

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

利用石墨式原子吸收光譜儀分析鱗片錳元素濃度以判

別放流與野生黑鯛

Discrimination of wild and hatchery-reared black porgy  
(*Acanthopagrus schlegeli*) based on manganese of scales  
by graphite furnace atomic absorption spectrometer

研究生：張承容 撰

指導教授：李英周 博士

林曉武 博士

中華民國 98 年 7 月

June, 2009

# 口試委員會審定書



## 謝辭

首先要感謝指導教授 李英周老師的指導，老師除了傳授課業和研究相關的專業知識外，還時常帶著我們四處出差，讓我們增進了需多見聞，也提醒我們做研究除了技術的磨練以外，要學會發現問題、解決問題和獨立思考的能力，讓我在這三年修讀碩士班期間獲益良多，在此致上最崇高的謝意。

感謝共同指導教授 林曉武老師提供實驗材料與分析儀器，使得實驗可以順利進行。同時也感謝口試委員 蘇茂森副所長、冉繁華老師和蕭仁傑老師給予許多建議與指正，使得本論文更加充實。

在實驗分析過程中特別感謝謝一之學姊教導我如何使用分析儀器與分析步驟，同時感謝林曉武老師實驗室的各位同學，在我實驗期間熱心的幫忙與協助，使得實驗可以順利結束。

感謝實驗室所有的成員君翰、秉宏、榮琦、小不點、阿達、阿晟、小P、小毓、球球和長毛這段時間的陪伴，能認識你們真的很開心，你們讓實驗室越來越熱鬧，枯燥的研究生生活反而變得非常有趣，然後特別感謝惟哲和皇安，若沒有你們辛苦的採樣與研究，就不會有本論文的出現，也因為有你們才讓我體驗到釣魚的樂趣。感謝室友宗信、俊維和嘉函使我宿舍生活充滿歡笑。感謝中山海資 95 級的各位和我所認識的朋友們在我延畢的這一年帶給我許多歡樂和鼓勵，而這一年也讓我體驗到許多從沒經歷過的事情。

最後感謝我的爸爸、媽媽和晉齊，長久以來無怨的照顧與付出，讓我能毫無後顧之憂的從事研究工作，謝謝你們。

## 摘要

台灣的魚苗放流工作已經進行了許多年，每年放流魚苗種類有黑鯛、嘉鱻、金目鱸、白星笛鯛...多達十餘種種類，除了少數物種如九孔、黑鯛曾進行研究外，其餘放流魚種皆未有足夠的相關研究報告來說明放流工作之成效。而欲評估魚苗放流效果，判別野生與放流再捕魚是很重要的工作。目前評估放流效益的方式，主要是以標識放流再進行放流魚回收為主，但此方法無法分辨未進行標識放流及更早之前就曾經放流的魚群。另有利用耳石化學元素中鎂與錳差異作為判別放流與野生黑鯛之依據，但此分析方法價格過於昂貴，因此找出省時、成本低的判別方法是非常重要的研究課題。本研究觀察 5 尾養殖及 5 尾標識再捕黑鯛的鱗片，並利用石墨式原子吸收光譜儀分析鱗片核心及邊緣部份的錳元素，依此分析結果，作為建立海中捕獲黑鯛來源的判別依據。

本研究共分析 20 尾海中捕獲且體表無標識之未知魚，結果顯示 4 尾未知魚可在鱗相上觀察到不連續帶記號，10 尾未知魚鱗片結果顯示核心錳元素濃度皆高於邊緣部份，故推測 20 尾未知魚中，10 尾可能為放流再捕魚，10 尾可能為野生魚。建議未來判斷未知魚來源時，先初步觀察未知魚鱗相，再分析鱗片錳元素濃度，最後有疑問之樣本才需進行耳石鎂、錳元素分析，如此可有效減少花費的時間與經費，也可計算出早年未經標識放流的放流魚對海中資源的貢獻度，未來更容易進行資源的管理與研擬更好的放流方式。

關鍵字：黑鯛、鱗片、標識放流、石墨式原子吸收光譜儀

## Abstract

The restocking programs were conducted for many years in Taiwan. There are more than ten species released to the surrounding waters of Taiwan every year, i.e., black sea bream (*Acanthopagrus schlegeli*), Japanese sea bream (*Pagrus major*) and giant sea perch (*Lates japonicas*) etc. However, in the past, the effectiveness of the restocking program was not often evaluated except black sea bream and abalone. It is important to discriminate wild and hatchery-reared individual for the assessment of restocking program. In present, the major method to assess the effect of fry releasing was marked and recaptured. But this method could not identify the released individuals that were not marked before marked and released experiments. And there was another method using otolith elements analysis of magnesium (Mg) and manganese (Mn) to distinguish wild and hatchery-reared black porgy. However, this method was time consuming and too expensive. Therefore, it is important to find the discrimination methods requiring short operations time and inexpensive. This study examined the scale characteristics of five hatchery-reared and five recaptured marked-fish, and their manganese (Mn) of scales was investigated by graphite furnace atomic absorption spectroscopy (GFAAS). According to the results, the discrimination criteria of captured black porgy were established.

There were twenty captured individuals were analyzed in this study. Four unknown fish showed the stocking check, and ten showed that the Mn of scales was higher in the core area than in the periphery area among all fish. Thereby, this study suggested ten individuals

may be hatchery-reared fish and ten individual may be wild fish. This study suggests when discriminate original unknown fish, first, observed fish scale then analyzed Mn in scale. Finally, when there are still some doubt samples, Mg and Mn analysis will be necessary. By this way, time and expenditure can be reduced and the contribution of the previously unmark releasing fish be estimated. It will do merits to future resource administration and releasing projects.

Keywords: black porgy, *Acanthopagrus schlegeli*, scales, marked and release, GFAAS



## 目錄

口試委員會審定書 .....	i
謝辭 .....	ii
摘要 .....	iii
Abstract .....	iv
一、前言 .....	1
1.1. 緒論 .....	1
1.2. 實驗魚種簡介 .....	2
1.3. 分辨放流再捕魚的方式 .....	4
1.4. 鱗片之形成與結構 .....	7
1.5. 養殖用水的特性與鱗片和耳石之關係 .....	8
1.6. 研究動機與目的 .....	9
二、材料方法 .....	11
2.1. 研究樣本簡介 .....	11
2.1.1. 人工養殖魚樣本 .....	11
2.1.2. 放流再捕魚與未知魚樣本 .....	12
2.2. 鱗片鱗相與微量元素分析 .....	13
2.2.1. 鱗片處理 .....	13
2.2.2. 分析儀器及檢量線配置 .....	14
2.2.3. 待測樣品之稀釋與濃度計算 .....	15
2.3. 本研究之假設前提 .....	16
三、結果 .....	17
3.1. 實驗樣本資料 .....	17
3.2. 鱗相 .....	17
3.3. 鱗片錳元素分析 .....	18
3.3.1. 養殖魚 .....	18
3.3.2. 放流魚 .....	19

3.3.3.未知魚.....	19
四、討論.....	21
4.1.鱗相.....	21
4.2.鱗片錳元素濃度特徵與魚苗來源之關係.....	22
4.3.使用鱗相特徵和鱗片錳元素濃度判斷未知魚來源.....	23
4.4.耳石元素分析.....	24
4.4.1.養殖魚和放流魚耳石鎂錳元素濃度特徵.....	24
4.4.2.未知魚耳石鎂錳元素分析結果.....	25
4.4.3.使用鱗片錳元素和耳石鎂錳元素濃度判斷未知魚來源.....	26
4.5.分析方法比較.....	27
4.6.放流魚來源探討.....	29
4.7.微化學元素之應用.....	30
五、結論.....	32
參考文獻.....	33



## 圖目錄

圖 1. 黑鯛再生鱗.....	43
圖 2. 鱗片核心切割圖.....	44
圖 3. 黑鯛櫛鱗結構圖.....	45
圖 4. 養殖和野生黑鯛鱗相.....	46
圖 5. 標識放流魚樣本 M2 及 M3 的鱗相.....	47
圖 6. 未知來源魚樣本 U8、U13 及 U14 的鱗相.....	48
圖 7. 養殖黑鯛鱗片樣本核心及外圍之錳元素濃度.....	49
圖 8. 放流再捕黑鯛鱗片樣本核心及外圍之錳元素濃度.....	50
圖 9. 九尾未知來源黑鯛鱗片樣本核心及外圍之錳元素濃度.....	51
續圖 9. 十一尾未知來源黑鯛鱗片樣本核心及外圍之錳元素濃度.....	52
圖 10. 人工養殖與放流再捕黑鯛耳石樣本之鎂鈣比數值變化圖.....	53
圖 11. 人工養殖與放流再捕黑鯛耳石樣本之錳鈣比數值變化圖.....	54
圖 12. 依據鱗相、鱗片錳元素分析與耳石鎂、錳元素分析分辨放流與野生魚的判別流程圖.....	55

## 表目錄

表 1. 本研究使用 30 尾黑鯛樣本資料表 .....	56
續表 1. 本研究使用 30 尾黑鯛樣本資料表 .....	57
表 2. Hitachi Z-5700(Mn)石墨爐式原子吸收光譜儀設定條件.....	58
表 3. Mn 升溫程式(Hitachi-5700) .....	59
表 4. Hitachi-5700 之常用檢量線的分析值 .....	59
表 5. 已知魚(養殖與放流魚)可判別尾數及比例(%).....	60
表 6. 未知魚可判別尾數及比例(%).....	61
表 7. 比較鱗相、鱗片錳元素與耳石鎂、錳元素可判別尾數與正確率.....	62

# 一、前言

## 1.1.緒論

台灣漁業經過多年來的經營，隨著漁業科技的發展，使得漁業生產量大幅增加，但也因為快速成長，帶來了負面效應，如沿、近海漁業資源因過分利用，已呈現衰退甚至枯竭的現象，近年來漁獲量有逐年下降的趨勢，漁業資源明顯的出現過漁(Over-fishing)現象。我國漁政單位為使台灣沿、近海漁業資源能合理開發利用，特在沿岸海域設置 25 處漁業資源保育區(胡 2002)，並自 1970 年代即開始推動栽培漁業(郭 2002)，且有計畫性的投放人工魚礁及推行許多資源復育工作，其中魚苗放流即是栽培漁業當中重要的一環，主要目的是要強化野外族群的資源量。

在挪威及丹麥為資源復育所放流的鱈魚 *Gadus morhua* (Danielssen and Gjøsater, 1994; Stottrup et al., 1994) 和在日本放流的比目魚 *Paralichthys olivaceus* (Kitada et al., 1992) 等養殖魚類，已有數量上的證據顯示該放流的個體可加入野生系群中且有助該漁業資源之復育。Leber and Arce (1996)更進一步估算出 1990-1993 年在夏威夷水域所放流的鰻 *Mugil cephalus* 在加入野外系群後，其回捕量由 1993 年的 1% 逐漸增加到 1994 年的 13%。而台灣的魚苗放流工作已經進行了許多年，每年放流魚苗種類有嘉鱻、黑鯛、點帶石斑、白星笛鯛...多達十餘種種類(李等 2008)，除了少數魚種如九孔(郭 1999; 林 2001)、黑鯛(吳等 1994; 張 2006; 李、張 2007; 林 2008; Chang et al., 2008)曾進行標識試驗研究外，其餘放流魚苗皆未有足夠的相關研究報告來說明放流工作之成效。因此，政府每年投入龐大的人力和財力進行魚苗放流

工作，若沒有經過相關研究調查，就無法了解放流工作是否真的達到強化野外漁業資源的目的。

## 1.2. 實驗魚種簡介

大多數水產生物在初期生活史階段都很脆弱，存活率很低，資源加入量很不穩定，因此藉人為飼育的方式，將魚苗養至一定大小，渡過生活史初期階段後，再放流到自然界中，以增加資源的加入量，並藉由海洋豐富的生產力，使其在天然環境中成長，之後再加以收穫，以進行永續性的資源利用，這種管理方式稱為栽培漁業(陳 1993)。以栽培漁業來說，魚苗放流種類的選定原則上是以經濟價值高、移動範圍小及能穩定供應放流所需種苗為優先，其中台灣自 1981 年起開始黑鯛完全養殖後，至今養殖技術已相當純熟，已經可以使成熟的種魚在養殖池內自然產卵。台灣養殖黑鯛的方式，主要有箱網養殖和魚塢式養殖，澎湖大多採箱網養殖，而台灣中南部則以魚塢式養殖為主(張 1995)。黑鯛繁殖期為 2 月到 5 月，而以 4 月最盛，產量相當穩定；野外水域黑鯛則是從 3 月開始產卵，之後即可捕獲到當年出生的黑鯛魚苗(張 1995)。目前市面上看到的大多是人工養殖的黑鯛，野生黑鯛來源則以沿近海漁業(如刺網和一支釣法)捕獲及釣客自行釣獲為主(賴等 2004)。由於黑鯛的人工繁、養殖技術成熟，每年皆有不少的魚苗產量，且屬於沿近海常見的高經濟價值魚種，由於其中一項重要原因，使黑鯛成為台灣本地漁政單位放流的主要魚種之一(黃 1999)。

黑鯛 *Acanthopagrus schlegelii* (Bleeker, 1854) 在系統分類學上是屬於

脊椎動物亞門 (Vertabrata)、條鰭魚綱 (Actinopterygii)、新鰭亞綱 (Neopterygii)、鱸形目 (Perciformes)、鯛科 (Sparidae)、黑鯛屬 (*Acanthopagrus*)。型態特徵為體高而側扁，體呈橢圓形，背緣隆起，腹緣圓鈍。頭中大，前端尖。上頷前端具圓錐齒 2-3 對，兩側具白齒 4-5 列，下頷前端具圓錐齒 2-3 對，兩側具白齒 3 列；鋤骨、腭骨及舌面皆無齒。體被薄櫛鱗，背鰭及臀鰭基部均具鱗鞘，基底被鱗；側線完整，側線至硬棘背鰭基底之間有 5.5 列鱗。背鰭單一，硬棘部及軟條部間無明顯缺刻，硬棘強，第 IV 或 V 棘最長；臀鰭小，與背鰭軟條部同形，第 II 棘強大；胸鰭中長，長於腹鰭；尾鰭叉形。體灰黑色且具有銀色光澤，有若干不太明顯之暗褐色橫帶；側線起點近主鰓蓋上角及胸鰭腋部各有一黑點。除胸鰭為橘黃色外，其餘各鰭均為暗灰褐色 (Lee, 1983)。分佈於印度-西太平洋之沿岸、河口、內灣、潟湖等礁岩及砂泥底海域 (Springer, 1982)，對於低溫之適應能力相當強，為一種廣溫廣鹽性的魚類。屬雄性先熟，雌雄同體 (protandrous hermaphrodite) 之魚種，在幼魚期全為雄性，到三到四年才轉變為雌性，有性轉變的特性 (沈 1993)。

### 1.3. 分辨放流再捕魚的方式

就放流成效評估研究方面來說，分辨放流和野生魚是相當重要的，如此才能了解放流魚對野生資源的貢獻度為何，而要了解自然環境中野生和放流魚的族群組成是相當困難的，過去學者以傳統形態學方法研究台灣周邊海域之黑鯛，雖可將黑鯛從黑鯛屬內和其他魚種區分開來，卻無法區分同屬同種的養殖和野生黑鯛(簡 1995)。

