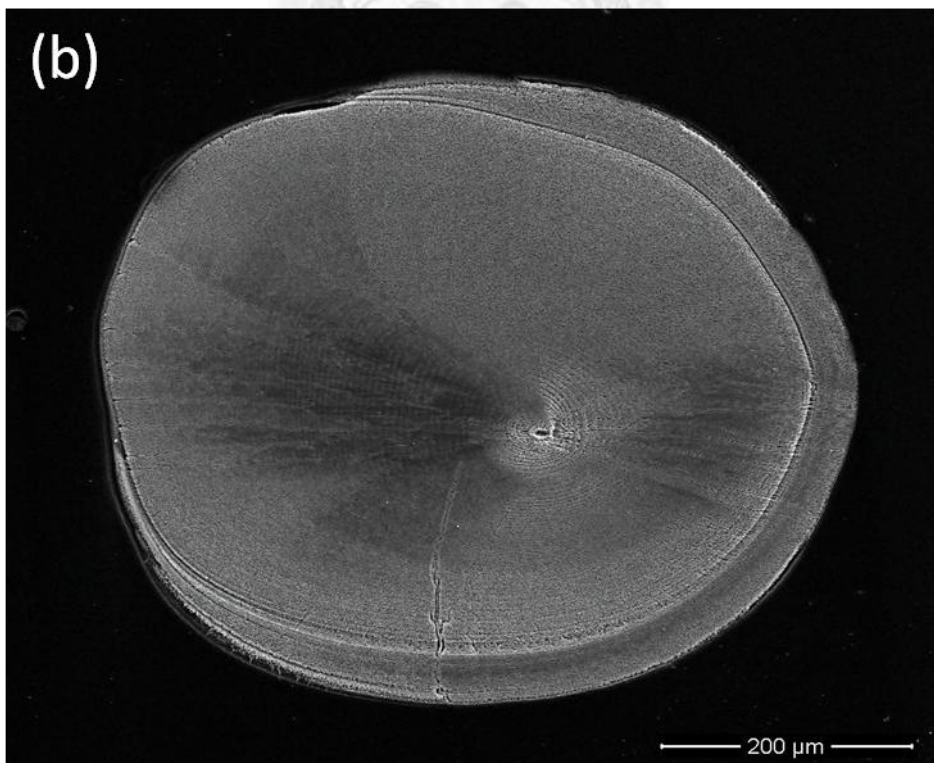
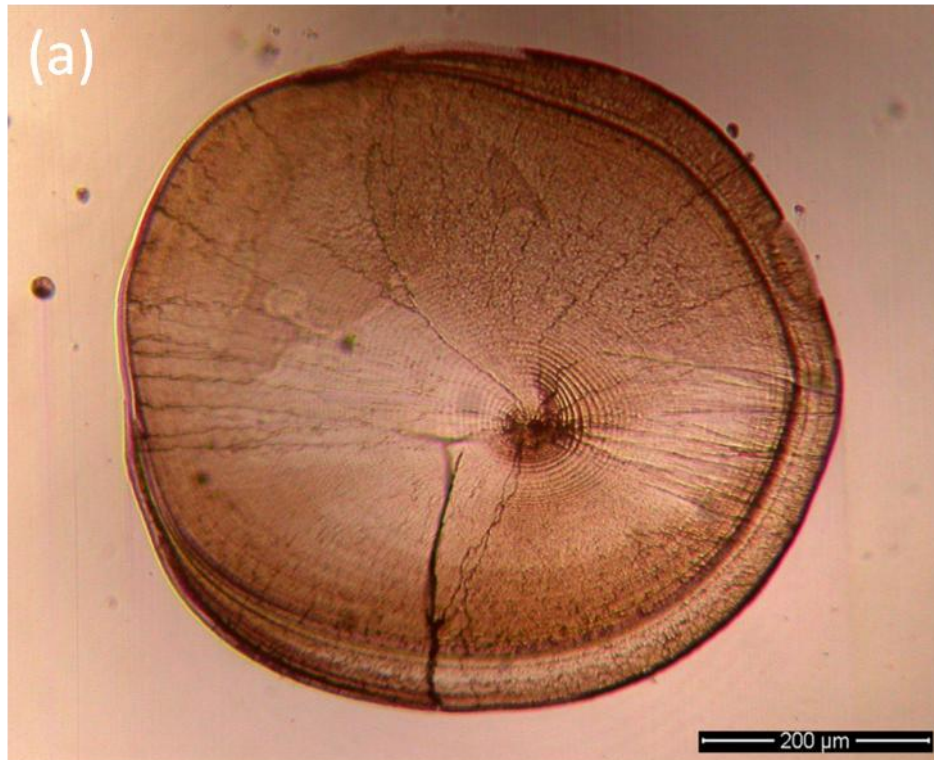


Fig.13 Otolith microstructure observed in the light microscopy (a) and scanning electron microscope (SEM) (b). Scale bar = 200 μm .

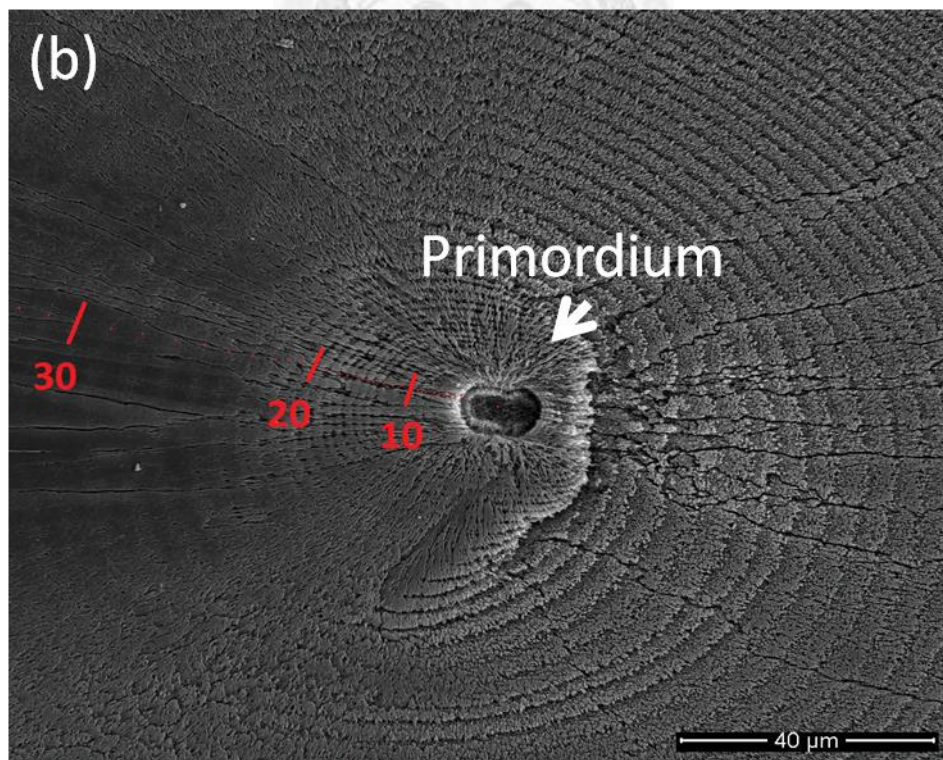
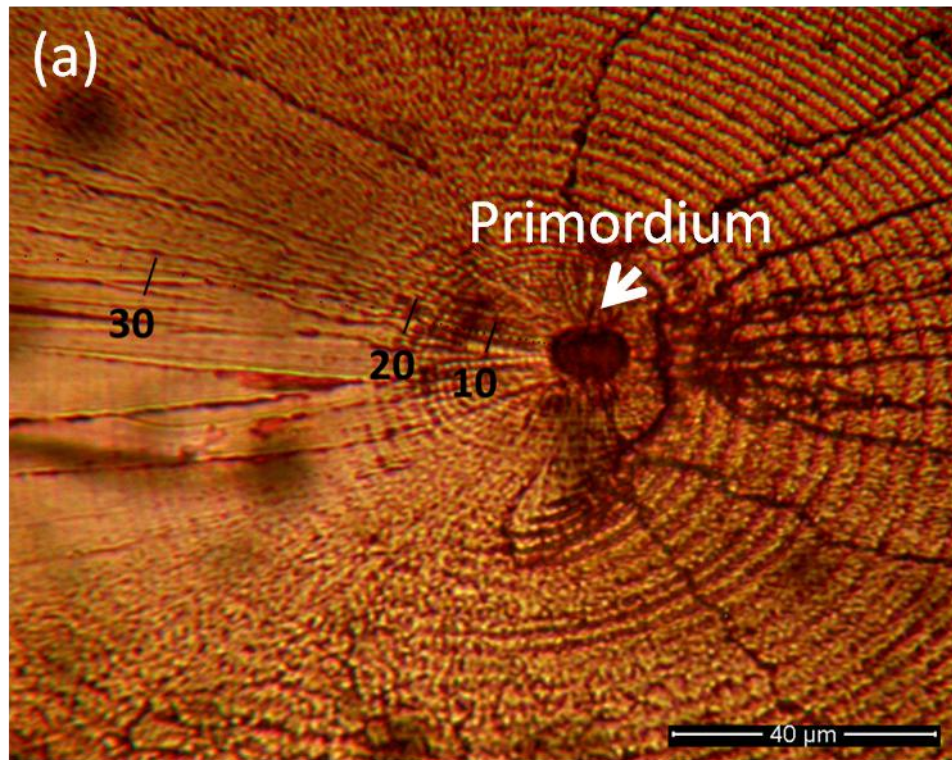