回顧以往魚種的標識方法大致可分為人為方式和自然方式兩大類。

#### (一) 人為方式

人為方式又可分為附加印記(marking)和結付標識(tagging)兩種。附加印記是以化學或物理方法在魚體上作標識，化學方法包括使用四環黴素(De et al., 1966; McFarlane and Beamish, 1987)、鈣黃綠素(Meunier, 1974)和二甲酚橙(Meunier, 1974)等螢光物質，這些物質會和魚類硬組織結合，並在特定波長的光照下會有螢光反應的特性，於是便可利用餵食法(Bilton, 1986)、注射法(Babluk and Campbell, 1987)和浸泡法(Hettler, 1984)等方式將標識物種加以標識。物理方法則有將魚體特定部位的鰭切除、在特殊部位打洞(Richkus, 1978)、利用高溫(Coombs et al., 1990)或低溫(Bryant et al., 1990)的物體在生物體上留下特定的印記，或利用空壓機所產生的高壓空氣經噴槍讓樹脂內的螢光色素附著於魚的體表，並於特殊波長照射下可產生螢光反應(Phinney et al., 1967; Nielson, 1990)等方法在魚體上作標識，以供辨識。在台灣，有研究利用上述人為的標識方法來標識放流黑鯛，以評估魚苗放流的成效，此研究自2005年7月21日-9月23日期間，標識放流黑鯛魚苗約十萬八千尾於苗栗縣通

霄鎮白沙屯海域，迄2008年9月總檢測漁獲1,642尾，其中有標識魚76尾，總再捕率約0.704%，而放流貢獻度由2006年12月為9.4%，累計至2007年12月為6.8%，累計至2008年12月為5.3%，且由結果可知，該批放流魚苗已在該海域至少存活三年的時間(李、張 2006；李、張 2007；李等 2008)，但目前這些標識法無法對先前沒有進行標識試驗之放流黑鯛進行分析，而當放流魚苗數量龐大時，需耗費較多的人力、物力、財力及較多的時間來進行標識，因此欲有效率的區分放流和野生黑鯛，勢必要尋求新的分辨方法。

## (二) 自然方式

魚隻的成長會受到生存環境餌料多寡的影響，當投餌次數越多，魚體成長越快，耳石和鱗片的輪紋數及寬度也明顯高於投餌次數少的(Bilton and Robins, 1971a,b,c；Neilson and Geen, 1982)，而在自然界多數的魚都是處於半飢餓狀態下，所以在養殖場和自然環境中成長的魚隻其成長速度就會有所差異，便可藉由觀察魚體的外部型態特徵、魚鱗成長速度(Seelbach and Whelan, 1988)、耳石成長速度(Campana and Jones, 1992)和傳統形態學方法等方式來對個體加以辨別，因此有學者利用測量鱗片第一年輪外的五條輪紋寬度和第一年輪內五條輪紋寬度的比例，來分辨養殖和野生虹鱒(Seelbach and Whelan, 1988)，但由於此類方法容易因外部環境不同而影響判別結果(能勢等 1988；McFarlane et al., 1990)。近年來，利用魚類硬組織的微化學組成分析來辨識不同地點出生魚種的研究相當多，有研究指出魚類的耳石和鱗片等硬組織會紀錄生存環境間的化學元素濃度變化(Flem et al., 2005)，且錳、鋁、

銀、鉛四種元素在鱗片和耳石上所測得的濃度會隨著外界環境濃度的增加而增加(Gillanders, 2001)，便可利用耳石和鱗片所含有的微量元素組成差異作為族群結構研究的一個天然標識(Wells et al., 2000a,b)。耳石微量元素分析已廣泛用在魚類洄游環境史(Secor, 1992)、洄游路徑(Thresher et al., 1994)和族群判別(Edmonds et al., 1989)等研究；鱗片微量元素分析，目前以鋇、鎘及銀三個元素研究較為明確，此三元素皆是用來探討在河海口移動的魚類(Wells et al., 2000a,b)，由於海水中鋇的平均濃度為  $7.9 \text{ mg L}^{-1}$ ，而淡水鋇的平均濃度為  $0.07 \text{ mg L}^{-1}$  (Bowen, 1979)，海水鋇濃度遠高於淡水，此外，利用分析鱗片鋇濃度的高低也可將陸封型或洄游型鱒魚區分開來(Koksvik and Steinnes, 2005)；另外利用雷射感應耦合電漿質譜儀(LA-ICPMS)分析鱗片上十種不同的微量元素組成變化，可區分來自於不同出生地的北大西洋鱒魚(Flem et al., 2005)。因此測量魚類硬組織中的微量元素，對於魚種的移動和環境歷史的研究有很大的潛力，有助於魚類系群的辨別(Campana and Fowler, 1994)，且相對於上述的人為標識方式來說，對於未標識的放流魚與自然野生魚的判別，可能會是一個不錯的辨別工具。



#### 1.4.鱗片之形成與結構

耳石和鱗片均屬於魚類的硬組織，其中鱗片可分成軟骨魚類所特有的楯鱗(placoid scale)、多鰭類或鱗鯢所見之硬鱗(ganoid scale)、及硬骨魚類所生之圓鱗和櫛鱗。黑鯛的鱗片屬於櫛鱗，櫛鱗從縱切面來看是雙層的結構，上層主要是由氫氧基磷灰石所組成的鈣化骨質層；下層為由非礦化的纖維薄片(fibrillary lamellae)所組成的膠質纖維層。硬骨魚鱗片是由表皮(epidermis)和真皮(derms)之間的乳突細胞(papillae)所形成，鱗片骨質(osteoid)和膠原纖維(collagen fibers)的成分是由乳突細胞所分泌形成(Waterman, 1970)。鱗片形成是起始於乳突細胞之中，而在乳突細胞周圍的骨針原細胞(scleroblasts)又與鱗片形成有關。骨針原細胞依所處的位置可分為三類：表面骨針原細胞(superficial scleroblasts)、深層骨針原細胞(deep scleroblasts)和邊緣骨針原細胞(marginal scleroblasts)。鈣化骨質層與膠原纖維層主要是由散佈於鱗片周圍的邊緣骨針原細胞和表面骨針原細胞所合成，這些細胞會不斷的分裂造成鱗片表面鱗脊(scale ridges)形成，而膠原纖維層底部散佈著深層骨針原細胞，會不斷形成膠原纖維形成一層一層的膠原薄板(lamellae of collagen fiber)(Sire and Géraudie, 1984)。另外膠原纖維細胞(fibroblast)也具有傳送礦物質到骨質層的功能，在骨質層的表面是由一環一環濃密的鈣化骨質脊狀物，是由內向外緣生長，最外圍的鱗脊是最新生成的(廖 2001)。鱗片當中蛋白質及脂質等有機物佔 41%~55%，磷酸鈣佔 38%~46%，並含有其它少量的磷酸鈉、磷酸鎂及碳酸鈣等無機鹽類(朱 1997)。鱗片早期大多是作為年齡查定的形質，一般被認為是準確的(Summerfelt and Hall, 1987)，且研究多著墨於鱗片的形

成及成長，進而了解鱗片形成機制，以及針對不同類型的鱗片做結構上的比較(Waterman, 1970; Sire and Géraudie, 1983,1984; Sire, 1989; Zylberberg et al, 1992; Sire et al, 1997)。在過去二十年間，鱗片的研究已由直接計數年輪的方法發展到由鱗片之微化學結構的層面來探討年齡軌跡，而此法對於海、淡兩棲及底棲的魚種較為有效(Gauldie et al., 1991; Coutant et al, 1993)。有多篇研究皆是分析鱗片的元素組成來判別魚類系群及重建環境資料(Wang et al., 1994; Farrell et al., 2000; Wells et al., 2003a,b)。

### 1.5. 養殖用水的特性與鱗片和耳石之關係

台灣西南部地區屬於亞熱帶氣候，平均年雨量約為2,000 mm，但降雨時間分佈不均，又缺乏大型水庫可調節蓄水，而民國60年代以後，沿海養殖業興盛，開始鑿取地下水井汲取地下水使用，以補充地面水源之不足(張 1996)，雖然過去政府曾強制規定地下水抽取數量，並禁止使用抽水井，但因業者缺乏足夠的替代水源，且地下水具有水質好、溫度恆定且成本低廉等優點，因此許多漁民還是紛紛挖井抽取地下水來使用(解 2000)。

由於地下水與部分地層之有機物及礦物發生作用，或地表下缺氧導致許多元素呈還原狀態，常使重金屬以其他氧化還原態吸附於水體懸浮固體物中，像是碳酸鈣、碳酸鎂和硫酸化亞鐵等礦物，造成地下水跟地表水相較之下，錳、鐵、鎂及鈣等金屬元素有偏高的現象(Hem, 1992)。以鎂及錳為例，台南縣94年度地下水鎂及錳的濃度平均值分別為鎂221 mg/L、錳0.81 mg/L(Anon, 2006)，根據全國環境水質監測資訊網的資料指出地表水的鎂

濃度介於1至40 mg/L，臺南縣的溪流中2002至2005年錳濃度的平均則是0.266 mg/L，而海水中鎂的濃度約是1,294 mg/L，錳的濃度約是0.0004 mg/L (廖 1988)。綜合以上所述，鎂的濃度高低，海水>地下水>地表水；錳濃度高低，地下水>地表水>海水。而耳石和鱗片中元素的濃度與四周水體中的元素濃度是有比例關係的(Wells et al., 2003a)。在歐洲研究人員發現，有淡水注入的海灣，海灣中魚類耳石的鎂錳元素濃度較高，而鋁元素的濃度較低，並推測可能是由於淡水注入的影響所導致(Swan et al., 2006)。因此使用地下水養殖的黑鯛魚苗，在耳石和鱗片的化學組成上可能會與野生黑鯛有所差異。



## 1.6.研究動機與目的

栽培漁業最重要的部分莫過於資源評估及管理(葉等 1995)，而為評估種苗的放流效果，需要掌握放流苗的回收率、捕獲之野生魚與放流魚比率，當魚苗經過放流與野外族群充分混合後，需要一套放流和野生魚的判別方法，但若分辨方法所需時間過久或價格昂貴，則不符合經濟效益。目前評估放流效益的方式，主要是以標識放流再進行放流魚回收為主，但此方法無法分辨未進行標識放流及更早之前就曾經放流的魚群，若欲將所有放流魚進行標識，又有人力及執行上的困難存在。先前研究，利用雷射感應耦合電漿質譜儀(LA-ICP-MS)分析使用地下水養殖黑鯛耳石鎂錳元素，並依結果作為未經標識放流黑鯛之辨別依據，準確率可達100%(林 2008)，但礙於此分析時間過久及成本過高，無法應用於大量未知樣本的分析上面。由於鱗片樣本在採集

及處理上較耳石容易，不易造成魚體死亡，且石墨式原子吸收光譜儀具有快速、方便、可自動化且分析價格便宜等優點，本研究便以耳石化學元素中鎂及錳差異判別放流與野生黑鯛之研究(林 2008)為基礎，進一步觀察野生及放流黑鯛鱗片的鱗相，並探討利用石墨式原子吸收光譜儀分析黑鯛鱗片核心及外圍錳元素濃度的差異，希望能發展一套價格便宜且可快速分辨放流與野生魚的判別方法，並應用在台灣魚苗放流評估工作上。



## 二、材料方法

### 2.1. 研究樣本簡介

#### 2.1.1. 人工養殖魚樣本

為了解黑鯛在人工養殖環境與野生環境之差異情形，本研究於 2007 年 1 月 12 日及 2007 年 5 月 12 日向台南七股地區的黑鯛繁殖業者，先後購買兩批由人工養殖種魚自然產卵，孵化後生活在人工養殖環境的黑鯛(以下簡稱養殖魚)。根據養殖業者表示，第一批魚為 2006 年業者自行繁殖之魚苗，飼養至 2007 年 1 月採樣時，在人工養殖環境大約經過 10 至 11 個月的成長時間。第二批養殖魚是選擇與平常放流尺寸相近的魚苗，為 2007 年 2 月期間孵化，至 2007 年 5 月採樣時約經過 3 個月的生長時間。另於 2008 年 9 月從桃園新屋鄉的大昇養殖場購買第三批養殖魚，此養殖場為參與魚苗放流標案的養殖戶，一般魚苗放流程序中，放流的魚隻都會先蓄養在養殖池中後再運至放流地點放流，因此第三批魚的特徵為部分未放流的黑鯛，並於人工養殖環境下飼養 25 個月，再進行耳石、鱗片微化學元素分析時，可與放流魚鱗片的化學元素組成比較，觀察是否有特徵存在，以了解野生和人工養殖環境可能造成之差異，詳細樣本資料如(表 1)所示。

### 2.1.2. 放流再捕魚與未知魚樣本

為了解黑鯛由人工養殖環境放流進入自然環境後，其耳石及鱗片上微化學元素濃度的變化情形，本研究於 2005 年 7 月至 9 月及 2008 年 6 月至 9 月期間，分別在苗栗縣通霄鎮白沙屯海域先後標識放流 5 公分左右的黑鯛魚苗約十萬八千尾及五萬尾，並委託當地漁民幫忙回收樣本。標識方式採用雙重標識法，第一重標識為投餵含四環黴素之飼料，四環黴素會和魚體內的硬組織結合，經由特殊波長光源激發下會有黃色螢光反應產生(De Bont, 1967；McFarlane and Beamish, 1987)；第二重標識為噴槍法，將螢光色素和樹脂混合後，利用高壓噴槍噴發到魚的體表，樹脂中的螢光色素粒子會因為空氣的壓力進入魚的體表，標識後同樣可經由特殊波長的光源激發觀察到體表的螢光反應(Phinney et al., 1967；Nielson, 1990)。檢測標識的方式為將魚隻放置於螢光燈下，檢查魚體表面是否有螢光色素的存在於否(Bilton, 1986)，如果發現螢光色素存在則為放流魚，其中第一批樣本採用紅色螢光標識，而第二批樣本採用綠色螢光標識。

樣本收集是由白沙屯地區的漁民及釣客協助樣本採集，採樣方式包括涉水浮釣及沉底灘釣等。再由回收站幫忙收集樣本，並進行初步檢查捕獲黑鯛是否有標識存在，同時紀錄採集者的個人資料、採集方式及採集時間。將全部樣本帶回實驗室後，研究人員會進一步確認標識的殘留情形，並進行魚體的基本資料量測與拍攝照片。本研究使用 2005 年 12 月 2 日至 2006 年 8 月 31 日及 2008 年 2 月 26 日至 10 月 22 日期間回收

之部分樣本進行分析，其中包括 5 尾標識放流魚與 20 尾未知來源之黑鯛樣本(以下簡稱未知魚)，樣本資料如(表 1)所示。

## 2.2.鱗片鱗相與微量元素分析

### 2.2.1.鱗片處理

將保存於冷凍庫之樣本魚解凍後，使用塑膠鑷子採集魚體胸鰭下方部位鱗片並於解剖顯微鏡(VM, Olympus)下檢查是否為再生鱗(圖 1)，若為再生鱗則需重新採集鱗片，一隻樣本魚須採集約 15-20 片鱗片以供分析。為了解養殖、放流及野生黑鯛在不同的生長環境下，是否會在鱗相上產生某種程度的特徵，初步先將樣本魚部分鱗片(3 片)製成玻片，作為鱗相分析使用。首先清理鱗片表面污垢，再將清理乾淨的鱗片放置於兩片載玻片之間，用標籤紙將兩端黏住，自然陰乾(廖 2001)。將製作完成的鱗片標本置於 Nikon SMZ-2T 雙眼立體解剖顯微鏡下，其物鏡的放大倍率(zoom magnification)設定 1.5~4 倍，隨鱗片的大小做適當之調整，由 Nikon E-995 型相機攝取鱗片影像以供觀察判讀，以待進一步的鱗相分析。

為了解鱗片核心區域與邊緣區域微量元素濃度的差異，將剩餘的樣本鱗片放置於含有去離子水的培養皿中清洗，初步去除表面污垢。清除完成後，約取 10 片鱗片於解剖顯微鏡下，確認鱗片核心位置之後，沿核心 1mm 半徑大小(約 5 公分魚苗鱗片大小)利用解剖刀將核心切割出來(圖 2)。並將鱗片分成核心部分及移除核心的外圍部分兩組，放置於離心管中，利用去離子水及超音波清洗機(Model 1210R-DTH, Branson)震盪 5 分鐘，去除鱗片表面上的

黏膜、表皮組織及其他污物，再以滴管吸出離心管中的去離子，重覆此兩步驟三到五次，視鱗片大小及污穢程度調整沖洗次數，待徹底清除鱗片上之雜質後，將鱗片放入烘箱(Drying oven, Kwang Shen)以 80°C 烘乾 24 小時，乾燥後將鱗片稱重紀錄後存放於玻璃的樣品瓶中，並加入 1 ml Suprapure 級的硝酸將鱗片消化，放置一天待鱗片完全消化後放置保存。

### 2.2.2.分析儀器及檢量線配置

本研究之實驗儀器為利用 Hitachi Z-5700 石墨式(Graphite)原子吸收光譜儀分析鱗片錳元素。原子吸收光譜法(atomic absorption spectrometry, 簡稱 AAS)原理為利用 2000°C~3000°C 的溫度讓樣品中的元素以原子態存在，且由於處於基態的原子會吸收特定波長的光而被激發至某一激發態，便可利用各元素吸收特定波長光的強弱進行定量分析。石墨式原子吸收光譜儀主要有光源、光源調變裝置(斷續器)、石墨爐原子化器、單光器及光子偵測器所組成。在樣品原子化的過程中，石墨管加熱是以升溫程式控制，加熱過程主要區分為乾燥(dry)、灰化(ash)、原子化(atom)及清除(clean)四個步驟，乾燥的目的在於蒸發除去樣品中的溶劑；灰化可破壞樣品中的有機及無機基質；原子化階段使分析元素由分子變成原子，以進行吸收光譜的測定；清除的步驟，目的為去掉殘留物以減少對下次分析的影響(王 2003)。石墨式原子吸收光譜儀之條件設定見表 2,3,4。

樣品元素濃度測定是採檢量線法(calibration curve)定量，在進行元素定量分析時，會先測定一系列標準溶液之吸光度，製成檢量線，再由樣品之吸



光度推算出濃度。以這種方式分析最好是使用線性範圍之檢量線且樣品濃度應在檢量線之範圍內，不要使用外又法求濃度(王 2003)。標準溶液配置是使用 Merck 公司所製之重金屬標準液( $\text{Mn}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ , 1L, 1000 ppm)來配置，共配置 0、2、4 和 8 ppb 四個標準溶液。其配置方法步驟如下：

- (1) 取錳標準液(1000 ppm)2 ml 和濃硝酸 0.6 ml, 加入定量瓶中定量至 100 ml，將錳濃度稀釋成 20 ppm。
- (2) 從 20 ppmb 溶液中取 0.5 ml，再加入 0.1N  $\text{HNO}_3$  9.5 ml 稀釋成 1 ppm。
- (3) 於 1 ppm 溶液中取 0.02 ml，再加入 0.1N  $\text{HNO}_3$  9.98ml 稀釋成 2 ppb。
- (4) 於 1 ppm 溶液中取 0.04 ml，再加入 0.1N  $\text{HNO}_3$  9.96ml 稀釋成 4 ppb。
- (5) 於 1 ppm 溶液中取 0.08 ml，再加入 0.1N  $\text{HNO}_3$  9.92ml 稀釋成 8 ppb。

### 2.2.3.待測樣品之稀釋與濃度計算

當標準溶液配置完成後即可開始樣品的上機分析，首先需將消化完成後之待測樣品，加入 3 ml 去離子水(DIW)作為原液，並以 0.1 N  $\text{HNO}_3$  作為稀釋溶液。由於在樣品分析時，吸光值需要落在檢量線之間，所以會取出部分原液並稀釋成不同的稀釋倍數來進行分析，若吸光值超過檢量線範圍則繼續稀釋，本研究樣品稀釋倍數為 25 至 100 倍。

由於樣品經過不同的稀釋倍率，因此樣品錳濃度需經由以下計算式回推求得：樣品濃度(ppm) = 
$$\frac{\text{檢量線求得之錳濃度}(\text{mg/L}) \times \text{樣品消化液之體積}(\text{ml}) \times \text{稀釋倍率}}{\text{樣品重}(\text{g}) \times 1000}$$

### 2.3.本研究之假設前提

本研究主要建立在幾個假設前提上，(1)台灣西南沿海的黑鯛繁養殖業者之操作習慣，在將種魚放入繁殖池中進行繁殖時，會將鹽度控制在接近海水的鹽度(即 30‰左右)，以提高受精卵的孵化率，而在仔稚魚生長至開始要投餵人工飼料前，通常會使用地下水將養殖水體之鹽度逐步降低，會將鹽度稀釋到大約 15 至 20‰；(2)魚類的耳石和鱗片等硬組織會紀錄生存環境間的化學元素濃度變化(Flem et al., 2005)，而自然水體中錳的濃度是地下水>地表水>海水，當養殖魚放流到野外環境後，由於地下水中的錳濃度高於海水，因此鱗片核心部位的錳濃度應高於外圍部分。



## 三、 結果

### 3.1. 實驗樣本資料

本研究分析了 5 尾養殖魚、5 尾再捕魚及 20 尾海中捕獲的未知魚，並分別編號養殖魚：R1-R5、再捕魚：M1-M5 及未知魚：U1-U20，其中第一批樣本 R1~R3、M1~M3 及 U1~U9 為 2005 年 12 月 2 日至 2006 年 8 月 31 日期間回收之樣本，曾取出耳石並進行鎂錳元素分析(林 2008)，而於 UV 燈下，樣本 M1、M2 及 M3 的體表上可觀察到紅色螢光存在。第二批樣本 R4、R5、M4、M5 及 U10~U20 為 2008 年 2 月 26 日至 10 月 22 日期間回收之樣本，於 UV 燈下，樣本 M4 和 M5 體表上可觀察到綠色螢光存在。

本研究養殖魚體長範圍為 17.4~24.8 公分，平均  $21.2 \pm 3.3$  公分；體重範圍為 87.2~270.7 公克，平均  $172.4 \pm 77.0$  公克。再捕魚體長範圍為 11.8~15.6 公分，平均  $13.1 \pm 1.7$  公分；體重範圍為 29.2~58.7 公克，平均  $40.46 \pm 12.93$  公克。未知魚體長範圍為 9.7~37.6 公分，平均  $21.2 \pm 7.8$  公分；體重範圍為 15.3~1022.1 公克，平均  $275.6 \pm 303.8$  公克(表 1)。

### 3.2. 鱗相

本研究比較不同來源黑鯛的鱗相，結果顯示黑鯛的鱗相在分類上屬於櫛鱗，其鱗片表面是由鱗溝、鱗脊及鱗片中心位置的鱗焦所構成，鱗片的後緣呈鋸齒狀突起，且鱗片的厚度由中間(即鱗焦)向外減少(圖 3)。而再捕魚鱗片鱗相大致與養殖魚相似(圖 4)，輪紋(circuli)稀疏與緊密相互

交替排列，但樣本 M2 和 M3 兩尾再捕魚的鱗相在距核心  $2212 \pm 140 \mu\text{m}$  處，可觀察到輪紋有斷裂、不規則的不連續帶出現(圖 5)，而此現象在五尾養殖魚鱗相上並沒有觀察到。

在未知魚方面，鱗相輪紋排列方式與再捕魚和養殖魚相似，但發現樣本 U8、U9、U13 及 U14 這四尾未知魚的鱗相在距核心  $2194 \pm 100 \mu\text{m}$  處輪紋有斷裂、不規則的不連續帶記號(圖 6)，而其他未知魚並未發現到此特徵。依此鱗相特徵，大略可將未知魚分成兩群，一群為有發現到空白環帶出現，如樣本 U8、U9、U13 及 U14，另一群則為無觀察到此特徵，如樣本 U1~U7、U10~U12 及 U15~U20。

### 3.3.鱗片錳元素分析

#### 3.3.1.養殖魚

分析 5 尾養殖魚樣本的鱗片錳濃度，其結果顯示錳濃度在鱗片核心處濃度有較高值 67.1 (R1)、40.5 (R2)、54 (R3)、66.2 (R4)及 171.9 ppm (R5)，而鱗片外圍的濃度為 14.5 (R1)、14.4 (R2)、20.6 (R3)、25.1 (R4)及 88.6 ppm (R5)皆較核心部分的濃度低。比較上述五尾養殖魚樣本鱗片核心、外圍的錳元素濃度，可以發現養殖魚鱗片錳元素特徵，為鱗片核心的錳濃度皆較鱗片外圍的部分高(圖 7)。



### 3.3.2.放流魚

分析 5 尾放流魚樣本的鱗片錳濃度，其結果顯示錳濃度在鱗片核心處濃度有較高值 51.0 (M1)、50.3 (M2)、97.5 (M3)、75.4 (M4)及 76.0 ppm (M5)，而鱗片外圍的濃度為 23.2 (M1)、23.8 (M2)、44.2 (M3)、53.0 (M4)及 50.5 ppm (M5)皆較核心部分的濃度低。觀察比較上述五尾樣本鱗片核心、外圍的錳元素濃度，可以發現放流魚鱗片錳濃度特徵，為核心的錳濃度皆較鱗片外圍的部分高(圖 8)，和養殖魚結果相同。

### 3.3.3.未知魚

未知魚來源可能為野生或人工放流魚，經分析結果如下，鱗片核心錳濃度分別為 10.4 (U1)、12.5 (U2)、18.1 (U3)、15.3 (U4)、142.5 (U5)、19.3 (U6)、9.5 (U7)、31.4 (U8)、12.0 (U9)、66.5 (U10)、81.0 (U11)、60.4 (U12)、58.9 (U13)、79.2 (U14)、46.3 (U15)、59.8 (U16)、24.8 (U17)、25.4 (U18)、38.4 (U19)及 24.8 ppm (U20)，濃度範圍介於 9.5~142.5 ppm 之間，而鱗片外圍的濃度為 14.2 (U1)、16.1 (U2)、19.5 (U3)、18.3 (U4)、86.6 (U5)、8.8 (U6)、5.8 (U7)、18.1 (U8)、14.2 (U9)、52.6 (U10)、47.3 (U11)、50.9 (U12)、32.3 (U13)、48.5 (U14)、50.3 (U15)、43.0 (U16)、25.9 (U17)、30.6 (U18)、44.5 (U19)及 25.0 ppm (U20)，濃度範圍介於 8.8~86.6 ppm 之間。依鱗片錳元素分析結果顯示，未知魚樣本大略可分成兩大類型，第一類型為鱗片核心錳元素濃度高於外圍部分，如 U5、U6、U7、U8、U10、U11、U12、U13、U14、及 U16，另一類是鱗片外圍濃度高於核心部分，如 U1、U2、

U3、U4、U9、U15、U17、U18、U19 及 U20 (圖 9)。



## 四、討論

### 4.1. 鱗相

目前在台灣尚未有利用鱗片特徵來區分養殖放流和野生黑鯛的研究，而本研究觀察發現在 M2 和 M3 兩尾放流魚的鱗相，在距核心 2 mm 附近可觀察到不連續帶記號(圖 5)。從過去國外研究哈德遜河條紋鱸魚的年齡與成長研究中發現，經過標識放流再捕的條紋鱸魚，在鱗相上可觀察到距鱗焦 0.5 mm 處有較大的空白區域出現，而野生魚並未發現此特徵，於是便將此鱗相特徵稱之為”放流輪(stocking check)”，並以此特徵作為放流魚的辨識依據(Humphreys et al., 1990)。本研究便以 M2 和 M3 兩尾放流魚的鱗相特徵為基礎，觀察 20 尾未知魚，若在距離鱗焦 2 mm 處觀察到不連續帶記號，則歸類為放流魚，因此推測樣本 U8、U9、U13 及 U14 四尾未知魚可能為放流魚(圖 6)。而鱗相輪紋不連續帶的形成可能是由於以下幾個原因所造成，(1)在進行魚苗放流作業的時候，業者通常會於放流日的前幾天停止餵食，以減少魚苗運輸途中水質的汙染，(2)在放流日當天，魚苗會從養殖場搬運到水車，並經過一段時間的運輸到達放流地點後再進行放流，而這段搬運的過程，可能對魚隻造成壓力進而影響到魚苗這段時間的成長(Kristiansen and Svasand, 1992)，(3)由於魚苗在養殖過程中都是投為人工飼料，當養殖魚放流到自然環境中可能由於餌料種類的改變導致魚隻無法順利覓食(Taylor et al., 2007)，以上原因都會影響放流魚這段時間的成長，且有研究指出放流魚需要經過幾個星期的時間才

能適應野外的生活環境(Kristiansen and Svasand, 1992)，並會因此在鱗相上留下一個特殊的成長痕跡。雖然鱗相可提供一個快速分辨的方法，但 5 尾放流魚中只有 2 尾發現此特徵，方法的可判別率為 $(2/5)=40\%$ (表 5)，且放流魚需要經過一段時間的放流成長，才可能會在鱗相上觀察到不規則環帶出現，因此不易應用於短時間的放流再捕魚分辨上面。

#### 4.2.鱗片錳元素濃度特徵與魚苗來源之關係

5 尾養殖魚樣本的錳濃度分析結果，可以發現共同的特徵是在鱗片核心部位的濃度都較邊緣高，而 5 尾放流魚的分析結果發現跟養殖魚有相當一致的特徵，即是鱗片核心部位的濃度高於鱗片外圍的濃度(圖 7，圖 8)。推測養殖魚生活史初期階段應是生活於錳濃度較高之養殖水體，經過一段時間成長後，再於較低錳濃度的環境下生活。根據一般黑鯛繁殖業者操作習慣，在進行繁殖時會將鹽度控制在 30‰左右，當仔稚魚生長一段時間後，則會將鹽度調淡到大約 15 至 20‰，此時會使用地下水將養殖水體之鹽度逐步降低，由於地下水之錳濃度高於海水相當多，或許因而造成鱗片核心部位有較高的錳濃度。然而當養殖魚放流到野外環境後，海水中的錳濃度低於地下水，因而造成鱗片外圍部分的錳濃度較核心部位低。