Fig.14 Otolith primordium and daily growth increments counted in light microscopy (a) and SEM (b). Scale bar = 40 μm .

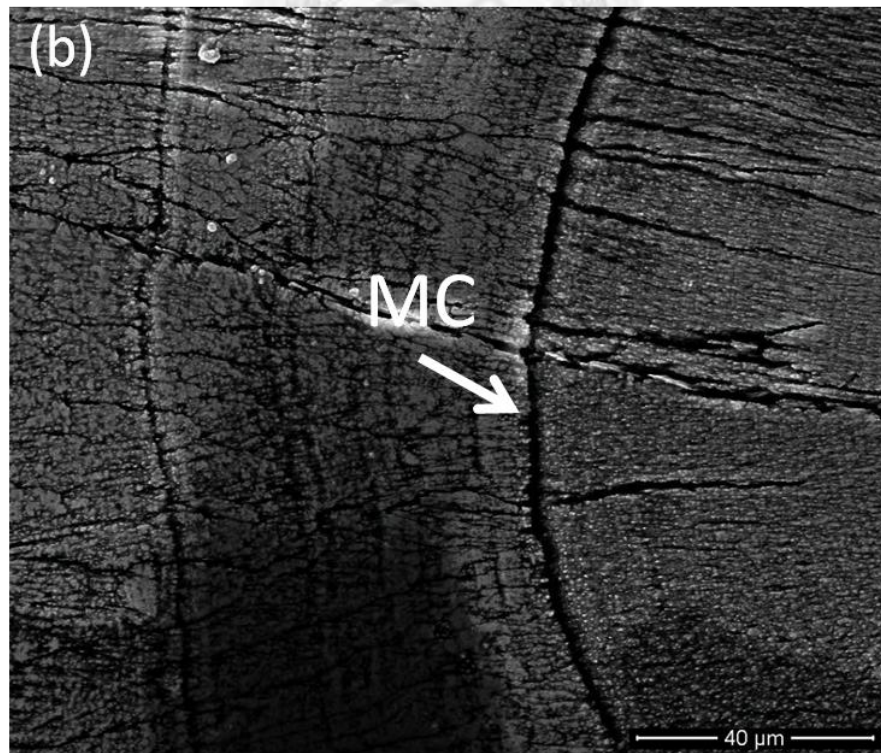
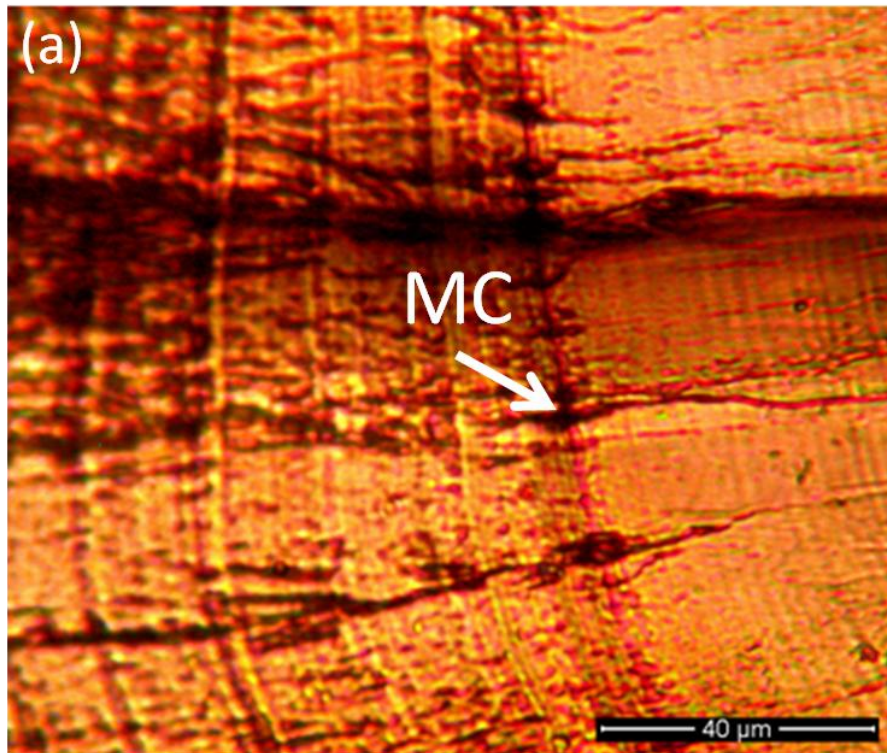


Fig.15 Otolith metamorphosis check (MC) shown in light microscopy (a) and SEM (b). Scale bar = 40 μm .

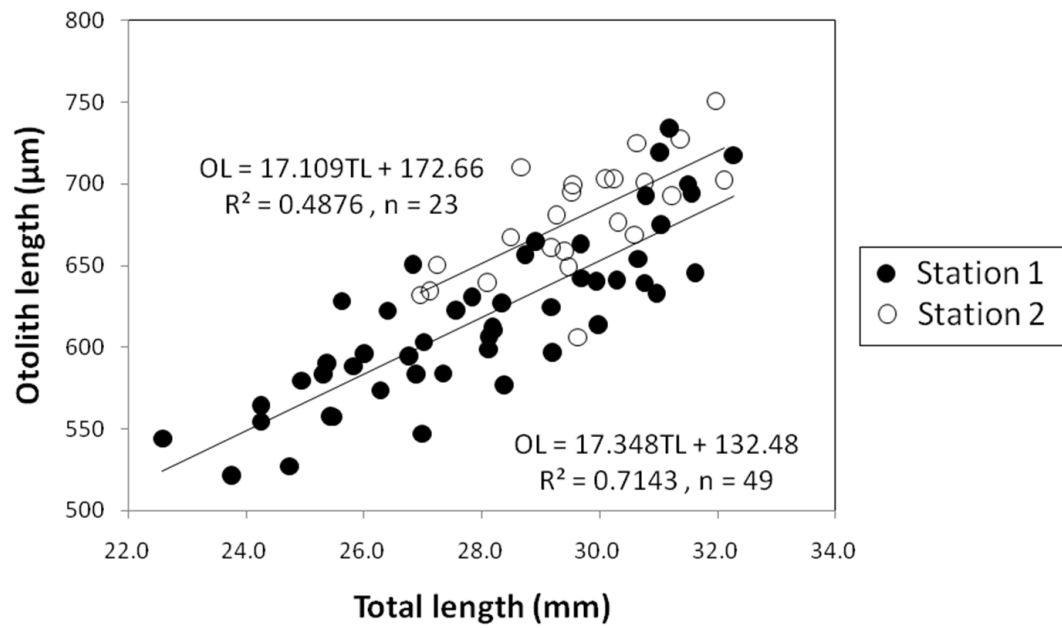


Fig.16 Relationship between otolith length (OL) and total length (TL) of *S. lagocephalus* collected from the 2 stations in the lower reaches of Hsiukuluan River during the period from Oct. 25, 2008 to Oct. 20, 2009. n = sample size.