在未知魚鱗片錳元素濃度分析結果大略可分成兩大類型，一類是鱗片核心錳元素濃度高於外圍部分，如 U5、U6、U7、U8、U10、U11、U12、U13、U14、及 U16，另一類是鱗片外圍濃度高於核心部分，如 U1、U2、U3、U4、U9、U15、U17、U18、U19 及 U20)(圖 9)。第一種類型的未知



魚與養殖魚和放流魚的錳濃度分佈相當一致，顯示第一種類型的未知魚在生活史初期階段或許與養殖魚及放流魚有相似的生活環境，故推測 U5、U6、U7、U8、U10、U11、U12、U13、U14、及 U16 可能為放流魚(表 6)，而與養殖魚及放流魚錳濃度分佈結果相反的 U1、U2、U3、U4、U9、U15、U17、U18、U19 及 U20 應為野生魚，而此方法的可判別率為(20/20)=100%(表 6)。其中樣本 U6 及 U7 的鱗片錳濃度範圍較第一類型的其他未知魚低，而與第二類型的未知魚相似，但本研究是探討個別魚隻鱗片核心與鱗片外圍的錳濃度差異，是討論相對濃度的問題，雖然樣本 U6 及 U7 鱗片的錳元素濃度偏低，在此還是將 U6 和 U7 歸類到第一類型，而鱗片的錳元素濃度偏低的原因可能由於樣本 U6 及 U7 體長分別為 37.6 cm 和 27.2 cm，皆為體型較大的黑鯛，推測可能因為鱗片會隨著魚體成長而厚度增加，並持續記錄外界水體的元素變化，雖然放流魚初始生活是在錳濃度高的環境中成長，但隨著放流到低錳濃度的大海中，鱗片核心的錳濃度會因之後大部分含有較低錳濃度的部分所稀釋掉，因此此 2 尾樣本魚鱗片所分析出來的錳元素濃度會有偏低的現象。

#### 4.3. 使用鱗相特徵和鱗片錳元素濃度判斷未知魚來源

以鱗相特徵與鱗片錳元素濃度特徵判斷 20 尾未知來源魚，結果顯示樣本 U8、U13 及 U14 以此兩種方法判別之來源相同，而未知魚樣本 U5、U6、U7、U10、U11、U12、及 U16，以鱗片錳元素差異判斷，可以明顯的歸類為放流魚，但在鱗相分析上卻沒有觀察到明顯的不連續帶記號。

過去研究顯示，養殖魚只要經過六天的不餵食，就足以在鱗相上產生明顯的不連續帶記號(Taylor and Piola, 2008)，在哈德遜河經過標識放流再捕的條紋鱸魚，有高達 75%可在鱗相觀察到不連續帶記號(Humphreys et al., 1990)，但本研究放流魚鱗相上有不連續帶記號出現的比率甚低，雖然大部分研究顯示，放流魚需要經過幾個星期才會適應野外的環境，並開始覓食(Kristiansen and Svåsand, 1992)，但也有研究發現，放流魚經過一天的時間便可開始覓食(Taylor et al., 2006)。推測部分黑鯛可能於放流一段時間後便可開始覓食，而這段未索餌的時間並未足以在鱗片上留下明顯的印記，因此利用鱗相特徵判斷，可能會低估放流魚的數量。

#### 4.4.耳石元素分析

樣本 R1~R3、M1~M3 及 U1~U9 此 15 尾黑鯛，為 2005 年 12 月 2 日至 2006 年 8 月 31 日期間回收之樣本，曾進行耳石鎂錳元素分析，並利用耳石鎂錳元素分析結果作為黑鯛來源的判別依據(林 2008)。由於樣本來源相同，因此可與本研究的鱗片錳元素分析方法討論和比較。

##### 4.4.1.養殖魚和放流魚耳石鎂錳元素濃度特徵

樣本 R1~R3 三尾養殖與 M1~M3 三尾放流黑鯛耳石樣本的鎂濃度分析結果，由於樣本 R1 的鎂濃度測量值出現大量負值，故無法使用 R1 之鎂元素測量值，其餘樣本鎂濃度測量值顯示，在耳石核心區域 R2、R3、M1、M2 及 M3 這五個樣本的鎂元素都呈現核心區域的濃度較高，邊緣

區域的濃度較低，且在核心區域皆出現有較高數值的單一高峰，高峰之外的區域則下降至較低之濃度，因此耳石核心鎂元素濃度呈現近似於倒「V 字型」的分佈(圖 10)(林 2008)。

樣本 R1~R3 三尾養殖與 M1~M3 三尾放流黑鯛耳石樣本的錳濃度分析結果，由於樣本 R2、R3 及 M3 的錳濃度測量值出現大量負值，故無法使用 R2、R3 及 M3 之錳元素測量值，其餘樣本 R1、M1 及 M2 在耳石核心區域的錳濃度較低，之後往邊緣方向升高之兩個相對應的較高值，在下降到邊緣區域的較低濃度值，核心區域的錳元素濃度分佈皆有兩側高中間低的特徵，呈現近似於「U 字型」的分佈狀態(圖 11)(林 2008)。

#### 4.4.2. 未知魚耳石鎂錳元素分析結果

以養殖魚元素濃度之特徵為基礎，再與放流魚分析結果相互對照，若未知魚的元素濃度分佈與養殖魚和放流魚分析結果相同，則此未知魚應為放流魚；反之，若不相同則為野生魚。而編號 U1~U9 九尾未知魚，依耳石鎂元素濃度分佈，可分成兩種類型，一為濃度分佈與養殖魚和放流魚相同，核心區域濃度有近似於倒 V 字型單一高峰值的樣本 U5、U6、U7、U8 及 U9 應為放流魚，另一為核心區域無單一高峰值的樣本 U1、U2 和 U3 應為野生魚；依錳元素分佈，可將未知魚分成兩種類型，一為濃度分佈與養殖魚和放流魚相同，核心區域濃度有近似於 U 字型分佈的樣本 U6 及 U9 應為放流魚，另一為核心區域無 U 字型分佈的樣本 U2、U3 和 U4 應為野生魚。以耳石中鎂或錳元素的濃度在核心區域的特徵，

判斷 U1~U9 九尾未知魚來源結果顯示，樣本 U5、U6、U7、U8 及 U9 為放流魚，而 U1、U2、U3 和 U4 為野生魚，可判讀率達 100%(林 2008)。

#### 4.4.3.使用鱗片錳元素和耳石鎂錳元素濃度判斷未知魚來源

以鱗片錳元素濃度和耳石鎂錳元素濃度特徵分析樣本 U1~U9 九尾未知來源魚，結果顯示樣本 U5、U6、U7 及 U8 以此兩種方法判別之來源皆為放流魚；樣本 U1、U2、U3 及 U4 以此兩種方法判別之來源皆為野生魚；而樣本 U9 以耳石鎂錳元素濃度特徵可以明顯的歸類為放流魚，但鱗片錳濃度分析結果顯示鱗片外圍的濃度高於核心的濃度，應歸類為野生魚，因此樣本 U9 以此兩方法分析結果不同。一般認為耳石在形成結晶之後，微量元素會穩定的沉積在耳石中，不太會再有所改變，因而能忠實還原其生活之環境水體微化學組成差異(Wells et al., 2000a,b; Wells et al., 2003)，而本研究中樣本 U9 鱗片錳元素濃度較其他放流魚的錳元素濃度約低三至六倍左右，可能是由於魚體長時間處於飢餓狀態，鱗片的成長受到影響(Bilton and Robins, 1971a,b,c)，甚至魚類為了繼續存活下去，會吸收鱗片以供給自身所需養分，也就是有再吸收的現象產生(Bilton, 1975)，因而鱗片上所測得的錳濃度較低，導致利用鱗片錳元素判別方法產生誤判。本研究以耳石中鎂及錳元素濃度的分析結果為基礎(林 2008)，來探討鱗片錳元素濃度判別的準確性，其中樣本 U1~U8 兩方法的分析結果相符，只有樣本 U9 分析結果不同，因此以鱗片錳元素濃度差異判別的準確率可達  $(8/9) \div 88.9\%$ (表 7)，而利用鱗相判別結果 U8 和 U9 和利用耳石鎂錳元素

(林 2008)分析結果相同，準確率為 $(2/9) \div 22.2\%$ (表 7)。

#### 4.5.分析方法比較

本研究希望能發展一套分析成本低且可快速分辨放流與野生魚的判別方法，因此進行此兩分析方法的比較。在利用雷射感應耦合電漿質譜儀(LA-ICP-MS)分析耳石鎂錳微量元素組成方面，由於硬骨魚類的耳石在胚胎時期就已經開始形成，且它會與魚類同步成長，有規律、有系統地吸收外在環境中的微量元素，把魚類所經歷的外在環境變化紀錄在耳石上，經由適當的包埋、研磨及拋光，並透過雷射感應耦合電漿質譜儀(LA-ICP-MS)分析便可將耳石微量元素之時序列變化及指紋圖表現出來，重現魚類的洄游環境史。由於雷射感應耦合電漿質譜儀(LA-ICP-MS)是一種相當新穎的微量元素及同位素分析儀器，它結合了 ICP 絕佳的原子化和游離化的特性，以及質譜儀的高靈敏度及測定同位素的能力，且雷射剝蝕進樣系統具有定點分析等優點，是一套分析魚類硬組織元素時序列變化很好的儀器，但雷射感應耦合電漿質譜儀屬高精密儀器，設備價格昂貴，台灣擁有此設備的研究單位不多，例如成大貴重儀器使用中心，因此在進行耳石元素微化學分析時，在等待使用儀器所花費時間久，可能需等待一星期至數個月的時間才能分析一批樣本，且分析價格昂貴，一樣本分析 3 個元素內收費 1500 元，4~6 個元素需要花費 2400 元(成大貴儀中心)，較不適合應用於大量樣本的分析上面。

利用石墨式原子吸收光譜儀(GFAAS)分析黑鯛鱗片錳元素組成方面，

鱗片形成後也會與魚類同步成長，並吸收外在環境中的微量元素，把魚類所經歷的外在環境變化紀錄起來，由於鱗片的成長是一層一層堆疊起來，厚度由中間向外圍減少，也就是表層新底層舊，因此探討鱗片微量元素之時序列變化的研究較少，許多研究比較偏向以微量元素的相對濃度來探討魚類的起源，如利用鱗片的鋁濃度高低來判別路封型或洄游型的鱒魚 (Bagenal et al.,1973；Eek and Bohlin, 1997；Koksvik and Steinnes, 2005)，經由鱗片鋁濃度變化，將生活於淡水中的條紋鱸魚(*Morone saxatilis*)從商業性捕捉到的漁獲中分辨出來(Belanger et al., 1987)，藉由分析鱗片重金屬濃度，以分辨哪些魚隻是來自受汙染的河川(Coillie and Rousseau, 1974)。而本研究黑鯛魚苗是養殖漁民使用地下水養殖，此種特殊的操作方式造成在放流魚鱗片核心與外圍區域的錳濃度出現較大的差異，因此只需利用石墨式原子吸收光譜儀分析鱗片的核心與外圍部位，即可將放流魚和野生魚區分開來。而石墨式原子吸收光譜儀也具有高靈敏度、方便、快速、及可自動化等優點，是分析化學上一項主要的分析工具，主要用來測定樣品中的重金屬，樣品包括環境水體、土壤、空氣粒塵及生物檢體等，相較於雷射感應耦合電漿質譜儀，石墨式原子吸收光譜儀造價較低，許多分析化學實驗室皆有此套分析設備，且在分析價格上也較為便宜，適合應用於大量未知樣本的分析上，和耳石鎂錳元素的分析結果相比可達93.3%的準確率，平均分析一鱗片樣本只需花費 142 元，大大的降低分析成本。

此兩套分析方法各有其優點，耳石有紀錄環境日變化的優點，很適合

用於魚類洄游的探討，因此利用雷射感應耦合電漿質譜儀(LA-ICP-MS)分析耳石鎂錳微量元素組成，可以詳細的提供放流魚從出生到漁獲死亡這段時間的資訊。而鱗片在樣本收集上較耳石為容易，不易造成魚體死亡，可應用於稀少或受捕撈限制的魚種等優點，本研究以人為方式將鱗片樣本區分為核心與外圍兩部分，再利用石墨式原子吸收光譜儀分析鱗片的錳元素濃度，以探討放流前後的錳濃度差異，因此只要分析結果是鱗片核心錳元素濃度高於外圍部分，即可簡單的將放流魚辨別出來，但在使用鱗片作為分析材料時，需注意鱗片有容易脫落和再生的問題，要避免挑選再生鱗來進行分析。

#### 4.6.放流魚來源探討

以鱗片核心與外圍錳元素濃度差異判斷 20 尾未知魚中，其中判斷為放流魚的有 U5、U6、U7、U8、U10、U11、U12、U13、U14、及 U16 十個樣本，由於每年皆有在白沙屯海域放流一定數量的人工養殖黑鯛，因此不排除在上述樣本中有早年放流黑鯛的存在。若判斷為放流魚的黑鯛樣本與 2005 年及 2008 年所標識放流之黑鯛為同一批魚苗，則在一定時間內所採集到的樣本，兩者體長相差應不至於過大。樣本 M1、M2 及 M3 三尾有紅色螢光標識魚為 2005 年所放流的黑鯛，體長分別為 11.8、12.5 及 15.6 cm，而 U5、U6、U7 和 U8 四尾判斷為放流魚樣本為 2005~2006 所採集的，體長分別為 9.7、37.6、27.2 及 17.9 cm，故研究推測 U5 和 U8 為 2005 年所放流之黑鯛，樣本 U6 和 U7 體長和 2005 年的放流魚相



差甚多，推測有可能是 2005 年以前所放之黑鯛，而 2004 年 5 月台灣漁業永續發展協會曾於白沙屯海域進行黑鯛魚苗放流，因此推測樣本 U6 和 U7 可能為 2004 年或更早年所放流的黑鯛。

M4 及 M5 兩尾有綠色螢光標識魚為 2008 年所放流的黑鯛樣本，體長分別為 14.0 及 11.5 cm，而 U10、U11、U12、U13、U14、及 U16 六尾判斷為放流魚樣本為 2008 年所採集的，體長分別為 13.0、14.2、15.4、23.0、19.4 及 27.0 cm，其中 U10、U11 和 U12 體型大小和標識魚相似，推測此三尾未知魚應為 2008 年 6 月至 9 月期間，於苗栗縣通宵鎮白沙屯海域所標識放流的黑鯛，由於這段期間所放流魚皆經過標識後才行放流，可能顯示在進行魚苗大量標識的處理步驟時，有部分魚體並未標識到或有標識脫落的問題存在。而樣本 U13、U14、及 U16 體長與 2008 年的放流魚相差甚多，推測 U13、U14、及 U16 三樣本應為 2007 年台灣漁業永續發展協會於白沙屯海域所放流之黑鯛。

#### 4.7.微化學元素之應用

目前魚苗放流效益評估的方法主要還是以標識放流法為主，其方法可以明確的得知某批標識放流魚於野外的生存期間與生存狀態，但標識放流需花費相當可觀的時間和金錢，且無法應用於早期大量未進行標識放流的魚群，今後若想要將所有放流魚進行標識，又有執行層面上的困難存在，而台灣每年放流的魚種達數十種之多，並非每種魚種都適合進行標識放流。在台灣有許多魚苗繁養殖場，在進行魚苗繁養殖時的操作方式與黑鯛繁養殖的方法相



似，在魚苗養殖階段都會使用部分的地下水作為淡水水源，因此未來可研究以鱗片的錳元素差異作為其他種放流魚的適用性。



## 五、 結論

1. 本研究觀察放流魚的鱗相，可在放流魚鱗相上觀察到不連續帶記號，鱗相觀察的可判別率為 40%。
2. 養殖魚和放流魚鱗片上的錳元素濃度共同特徵為鱗片核心的錳元素濃度高於鱗片外圍部分，鱗片錳元素分析的可判別率為 100%。
3. 未來在判斷未知魚來源時，可先初步觀察鱗相有無不連續帶記號，將部分放流魚辨別出來，減少之後微量元素分析之樣本數量，接下來分析未知魚鱗片的錳元素濃度，判別剩餘未知魚的來源。最後，可將鱗片判斷結果有疑問之樣本進行耳石鎂、錳元素分析(圖 12)，如此便可有效的減省花費的時間與經費，且不需再經由標識試驗，即可評估放流之成效，並計算出早年未經標識放流的放流魚對海中資源的貢獻度，如此也更容易進行資源的管理與研擬最佳的放流方式。

## 參考文獻

- 王光明、王敏昭。(2003)。實用儀器分析。合記圖書出版社，pp.237-315。
- 朱祥海。(1997)。魚類學，水產出版社。
- 吳全橙、郭慶老。(1994)。台灣北部標識放流黑鯛之移動與再捕。水產研究，2(2): pp.1-33。
- 李明安。(2008)。台灣漁業永續發展協會會訊，pp1-5。
- 李英周、張惟哲、呂榮琦、張承容。(2008)。魚苗放流後之成長、存活率與放流效益之評估。行政院農業委員會科技計畫研究報告，20p。
- 李英周、張惟哲。(2006)。魚苗標識試驗及放流效果評估。九十五年度漁業資源評估管理及利用研討會論文集，國立台灣海洋大學，pp21-24。
- 李英周、張惟哲。(2007)。台灣西部海域黑鯛魚苗放流效果評估。台灣水產，2(8):14-24。
- 沈世傑。(1993)。台灣魚類誌。養魚世界出版，pp.363-366。
- 林政偉。(2001)。台灣東北部卯澳灣九孔(*Haliotis diversicolor supertexta*)放流最適體長之研究。國立台灣大學漁業科學研究所碩士論文，76p。
- 林皇安。(2008)。利用耳石化學元素中鎂及錳差異判別放流與野生黑鯛之研究。國立台灣大學漁業科學研究所碩士論文，pp.1-31。
- 胡興華。(2002)。台灣的漁業。遠足文化出版，pp. 66-67。
- 能勢幸雄、石井丈夫、清水誠。(1988)。第六章 標識放流法。水產資源學，東京大學出版社，pp.135-152。
- 張峰榮。(1995)。台灣黑鯛繁殖產業之經濟分析。國立台灣海洋大學水產養殖

- 研究所碩士論文，pp.1-12。
- 張惟哲。(2006)。大量魚苗標識與放流之研究。國立台灣大學漁業科學研究所碩士論文，pp.1-26。
- 張誠信。(1996)。雲林地區地下水流之三維數值模擬。國立台灣大學農業工程學研究所碩士論文，pp.1-2。
- 陳一鳴。(1993)。海洋牧場。「海洋資源」專輯，第 0285 期。
- 郭晃豪。(1999)。台灣東北部海域野生與放流九孔之辨別及成長之研究。國立台灣大學漁業科學研究所碩士論文，65p。
- 郭慶老。(2002)。台灣海洋物種之標識放流試驗。台灣海洋學刊，第 40 期，第 1 號，pp.13-20。
- 黃文彬。(1999)。黑鯛 *Acanthopagrus schlegeli* 之添加過程。國立台灣大學動物學研究所博士論文，pp.5-8。
- 葉昌臣等。(1995)。漁業資源增殖-理論、方法、評估、管理。水產出版社，pp.1-6。
- 解富民。(2000)。雲林沿海地區地層下陷歷程之分析。國立臺灣大學地質學研究所碩士論文，pp. 4-7。
- 廖榮文。(1998)。海洋學概論。徐氏基金會出版，pp. 227-232。
- 廖錦焜。(2001)。台灣南部海域黃鰭鮪鱗片膠質纖維層作為年齡查定形質可行性之研究。國立台灣大學海洋研究所碩士論文，pp.7-32。
- 賴春福、吳佳瑞、潘智敏。(2004)。菜市場魚圖鑑。大樹文化出版，pp.160。
- 簡春潭。(1995)。台灣周邊海域鯛亞科(鱸形目：鯛科)魚類種間親緣關係及種內族群遺傳之研究。國立台灣海洋大學漁業科學研究所博士論文，pp.42-54。
- Anon. 2006. 環境水質監測年報-地下水水質篇。行政院環境保護署，pp.2-15。

- Babaluk, J.A., and Campbell, J.S. 1987. Preliminary results of tetracycline. Labeling for validating annual growth increments in opercula of walleyes. *North American Journal of Fisheries Management* **7**:138-141.
- Bagenal, T.B., Mackeret, F.J., and Heron, J. 1973. Distinction between brown trout and sea trout by strontium content of their scales. *Marine and Freshwater Biology* **5**(4) :555-557.
- Beatriz M.N. 2000. Review of the growth regulation processes of otolith daily increment formation. *Fisheries Research* **46**:53–67.
- Belanger, S.E., Cherry, D.S. Ney, J.J., and Whitehurst, D.K. 1987. Differentiation of freshwater versus saltwater striped bass by elemental scale analysis. *Transactions of the American Fisheries Society* **116**:594–600.
- Bilton, H. T., and Robins, G.L. 1971a. Effects of feeding level on circulus formation on scales of young sockeye salmon (*oncorhynchus nerka*). *Journal of the Fisheries Research Board of Canada* **28**:861-868.
- Bilton, H.T. 1975. Factors influencing the formation of scale characters. *Bulletin-International North Pacific Fisheries Commission* **32**:102-108.
- Bilton, H.T. 1986. Marking chum salmon fry vertebrae with oxytetracycline. *North American Journal of Fisheries Management* **6**:126-128.
- Bilton, H.T., and Robins, G.L. 1971b. Effects of starvation, feeding, and light period on circulus formation on scales of young sockeye salmon (*oncorhynchus nerka*). *Journal of the Fisheries Research Board of Canada* **28**:1749-1755.
- Bilton, H.T., and Robins, G.L. 1971c. Response of young sockeye salmon (*oncorhynchus nerka*) to prolonged periods of starvation. *Journal of the Fisheries Research Board of Canada* **28**:861-868.
- Bowen, H.J.M. 1979. Environmental chemistry of the elements. Academic press.

- Bryant, M.D., Dolloff C.A., Porter, P.E., and Wright, B.E. 1990. Freeze branding with CO<sub>2</sub> : an effective and easy-to-use field method to mark fish. *American Fisheries Society Symposium* **7**:30-35.
- Campana S.E., and Jones, C.M. 1992. Analysis of otolith microstructure data. In: Stevenson DK, Campana SE (eds) Otolith microstructure examination and analysis. *Can. Spec. Publ. Fish. Aquat. Sci.***117**:73-100.
- Campana, S.E. 1999. Chemistry and composition of fish otoliths: pathways, mechanisms and applications. *Marine Ecology Progress Series* **188**: 263-297.
- Campana, S.E., and Fowler, A.J. 1994. Otolith elemental fingerprinting for stock identification of Atlantic cod (*Gadus morhua*) using laser ablation ICPMS. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* **51**:1942-1950.
- Chang, W.C., Lee, Y.C., and Shih, C.H. 2008. The determination of mass marking methods with high marks retention rate for hatchery-reared fry. *Journal of the Fisheries Society of Taiwan* **35**(2):185-194.
- Collie, R., and Rousseau, A. 1974. Composition minerale des exailes du (*Catostomus commersoni*) isu de deux milieux differents: etude par microscopie electronique analytique. *Journal of the Fisheries Research Board of Canada* **31**:63–66.
- Coombs, K.A., Bailey, J.K. Herbinger, C.M. and Friars, G.W. 1990. Evaluation of various external marking techniques for Atlantic salmon. *American Fisheries Society Symposium* **7**:142-146.
- Coutant, C.C., and Chen, C.H. 1993. Strontium microstructure in scales of freshwater and estuarine striped bass(*Morone saxatilis*) detected by laser ablation mass spectrometry. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* **50**:1318-1323.
- Danielssen, D.S. and Gjosaeter, J. 1994. Release of 0-group cod (*Gadus morhua* L.) on the southern coast of Norway in the years 1986-89. *Aquaculture and Fisheries*

*Management* **25**:129-142.

De Bont, A.F., and Coillie R.V. 1966. Scale reading using tetracycline. Proceedings of the International Association of Theoretical and Applied Limnology 16(2):1130-1134.

Edmonds, J. S., Moran, M. J., Caputi, N., and Morita, M. 1989. Trace element analysis of fish sagittae as an aid to stock identification: pink snapper (*Chrysophrys auratus*) in Western Australian waters. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* **46**, 50–54.

Eek, D., and Bohlin, T. 1997. Strontium in scales verifies that sympatric sea-run and stream-resident brown trout can be distinguished by coloration. *Journal of Fish Biology* **51**(3):659-661.

Farrell, A.P., Hodaly, A.H., and Wang, S. 2000. Metal Analysis of Scales Taken from Arctic Grayling. *Environmental Contamination and Toxicology* **39**:515-522.

Flem, B., Moen, V., and Grimstvedt, A. 2005. Trace Element Analysis of Scales from Four Populations of Norwegian Atlantic Salmon (*Salmo salar* L.) for Stock Identification Using Laser Ablation Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry. *Applied Spectroscopy* **59**:245-251.

Gauldie, R.W., West, I.F. and Coote, G. 1991. Seasonal and environmental codes in the chemistry of the scales of the hoki *Macruronus novaezelandiae*. *Tissue and Cell* **23**(4):489-503.

Gillander, B.M. 2001. Trace metals in four structures of fish and their use for estimates of stock structure. *Fishery Bulletin* **99**:410-419.

Hem, J.D. 1992. Study and interpretation of the chemical characteristics of natural water. *USGS Water-Supply Paper* **2254**:38-39.

Hettler, W.F. 1984. Marking otoliths by immersion of marine fish larvae in tetracycline.

- Transactions of the American Fisheries Society* **113**:370-373.
- Humphreys, M., Park, R.E., Reichle, J.J., Mattson, M.T., Dunning, D.J., and Ross, Q.E. 1990. Stocking checks on scales as marks for identifying hatchery striped bass in the Hudson river. *American Fisheries Society Symposium* **7**:78-83.
- Kalish, J.M. 1989. Otolith chemistry: validation of the effects of physiology, age and environment on otolith composition. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* **132**:151-178.
- Kitada, S., Taga, Y and Kishino, H. 1992. Effectiveness of a stock enhancement program evaluated by a two-stage sampling survey of commercial landings. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* **49**:1573-1582.
- Koksvik, J.I., and Steinnes, E. 2005. Strontium content of scales as a marker for distinguishing between sea trout and brown trout. *Hydrobiologia* **544**:51-54.
- Kristiansen, T.S., and Svåsand, T. 1992. Comparative analysis of stomach contents of cultured and wild cod, *Gadus morhua* L. *Aquaculture and Fisheries Management* **23**: 661–668.
- Leber, K.M. and Arce, S.M. 1996. Stock enhancement effect in a commercial mullet *Mugil cephalus* fishery in Hawaii. *Fisheries Management and Ecology* **3**:261-278.
- Lee, S.C. 1983. The family Sparidae (Pisces: Perciformes) of Taiwan. *Journal of the Taiwan Museum* **36**(1):47-55.
- Lowenstein, O. 1971. The labyrinth. In: Hoar WS, Randall DJ (Eds.) *Fish Physiology* **5**:207-240.
- McFarlane, G.A. and Beamish, R.J. 1987. Selection of dosages of oxytetracycline for age validation studies. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* **44**: 905–909.
- McFarlane, G.A., Wydowski, R.S., and Prince, E.D. 1990. External tags and marks,



- historical review of the development of external tags and marks. *American Fisheries Society Symposium* **7**:9-29.
- Meunier, F. 1974. La technique du marquage vital des tissus squelettiques des poissons. *Bull. Fr. Piscic.* **255**: 51-57.
- Neilson, J.D., and Geen, G.H. 1982. Otoliths of Chinook Salmon (*Oncorhynchus tshawytscha*): Daily Growth Increments and Factors Influencing Their Production. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* **39**(10):1340-1347.
- Nielson, B.R. 1990. Twelve-year overview of fluorescent grit marking of cutthroat trout in Bear Lake, Utah-Idaho. *American Fisheries Symposium* **7**:42-46.
- Phinney, D.E., Miller, D.M., Dahlberg, M.L. 1967. Mass-marking young salmonids with fluorescent pigment. *Transactions of the American Fisheries Society* **96**(2):157-162.
- Richkus, W.A. 1978. A quantitative study of inter tide-pool movement of the woolly sculpin *Clinocottus analis*. *Marine Biology(Berlin)* **49**:277-284.
- Secor, D.H. 1992. Application of otolith microchemistry analysis to investigate anadromy in Chesapeake Bay striped bass *Morons saxatilis*. *Fish bulletin* **90**:798–806.
- Seelbach, P.W., and Whelan, G.E. 1988. Identification and Contribution of Wild and Hatchery Steelhead Stocks in Lake Michigan Tributaries. *Transactions of the American Fisheries Society* **117**:444-451.
- Sire, J.Y. 1989. Scales in young *Polypterus senegalus* are elasmoid: New phylogenetic implications. *American Journal of Anatomy* **186**:315-323.
- Sire, J.Y., Allizard, F., Babiar, O., Bourguignon, J., and Quilhac, A. 1997. Scale development in zebrafish (*Danio rerio*). *Journal of Anatomy* **190**: 545–561.
- Sire, J.Y., and Géraudie, J. 1983. Fine structure of the developing scale in the Cichlid *Hemichmm.is bimaculatus* (Pisces, Teleostei, Perciformes). *Acta Zoologica*

(*Stockholm*) **64**:1-8.

Sire, J.Y., and Géraudie, J. 1984 Fine structure of regenerating scales and their associated cells in the cichlid *Hemichromis bimaculatus* (Gill). *Cell Tissue Res* **237**:537–547.

Springer, V.G. 1982. Pacific Plate Biogeography, with Special Reference to Shorefishes. (Smithsonian Institution Press: Washington.)