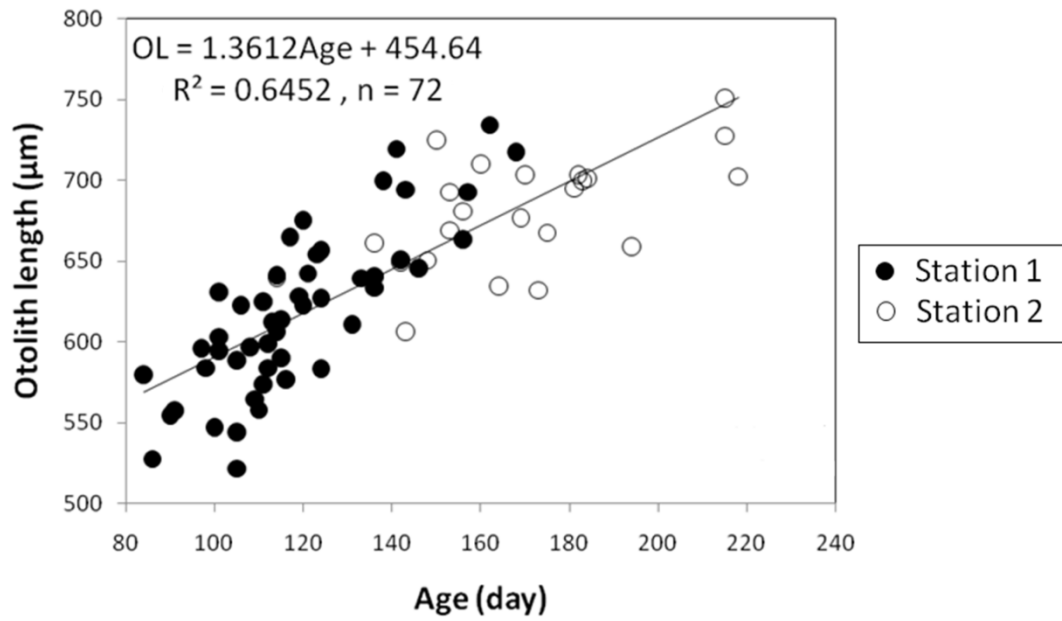


Fig.17 Otolith growth as indicated by the relationship between otolith length (OL) and daily age of *S. lagocephalus* collected from the 2 stations in the lower reaches of Hsiukuluan River during the period from Oct. 25, 2008 to Oct. 20, 2009. n = sample size.

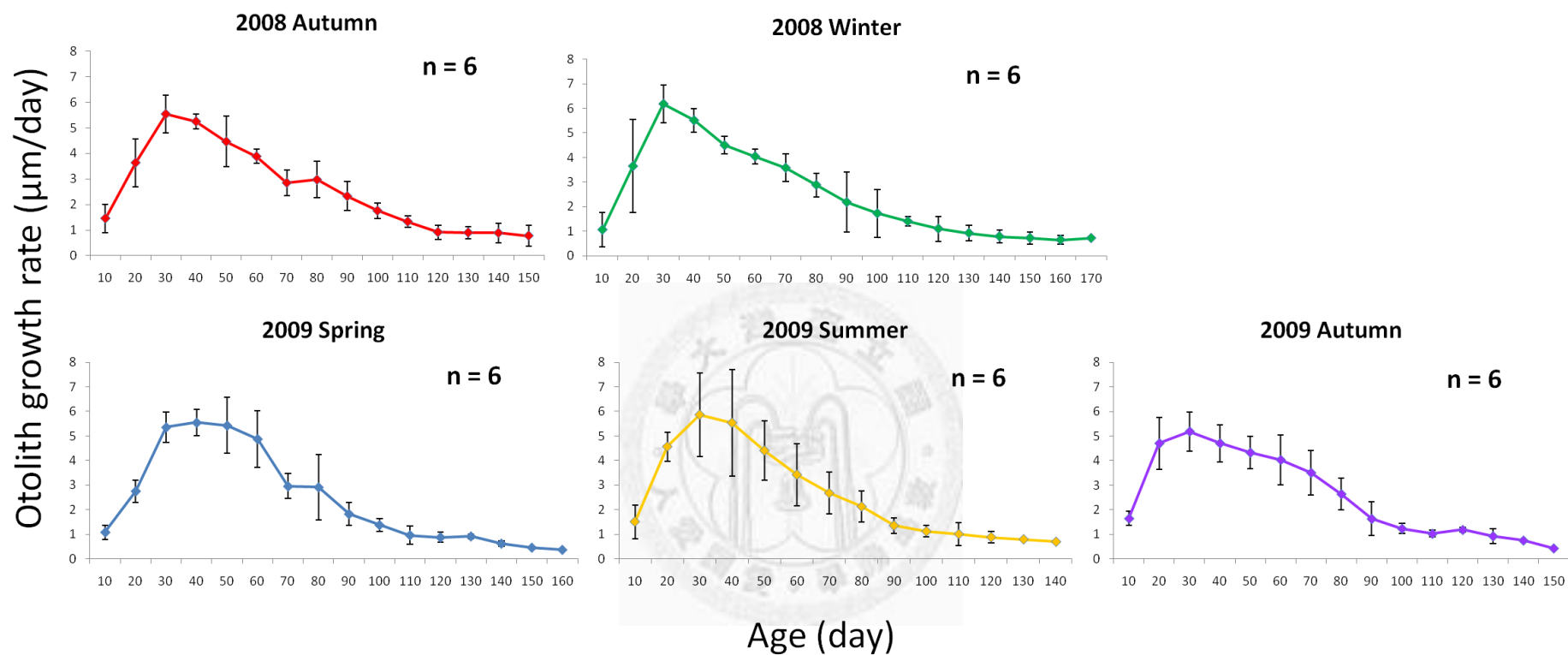


Fig.18 Ontogenetic changes in otolith growth rate ($\mu\text{m/day}$) in the early stage of *S. lagocephalus* by seasons.

n = sample size.