Stottrup, J.G., Nielsen, J.R., and Rasmussen, K. 1994. Results on the extensive production of North Sea cod, *Gadus morhua* L., and their growth and distribution subsequent to release in the Limfjord, Denmark. *Agriculture and Fisheries Management* **25**:143-160.

Summerfelt, R.C., and Hall, G.E. 1987. Age and growth of fish. Iowa State University Press, Ames. 544 pp.

Swan, S.C., Geffen, A.J., Morales-Nin, B., Gordon, J.D.M., Shimmield, T., Sawyer, T., and Massuti, E. 2006. Otolith chemistry: an aid to stock separation of *Helicolenus dactylopterus* (bluemouth) and *Merluccius merluccius* (European hake) in the Northeast Atlantic and Mediterranean. *ICES Journal of Marine Science* **63**(3):504-513.

Taylor, M.D., and Piola, R.F. 2008. Scale stocking checks to differentiate between hatchery-reared and wild mullet *Argyrosomus japonicus*. *Fisheries Management and Ecology* **15**:211-216.

Taylor, M.D., Fielder, D.S., and Suthers I.M. 2007. Spatial and ontogenetic variation in the diet of wild and stocked mullet (*Argyrosomus japonicus*, Sciaenidae) in Australian estuaries. *Estuaries and Coasts* **29**:1559-2723.

Taylor, M.D., Fielder, D.S., and Suthers, I.M. 2006. Spatial and ontogenetic variation in the diet of wild and stocked mullet (*Argyrosomus japonicus*, Sciaenidae) in

- Australian estuaries. *Estuaries and Coasts* **29**:785-793.
- Thorrold, S.R., Jones, C.M., Swart, P.L., and Targett, T.E. 1998. Accurate classification of juvenile weakfish *Cynoscion regalis* to estuarine nursery area based on chemical signatures in otoliths. *Marine Ecology Progress Series* **173**:253-265.
- Thresher, R.E., Proctor, C.H., Gunn, J.S., Harrowfield, I.R. 1994. An evaluation of electron-probe microanalysis of otoliths for stock delineation and identification of nursery areas in a southern temperate groundfish, *Nemadactylus macropterus* (Cheilodactylidae). *Fish Bull* **92**: 817-840.
- Wang, S., Brown, R., and Gray, D.J. 1994. Application of laser ablation-ICPMS to the spatially resolved micro-analysis of biological tissue. *Journal of Applied Spectroscopy* **48**:1321-1325.
- Waterman, R.E. 1970. Fine structure of scale development in the teleost, *Brachydanio rerio*. *Anatomical record* **168**:361-380.
- Wells, B.K., Bath, G.E., Thorrold, S.R., and Jones, C.M. 2000a. Incorporation of strontium, cadmium, and barium in juvenile spot (*Leiostomus xanthurus*) scales reflects water chemistry. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* **57**(10): 2122-2129.
- Wells, B.K., Rieman, B.E., and Clayton, J.L. 2003a. 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**(3): 409-424.
- Wells, B.K., Thorrold, S.R., and Jones, C.M. 2000b. Geographic variation in trace element composition of juvenile weakfish scales. *Transactions of the American Fisheries Society* **129**:889-900.

Wells, B.K., Thorrold, S.R., and Jones, C.M. 2003b. Stability of elemental signatures in the scales of spawning weakfish, *Cynoscion regalis*. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* **60**(4): 361-369.

Zylberberg, L., Bonaventure, J., Cohen-Solal, L., Hartmann, D.J. and Bereiter-Hahn, J., 1992. Organization and characterization of fibrillar collagens in fish scales in situ and in vitro. *Journal of Cell Science* **103**:273–285.