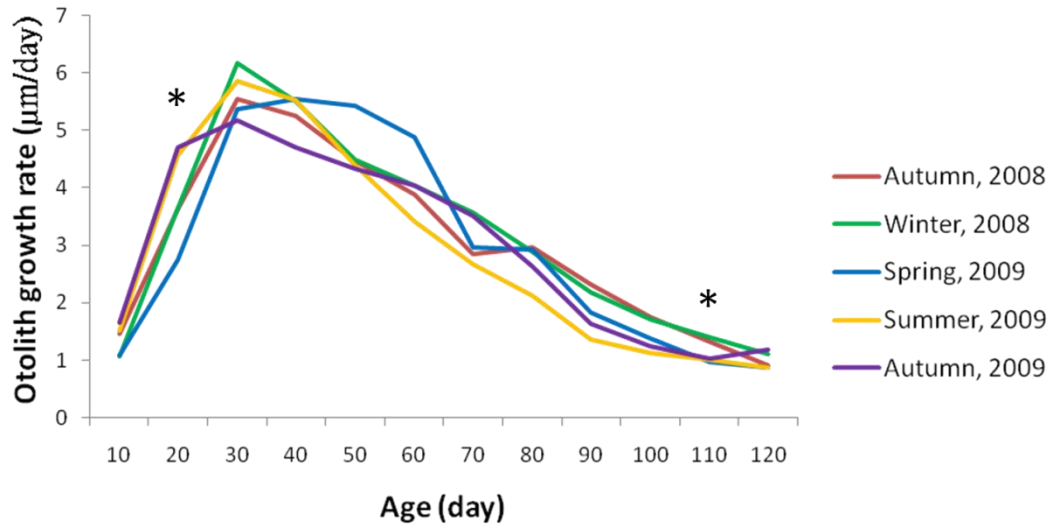
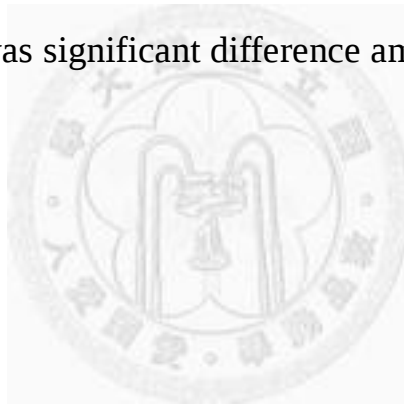


Fig.19 Comparison of otolith growth rate ($\mu\text{m/day}$) of *S. lagocephalus* collected among seasons. Asterisk (*) indicates that the growth rate of otolith was significant difference among seasons ($p < 0.05$).



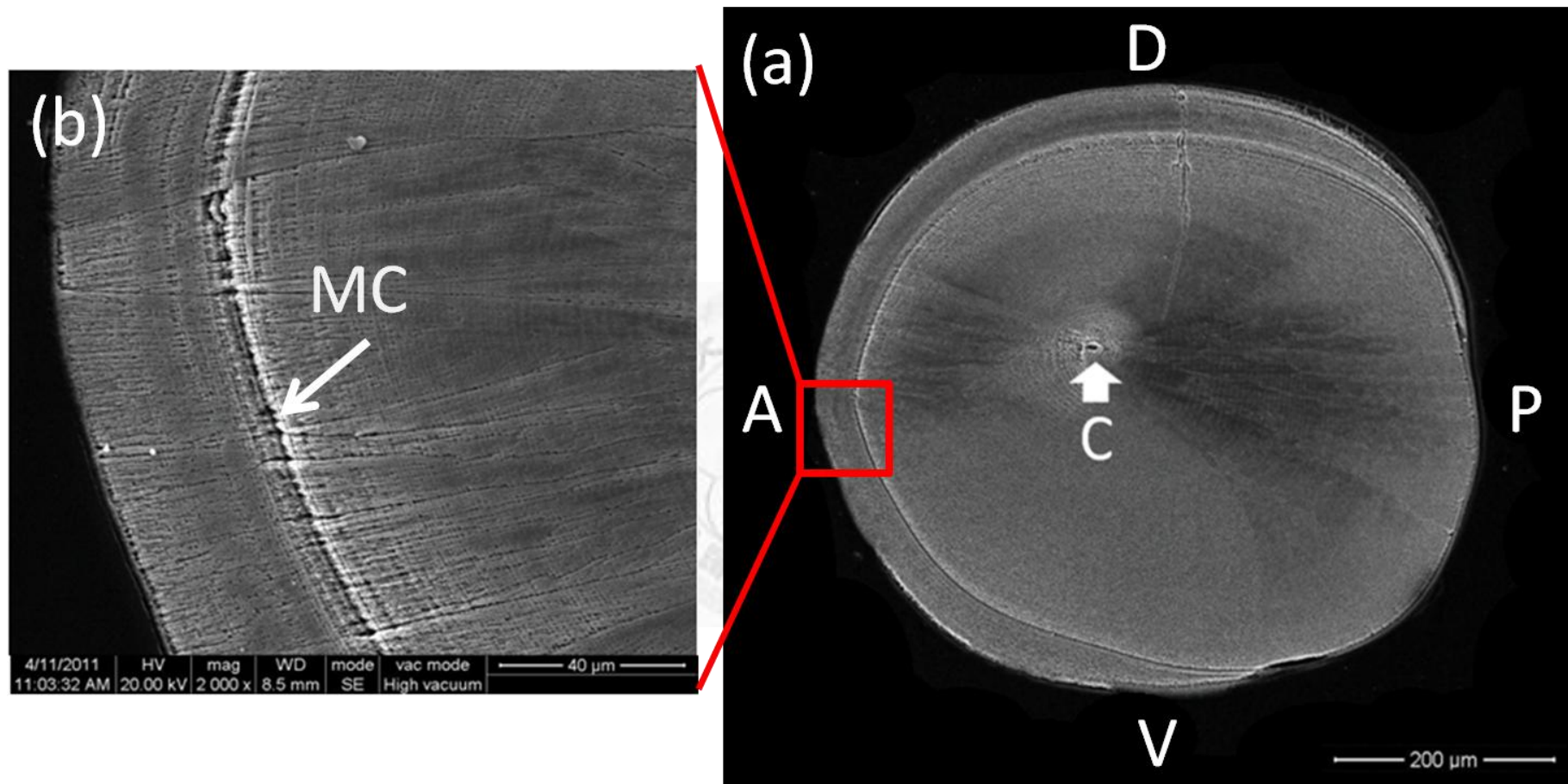


Fig.20. Asymmetrical growth (a) of the otolith of *S. lagocephalus* as indicated by the appearance of metamorphosis check (MC) (b). C = core (otolith primordium), A=anterior, D=dorsal, V=ventral, P=posterior.

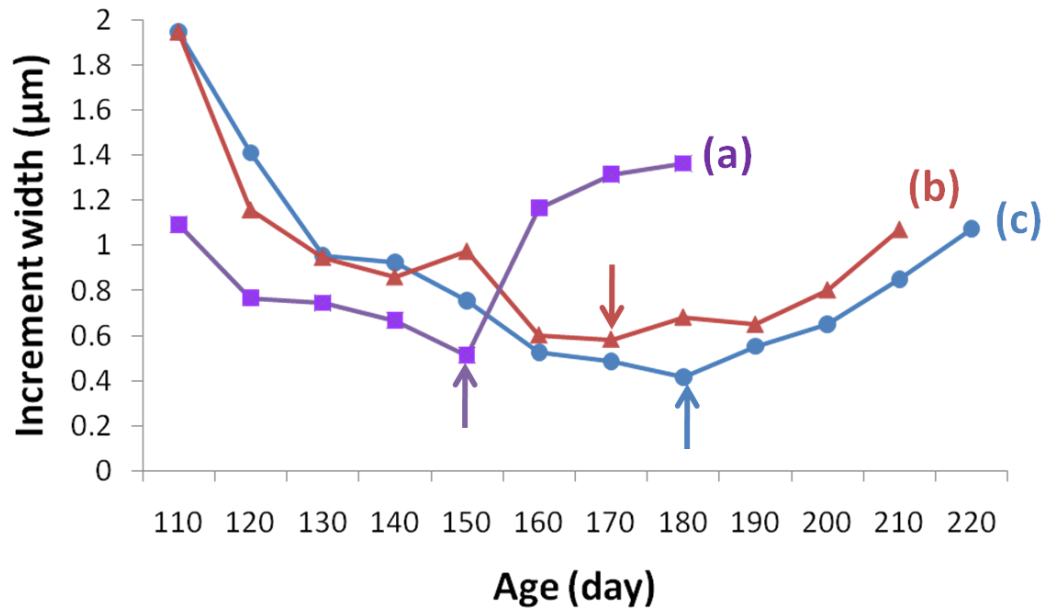


Fig.21 Drastic changes of mean increment widths in the otoliths of the 3 *S. lagocephalus* collected in lower reaches of Hsiukuluan River. The mean width during metamorphosis was calculated for every 10 increments. (a) 32.1mmTL fish, (b) 31.4mmTL fish, and (c) 37mmTL fish collected on Dec. 24, 2008. Arrows indicate the position of metamorphosis check (MC).

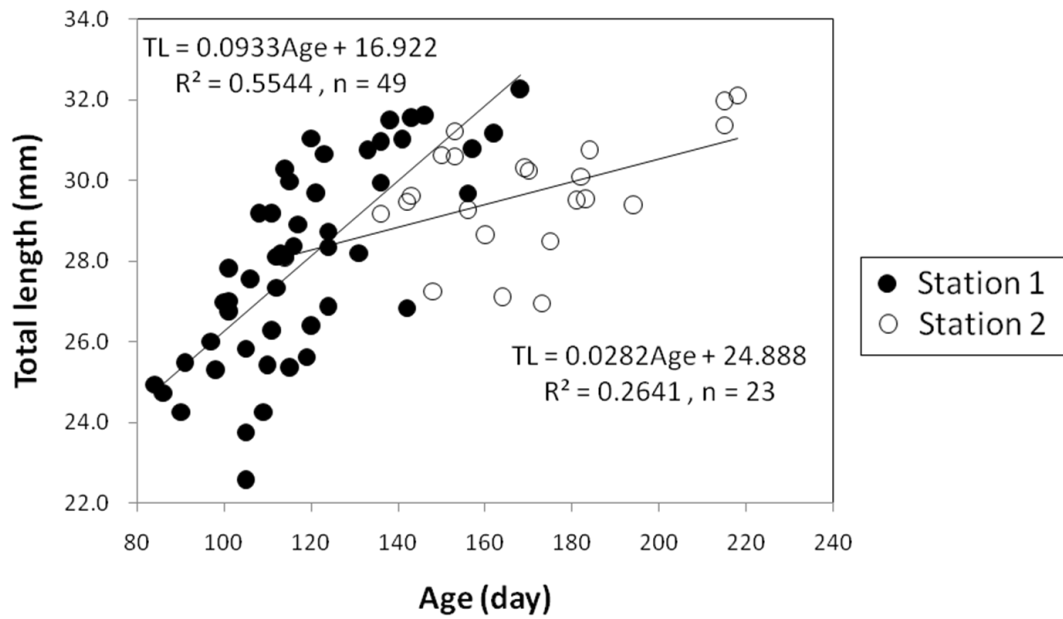


Fig.22 Relationship between total length (TL) and daily age (day) of *S. lagocephalus* collected from the 2 stations in the lower reaches of Hsiukuluan River during the period from Oct. 25, 2008 to Oct. 20, 2009. n = sample size.

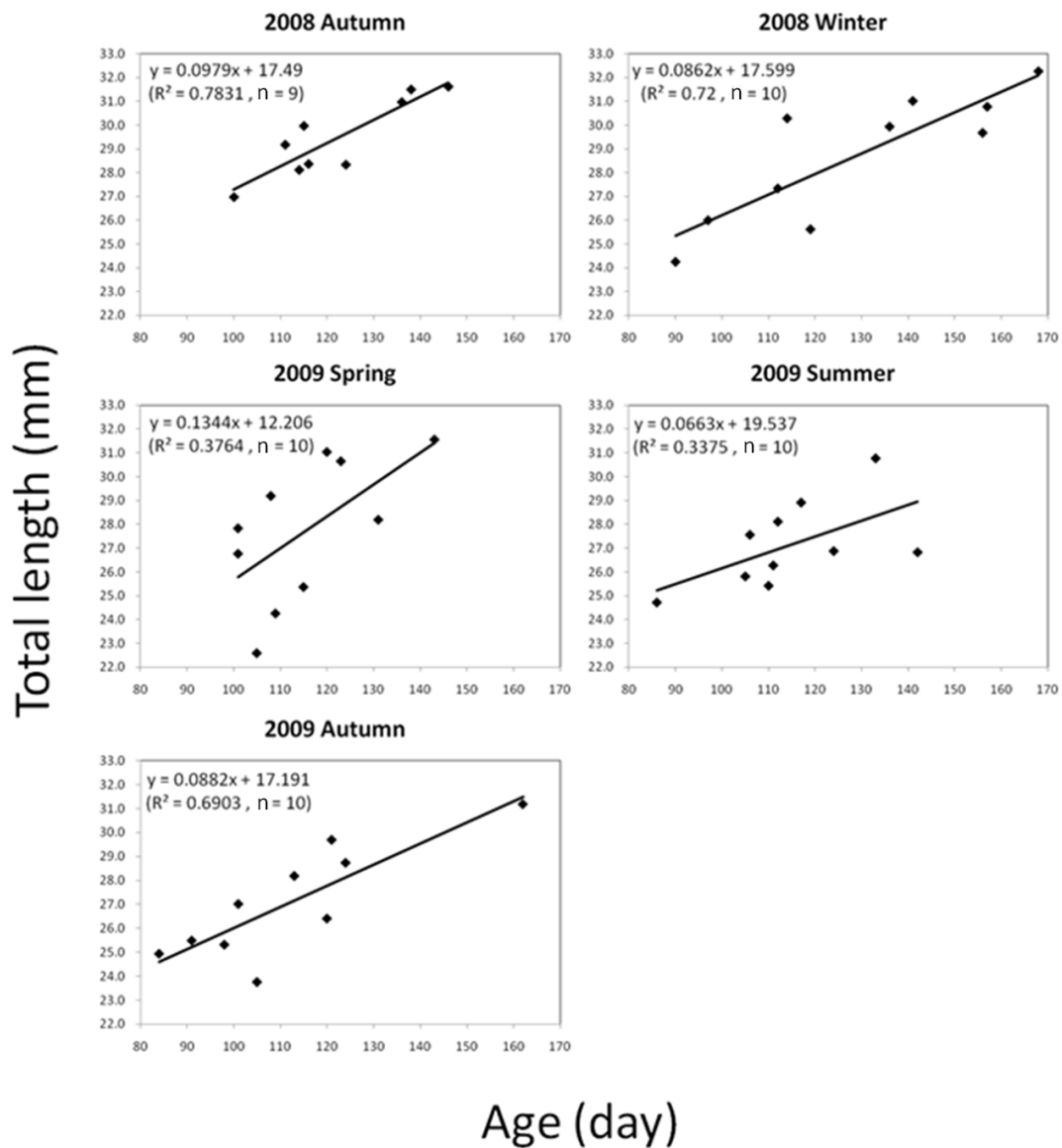


Fig.23 Relationship between total length and daily age of *S. lagocephalus* collected from station 1 of Hsiukuluan River estuary among different seasons. n = sample size.

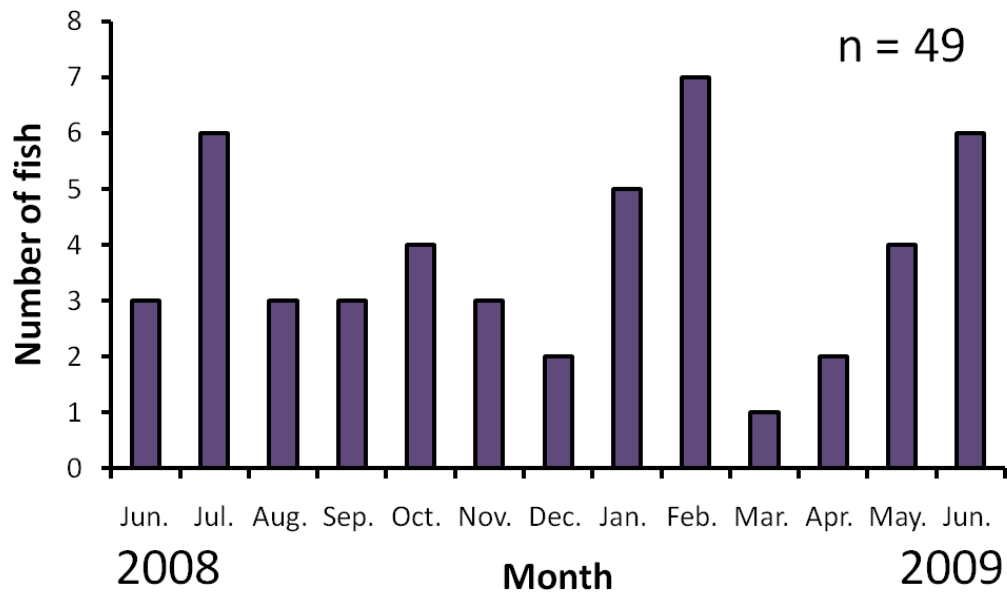


Fig.24 Distribution of back-calculated hatching dates of post-larval *S. lagocephalus* collected from the station 1 in the estuary of Hsiukuluan River during the period from Oct.25, 2008 to Oct. 20,2009.