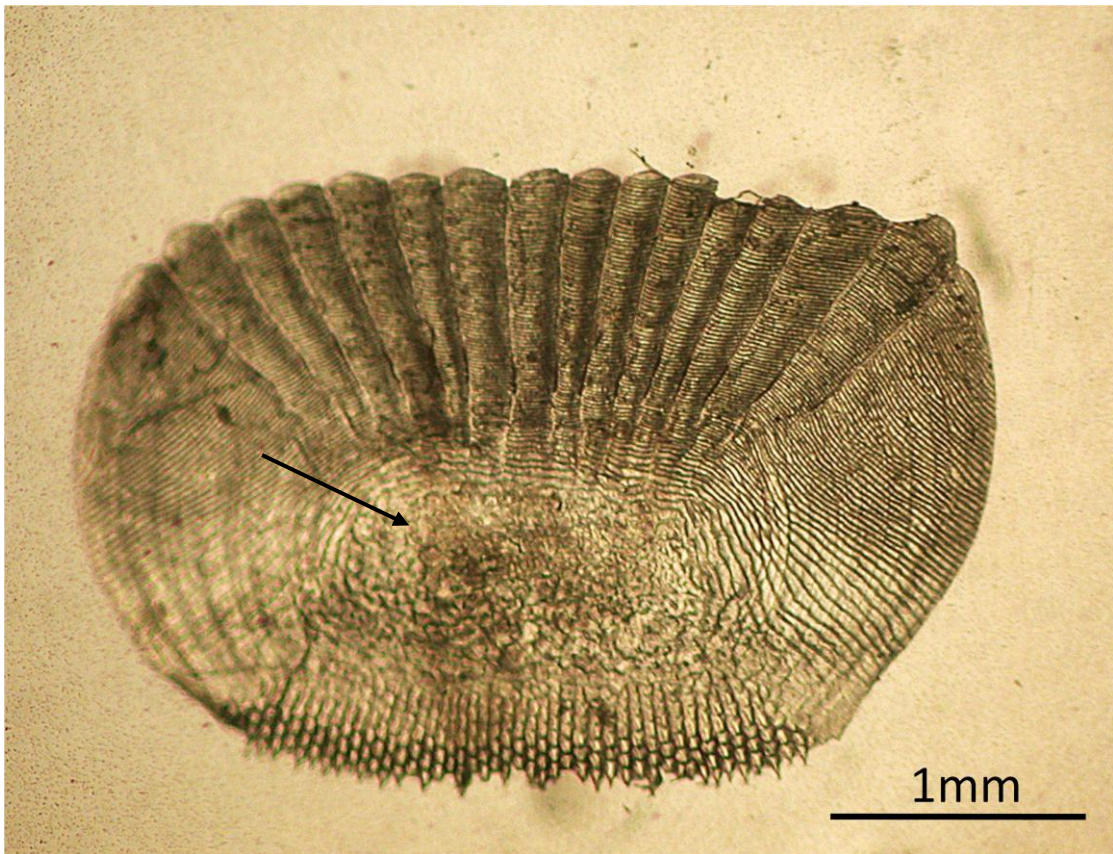


圖 1. 黑鯛再生鱗。箭頭處為鱗片中心部位，輪紋模糊且觀察不到鱗焦。



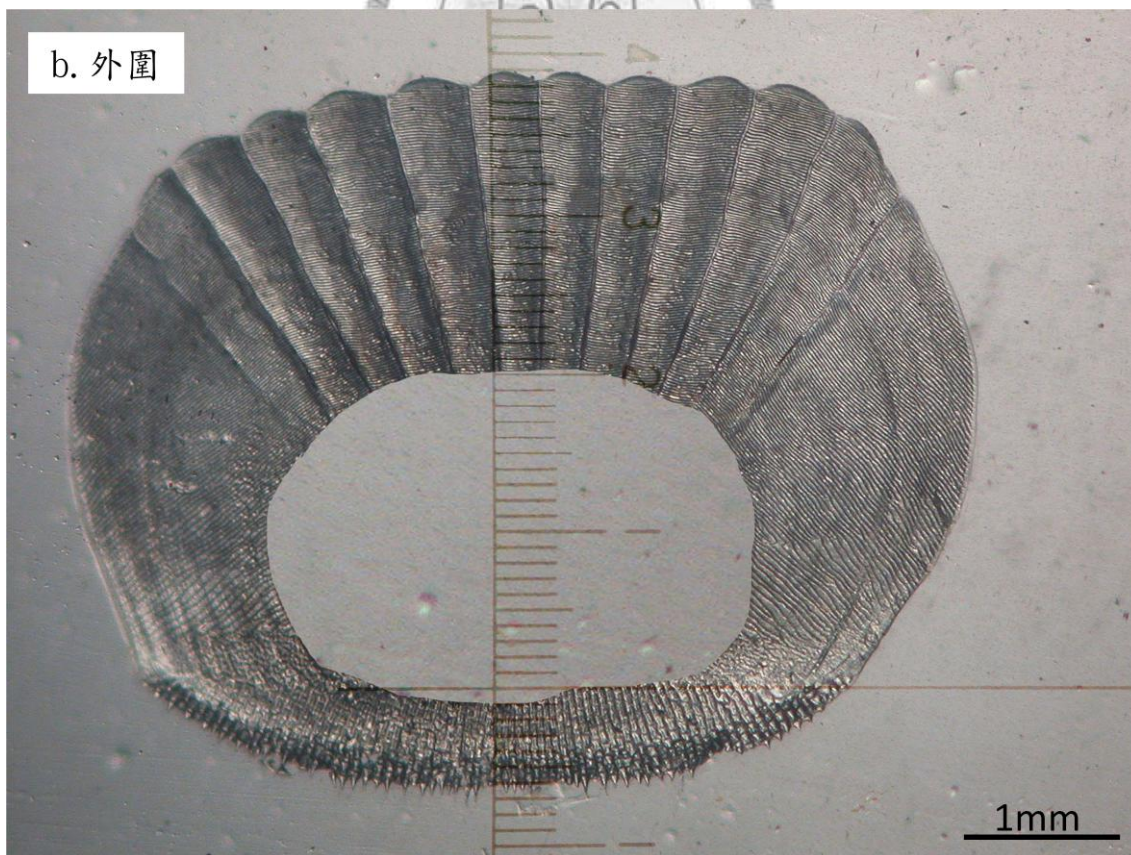


圖 2. 鱗片核心切割圖。(a)為鱗片的核心部位(b)為鱗片的外圍部位。

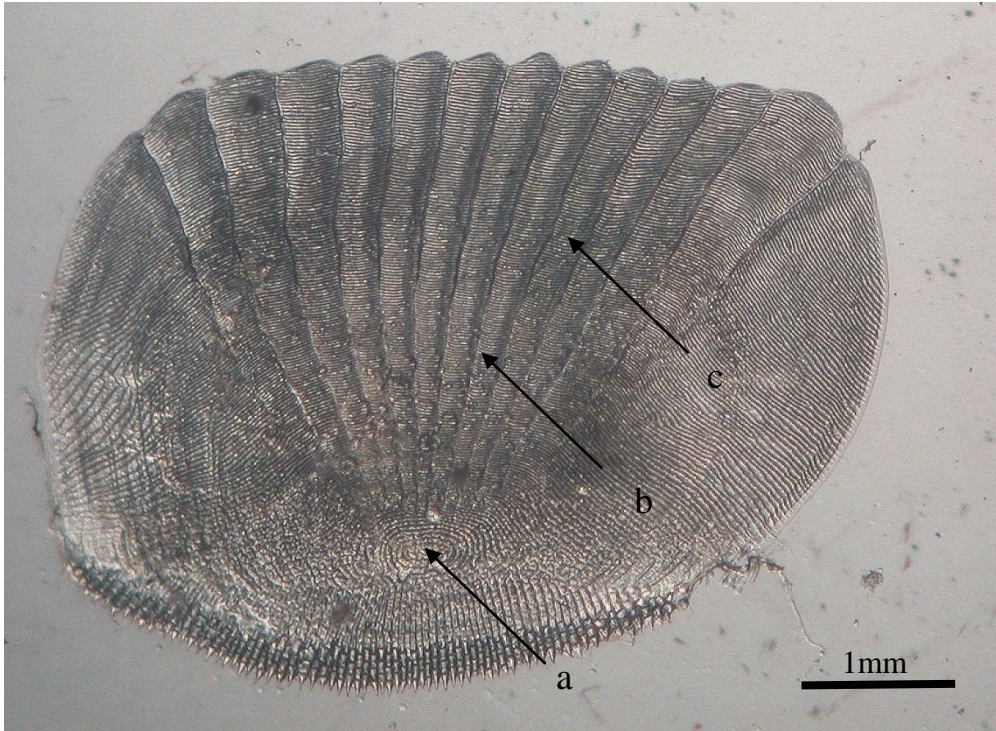


圖 3. 黑鯛櫛鱗結構圖，a 為鱗焦，b 為鱗溝，c 為鱗脊。

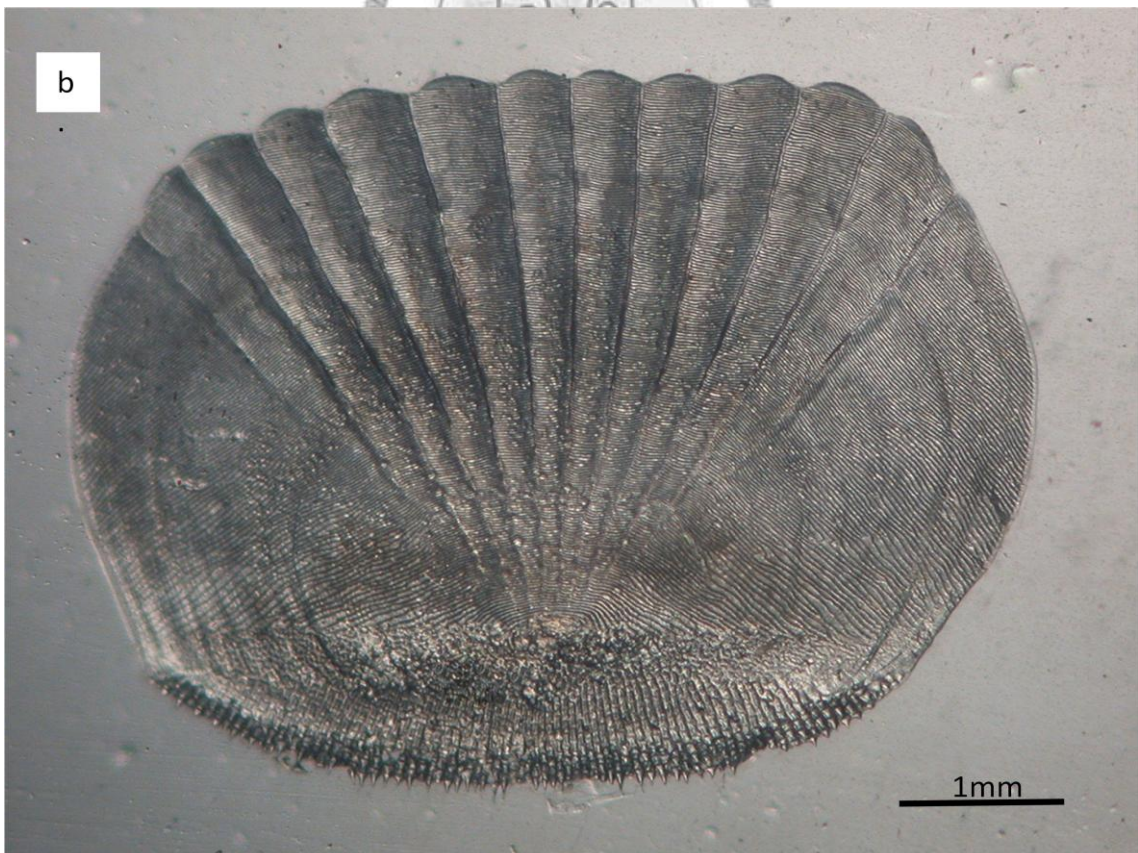
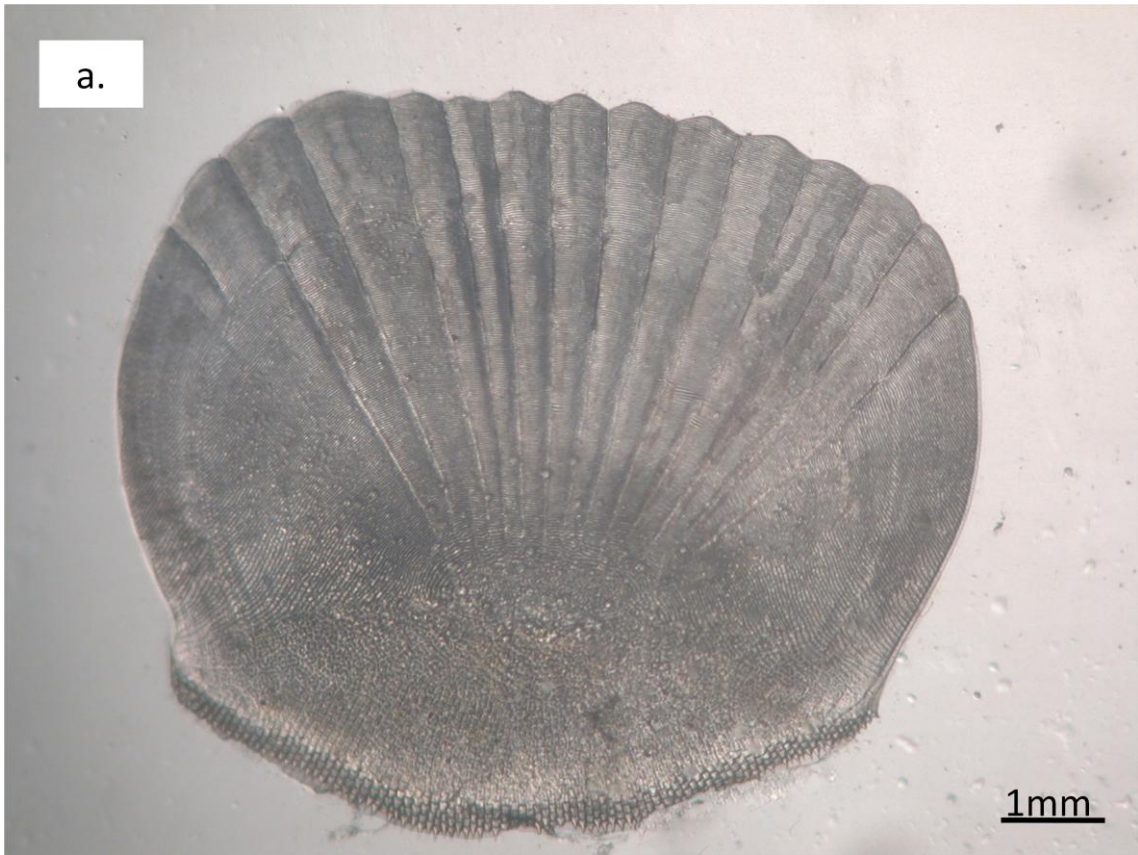


圖 4. 養殖和野生黑鯛鱗相。a 為養殖魚鱗相 b 為野生魚鱗相。



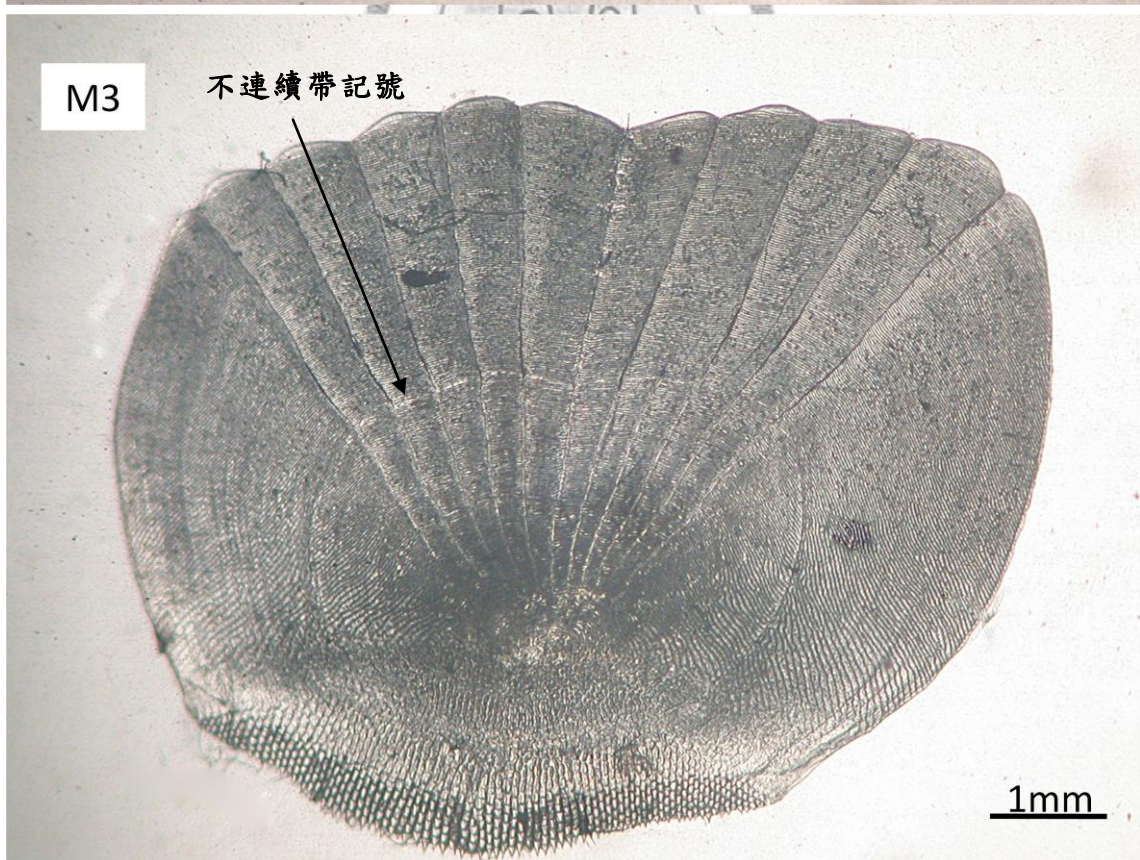
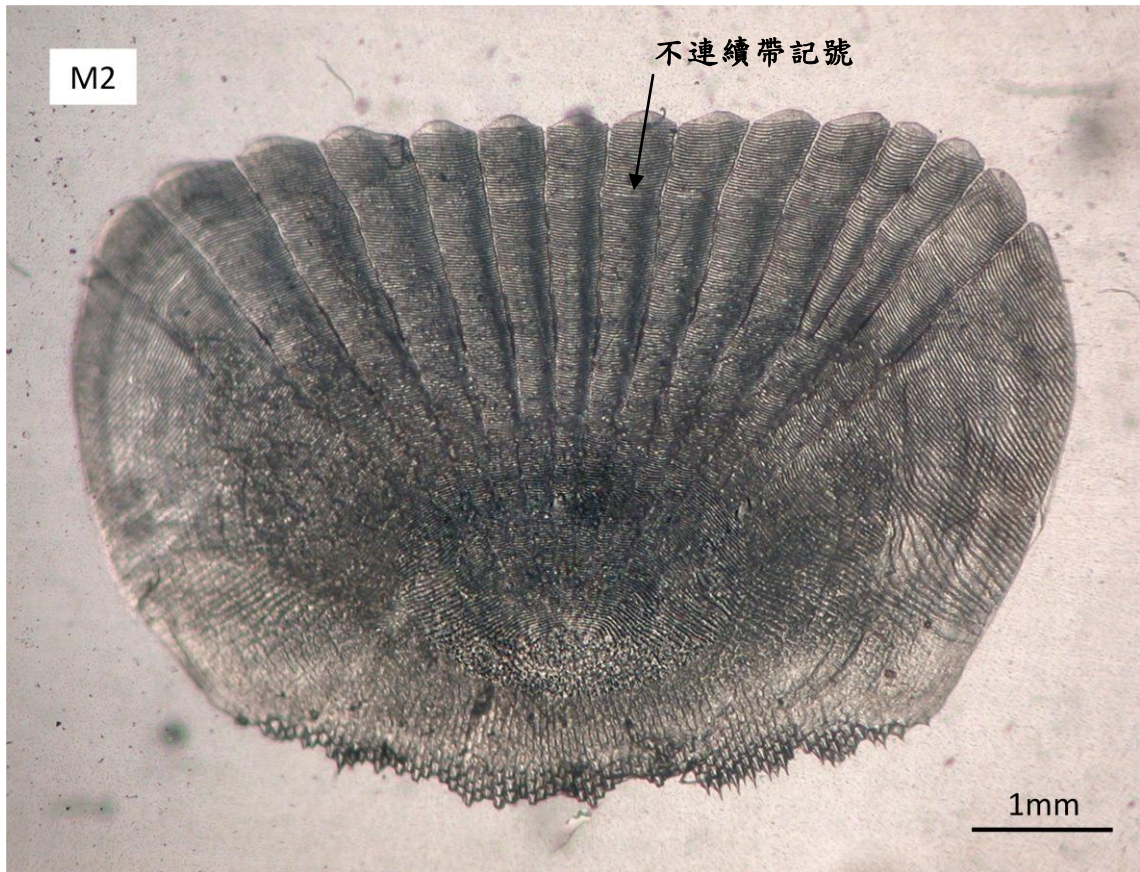


圖 5. 標識放流魚樣本 M2 及 M3 的鱗相。

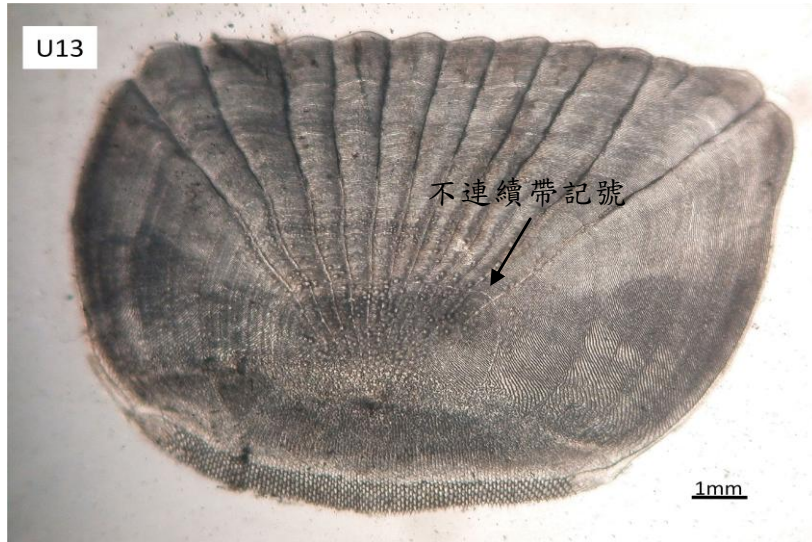
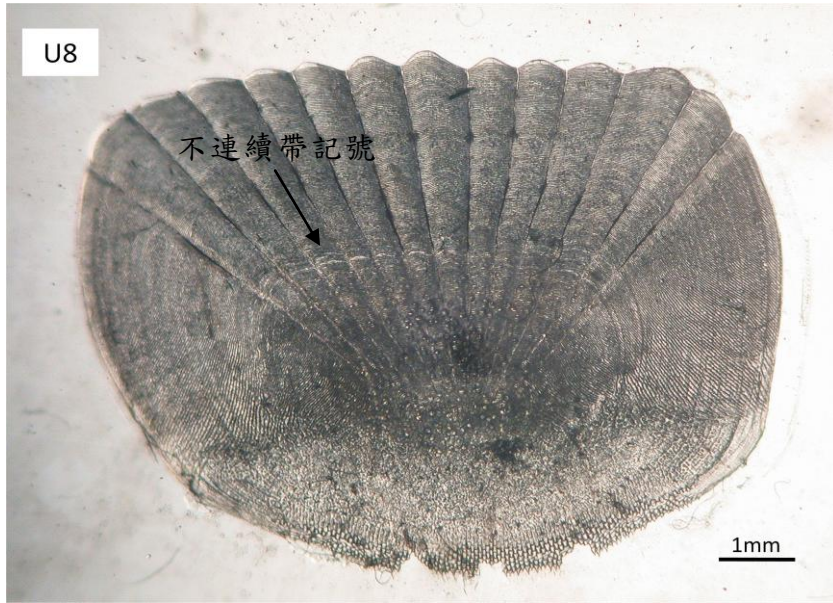