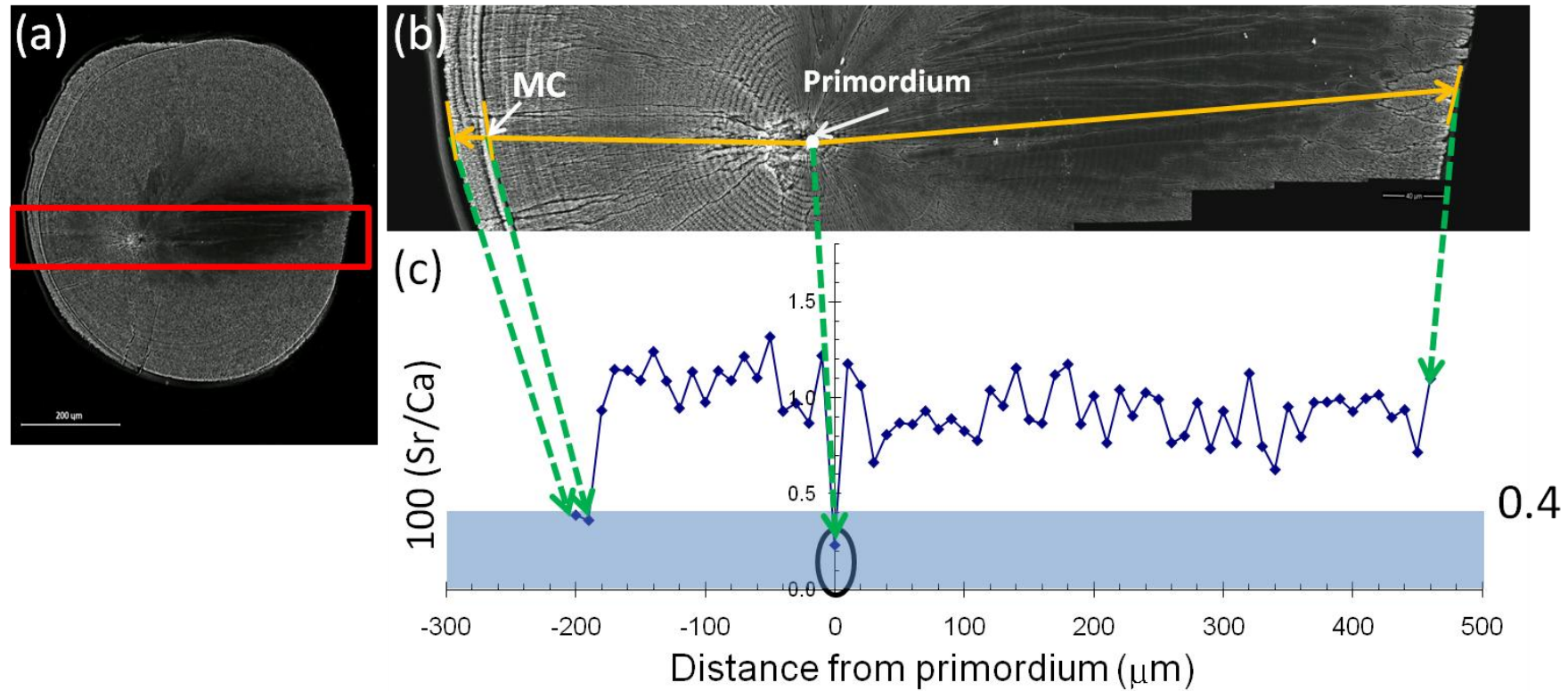


Fig.25 Temporal changes of Sr/Ca ratios from the anterior edge through primordium to the posterior edge of the otolith of *S. lagocephalus* collected from the station 2 of Hsiukuluan River. Otolith length = 750.71μm. (a) Sagittal section of the otolith, (b) magnified from (a), and (c) Sr/Ca ratios. 0.4 represents the boundary between fresh and sea water. MC = metamorphosis check.

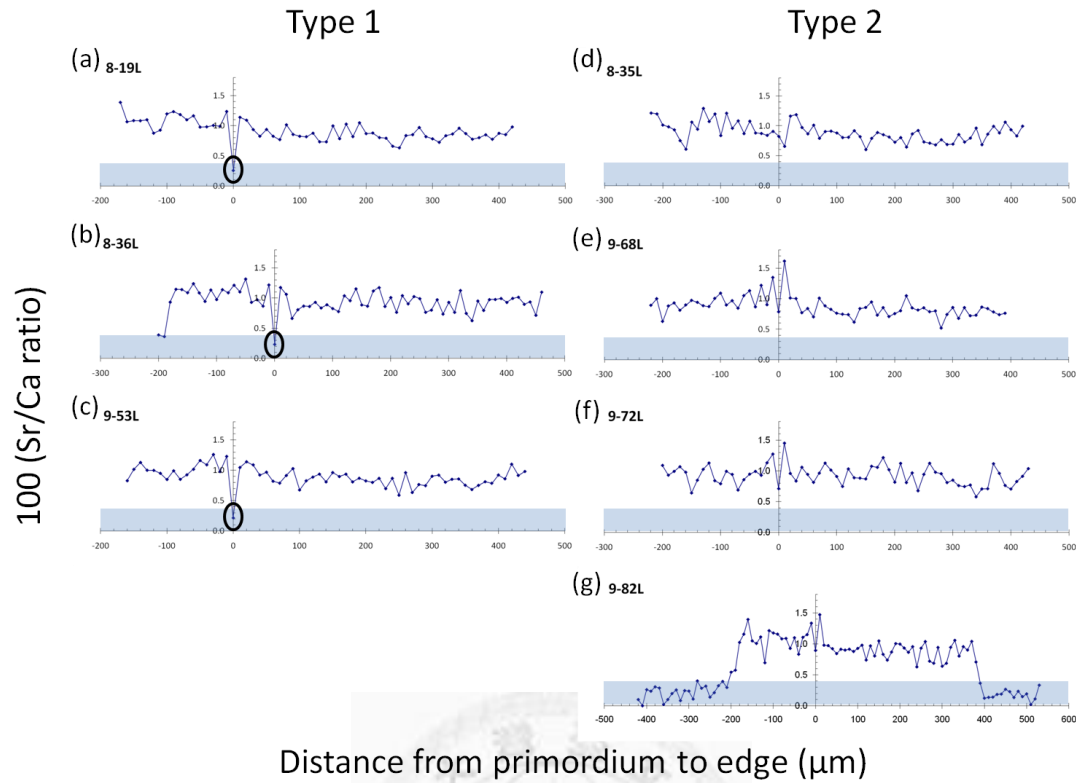


Fig.26 Two types of Sr/Ca ratios in the primordium of otoliths of *S. lagocephalus* collected in the station 2 in the lower reaches of Hsiukuluan River. Light blue areas indicate the boundary of Sr/Ca ratios between seawater and freshwater.

Type 1 (a, b, c) : Lower Sr/Ca ratios in the primordium.

Type 2 (d, e, f, g) : Higher Sr/Ca ratios in the primordium.

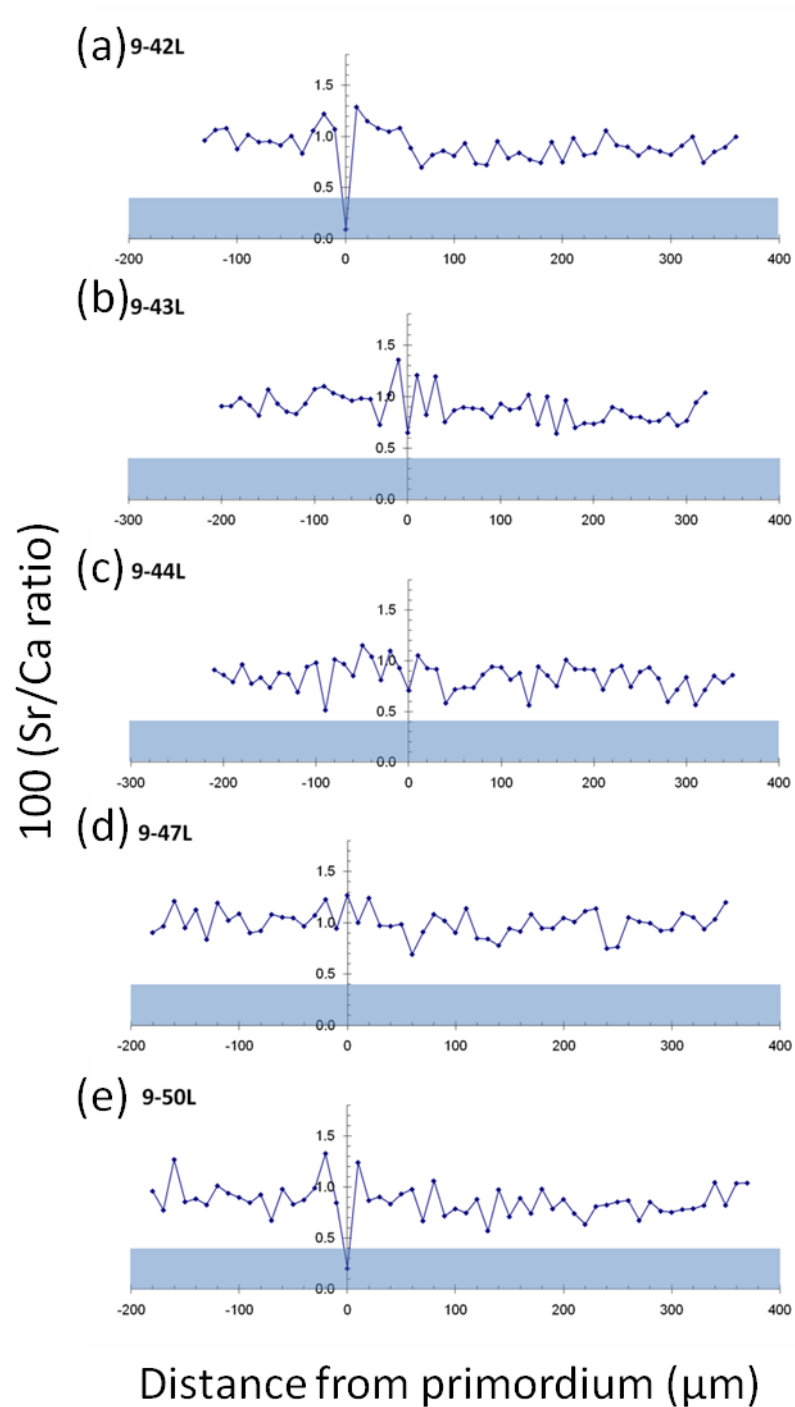


Fig.27 Temporal changes of otolith Sr/Ca ratios from the edge through primordium to the other edge of *S. lagocephalus* collected in the station 1 in the estuary of Hsiukuluan River.

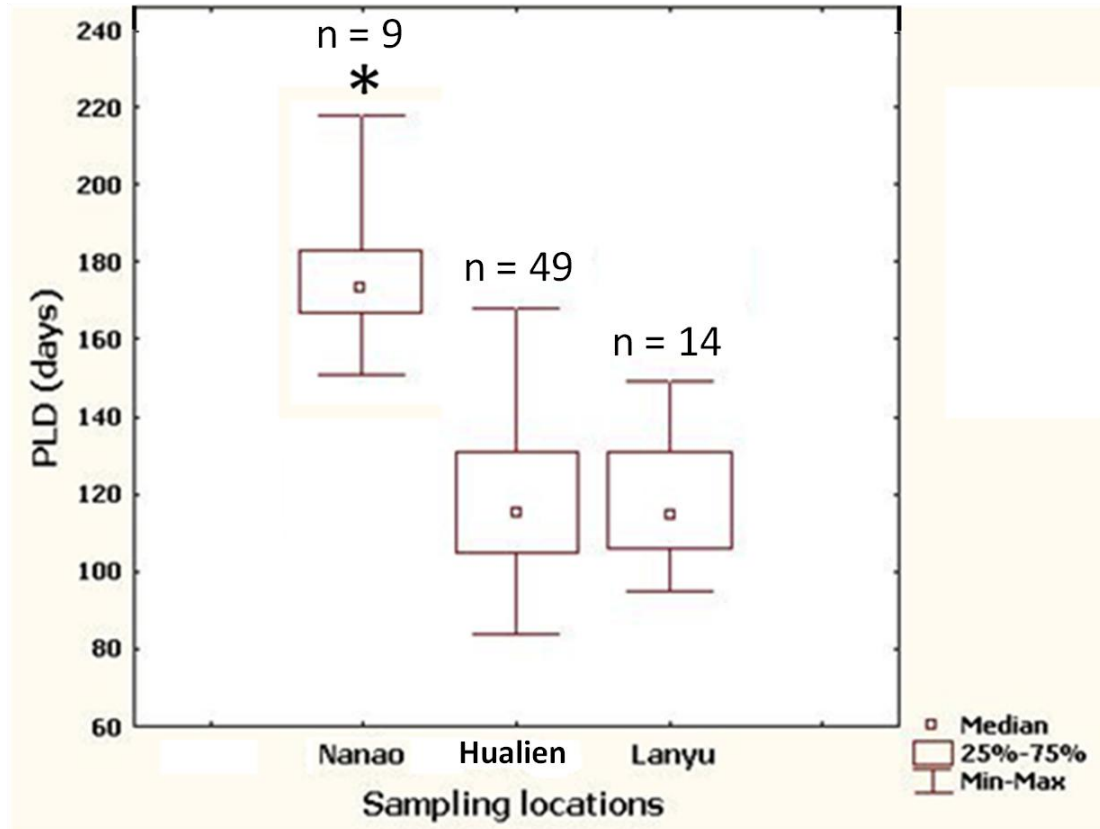


Fig.28 Comparison of the length of pelagic larval duration (PLD) of *S. lagocephalus* among three sampling locations along eastern Taiwan. Asterisk (*) indicates significant difference ($p < 0.05$).
n = sample size.

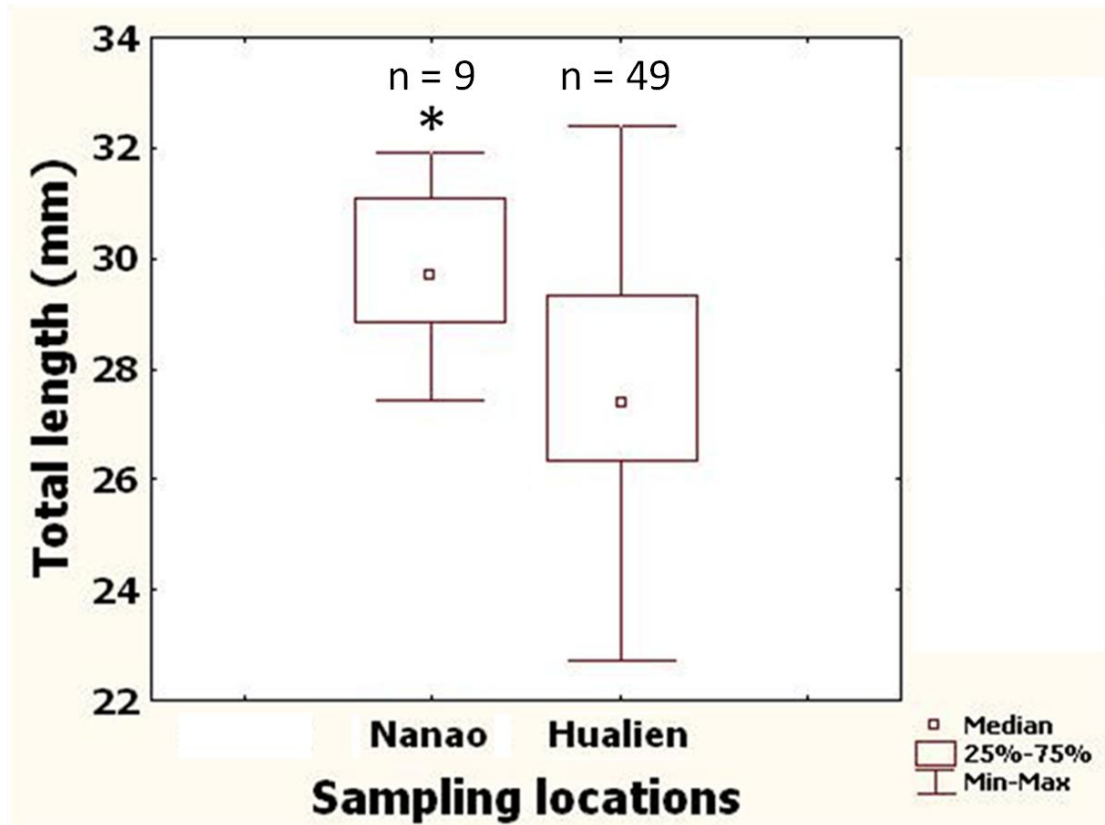


Fig.29 Comparison of the total length in post-larval *S. lagocephalus* collected from Nanao and Hualien. Asterisk (*) indicates significant difference ($p < 0.05$). n = sample size.

Table 1. Sampling information for *S. lagocephalus* and the number of individuals used for body length, pigmentation stage, otolith microstructure and microchemistry analyses.

Sampling site	Sampling date	No. of individuals	Number of individuals used for					
			Body Length	Developmental stage	Otolith Length	Daily age	Increments width	Sr/Ca ratio
Station1, Hualien	2008 Autumn	9	9	9	9	9	6	-
	Winter	18	18	18	10	10	6	-
	2009 Spring	35	35	35	10	10	6	5
	Summer	22	22	22	10	10	6	-
	Autumn	11	11	11	10	10	6	-
Station 2, Hualien	2008 Autumn	2	2	2	2	2	2	1
	Winter	18	18	18	12	11	5	2
	2009 Spring	3	3	3	3	3	3	1
	Summer	7	7	7	7	7	7	5
	Autumn	1	1	1	1	1	1	-
Lan-Yu	2010 July & September	22	21	22	22	14	-	-
Nan-Ao	2008 April	9	9	9	9	5	-	-
Total		157	156	157	101	92	48	14

Table 2. Comparison of mean($\pm$ SD) total length of *S. lagocephalus* between stations 1 & 2 among seasons collected in the lower reaches of Hsiukuluan River during the period from Oct. 25, 2008 to Oct. 20, 2009.

Sampling site	Sampling date	Sample size	Total length (mm)	
			Range	Mean ($\pm$ SD)
Station 1	Autumn, 2008	9	27.0-31.6	29.5 $\pm$ 1.7
	Winter	18	24.3-32.3	27.9 $\pm$ 2.4
	Spring, 2009	35	22.6-31.6	27.3 $\pm$ 2.0
	Summer	22	24.7-30.8	27.6 $\pm$ 1.7
	Autumn	11	23.8-31.2	27.1 $\pm$ 2.3
	Total	95	22.6-32.3	27.7 $\pm$ 2.1
Station 2	Autumn, 2008	3	26.9-31.2	29.3 $\pm$ 3.0
	Winter	18	28.1-32.1	29.7 $\pm$ 1.3
	Spring, 2009	3	27.1-29.4	28.3 $\pm$ 1.0
	Summer	6	27.0-30.6	29.0 $\pm$ 1.8
	Autumn	1	30.8	-
	Total	31	26.9-32.1	29.1 $\pm$ 1.7

Table 3. Criteria used for the characterization of the different life stages of *S. lagocephalus* as modified from Keith et al. 2008.

PL1 = Post larval stage 1, PL2 = Post larval stage 2,

J1 = Juvenile stage 1, J2 = Juvenile stage 2, A = Adult stage.

	PL1	PL2	J1	J2	A
Head spot (%)	≤60%	60 - 90%	90 - 95%	95 - 100%	100%
Mouth position	Terminal	Sub-inferior	Inferior	Inferior	Inferior
Caudal fin shape	Forked	Forked	Forked	Nearly straight	Rounded
Body pigmentation	Translucent ; few spots	The line formed by spots	Practically complete	Complete pigmentation	Sexual dimorphism

Table 4. Development stages, sample size, and total length of *S. lagocephalus* collected in the lower reaches of Hsiukuluan River. Different letters in the superscript indicate significant difference ($p < 0.05$).

Developmental stage	Sample size	Total length (mm)	
		Range	Mean(±SD)
PL1	87	25.5-29.7	27.6±2.1 ^a
PL2	8	26.6-30.6	28.6±2.0 ^{a,b}
J1	25	27.7-30.3	29±1.3 ^b
J2	6	28.8-32.0	30.4±1.6 ^b

Table 5. Mean daily age at recruitment, somatic growth rate, and back-calculated hatching dates of *S. lagocephalus* collected from station 1 in the estuary of Hsiukuluan River during the period from Oct. 25, 2008 to Oct. 20, 2009.

Sampling date	Sample size	Age at recruitment (day)		Somatic growth rate (mm/d)		Back-calculated hatching date
		Range	Mean($\pm$ SD)	Range	Mean($\pm$ SD)	
Autumn, 2008	9	100 - 146	122.22 $\pm$ 14.665	0.2090-0.2588	0.2355 $\pm$ 0.24	Jun. 01 - Jul. 24
Winter	10	90 - 168	129 $\pm$ 21.457	0.2061-0.2572	0.2288 $\pm$ 0.23	Aug. 08 - Oct. 29
Spring, 2009	10	101 - 143	115.6 $\pm$ 19.312	0.2046-0.2647	0.2316 $\pm$ 0.26	Nov. 04 - Jan. 28
Summer	10	86 - 142	114.6 $\pm$ 17.538	0.2079-0.2748	0.2371 $\pm$ 0.29	Feb. 04 - May. 03
Autumn	10	84 - 162	111.9 $\pm$ 19.035	0.1857-0.2837	0.2367 $\pm$ 0.25	Apr. 02 - Jun. 30

Table 6. Comparison of PLD and the mean of length at recruitment of *S. lagocephalus* collected in NanAo, Hualien, and Lanyu. Different letters in the superscript indicate significant difference ($p < 0.05$).

Sampling location	Sample size	Pelagic larval duration (day)		Length at recruitment (mm)	
		Range	Mean($\pm$ SD)	Range	Mean($\pm$ SD)
NanAo	9	151 - 218	178 $\pm$ 24.9 ^a	27.5-31.9	29.7 $\pm$ 1.5 ^a
Hualien	49	84 - 168	115 $\pm$ 17.3 ^b	22.6-32.3	27.7 $\pm$ 2.1 ^b
Lanyu	14	109 - 163	118 $\pm$ 16.8 ^b	-	-