圖 6. 未知來源魚樣本 U8、U13 及 U14 的鱗相。

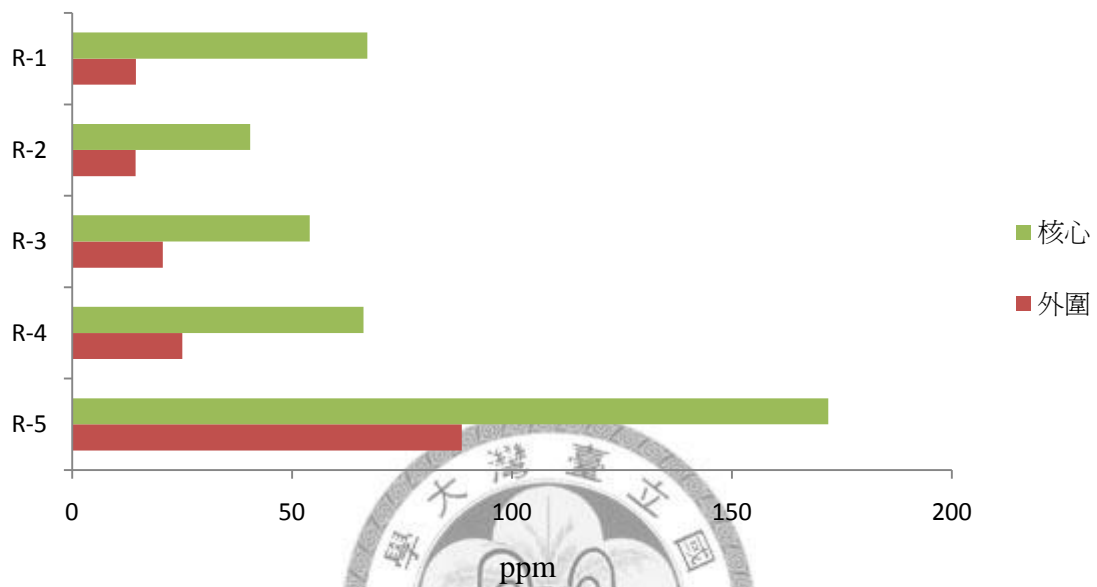


圖 7. 養殖黑鯛鱗片樣本核心及外圍之錳元素濃度。

橫軸為錳元素濃度(ppm)，縱軸為五尾養殖魚樣本編號，長條圖由上而下依序代表鱗片核心部分及鱗片外圍部分。

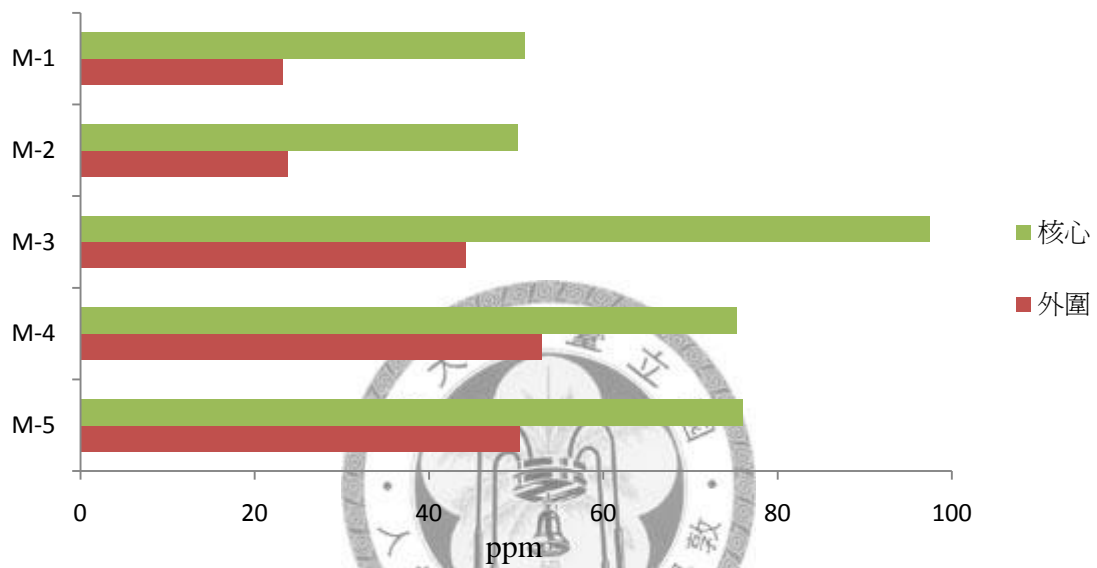


圖 8. 放流再捕黑鯛鱗片樣本核心及外圍之錳元素濃度。

橫軸為錳元素濃度(ppm)，縱軸為五尾標識放流魚樣本編號，長條圖由上而下依序代表鱗片核心部分及鱗片外圍部分。

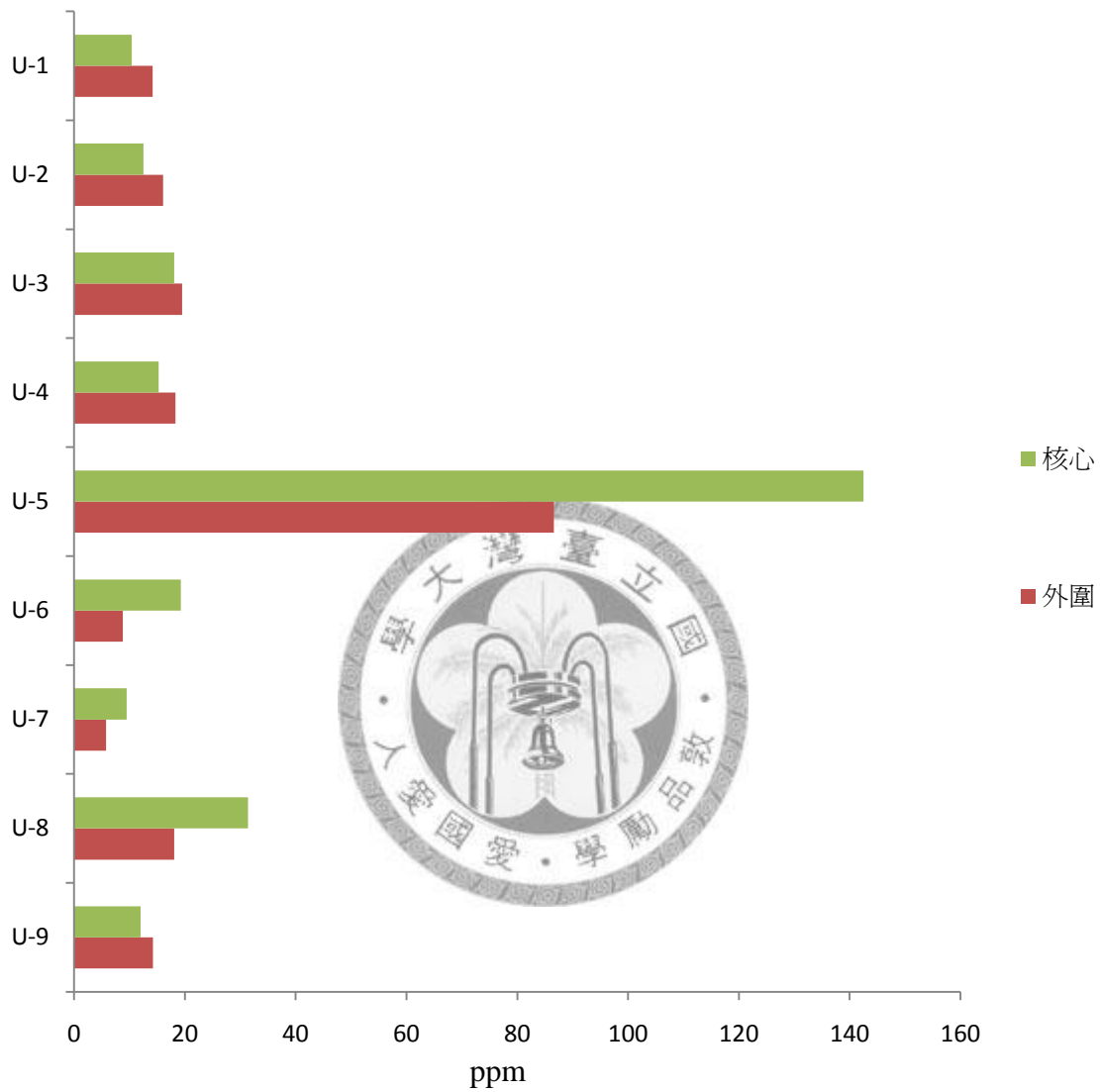
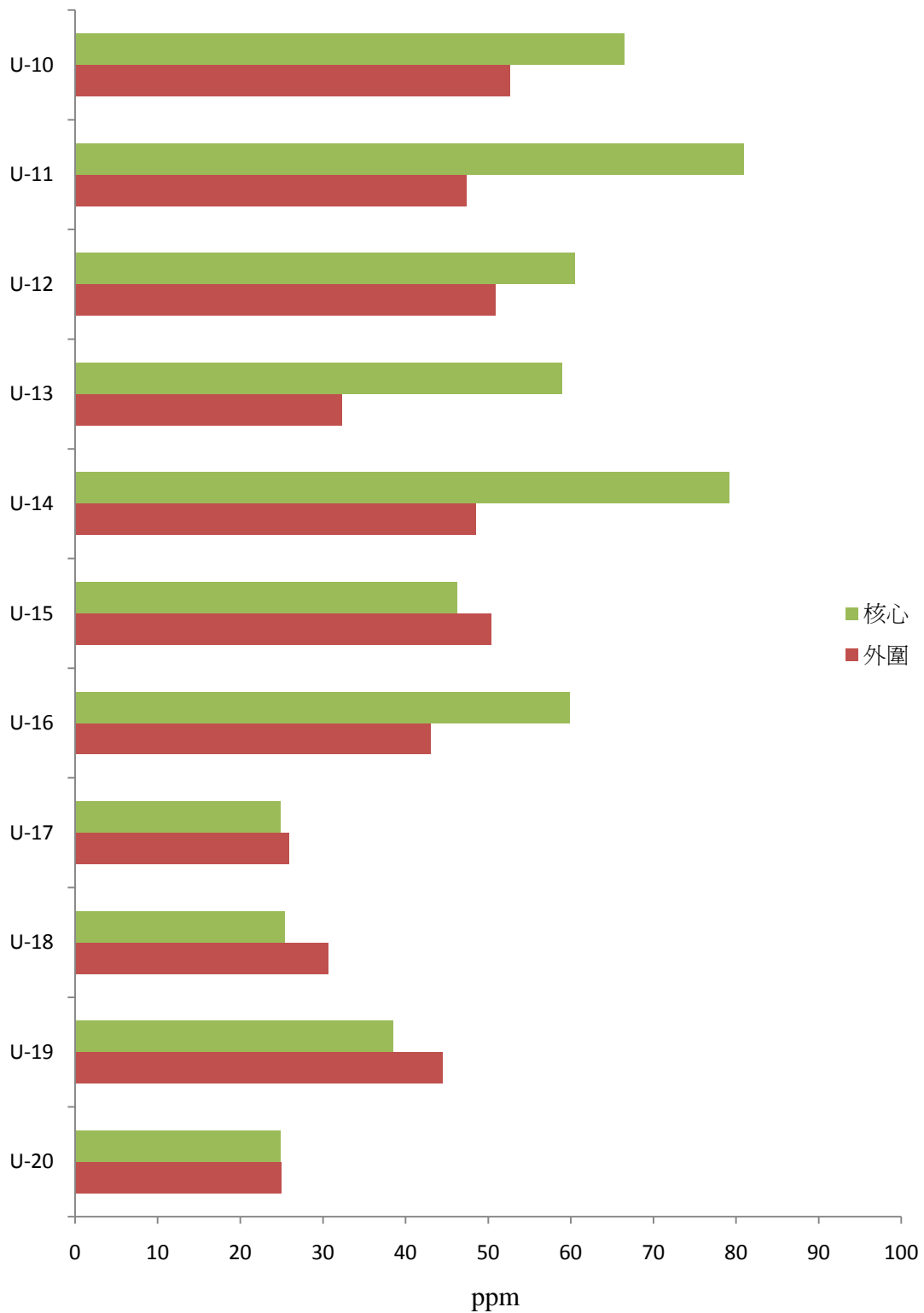


圖 9. 九尾未知來源黑鯛鱗片樣本核心及外圍之錳元素濃度。

橫軸為錳元素濃度(ppm)，縱軸為九尾未知來源魚樣本編號，長條圖由上而下依序代表鱗片核心部分及鱗片外圍部分。



續圖 9. 十一尾未知來源黑鯛鱗片樣本核心及外圍之錳元素濃度。

橫軸為錳元素濃度(ppm)，縱軸為十一尾未知來源魚樣本編號，長條圖由上而下依序代表鱗片核心部分和鱗片外圍部分。

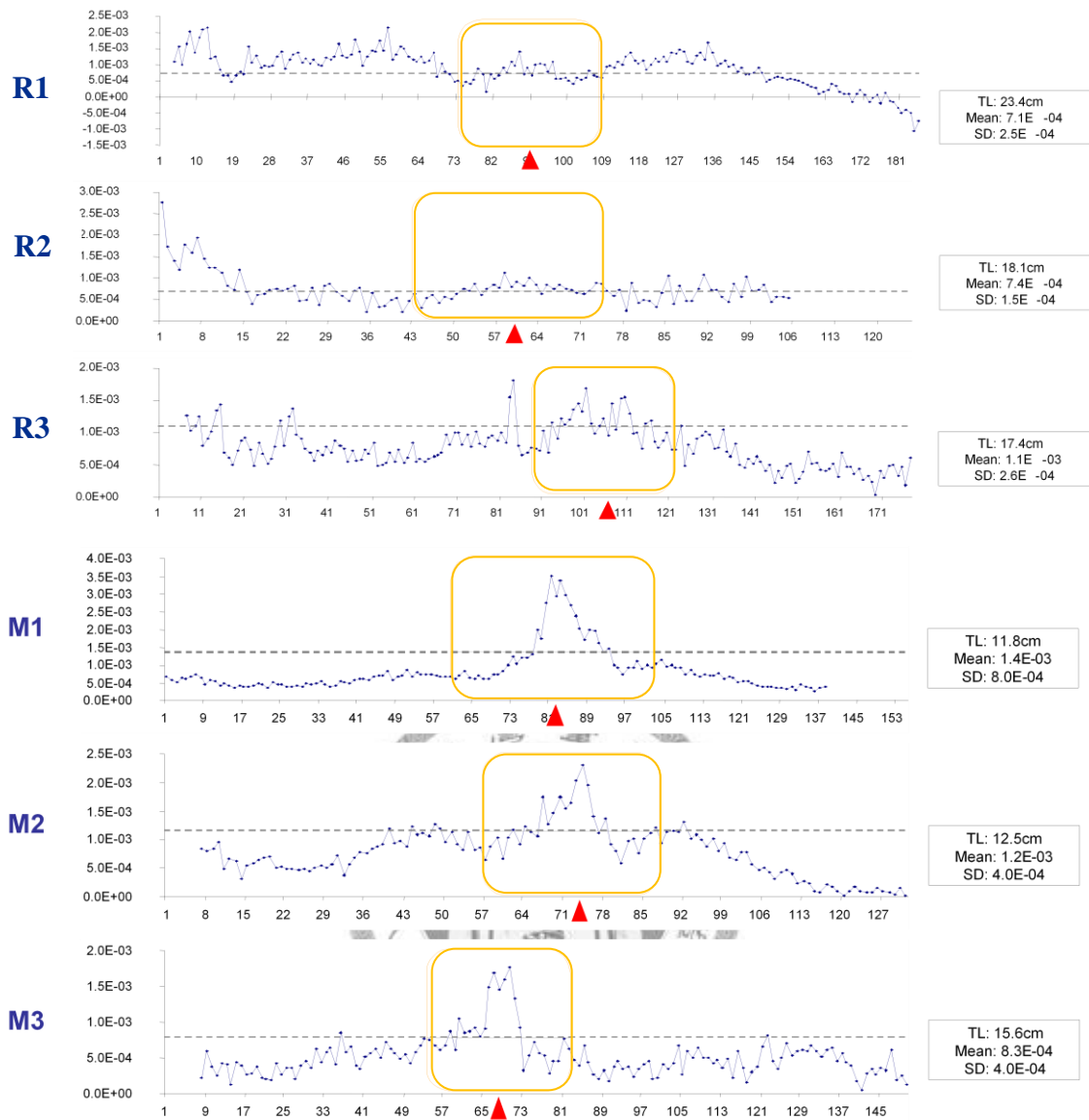


圖 10. 人工養殖與放流再捕黑鯛耳石樣本之鎂鈣比數值變化圖。

橫軸為各分析點與核心之距離( $\mu\text{m}$ )，縱軸為鎂鈣比數值，方框處為耳石核心區域，虛線處為核心區域濃度平均值，TL：全長，Mean：核心區域濃度平均值，SD：核心區域濃度標準差(林 2008)。

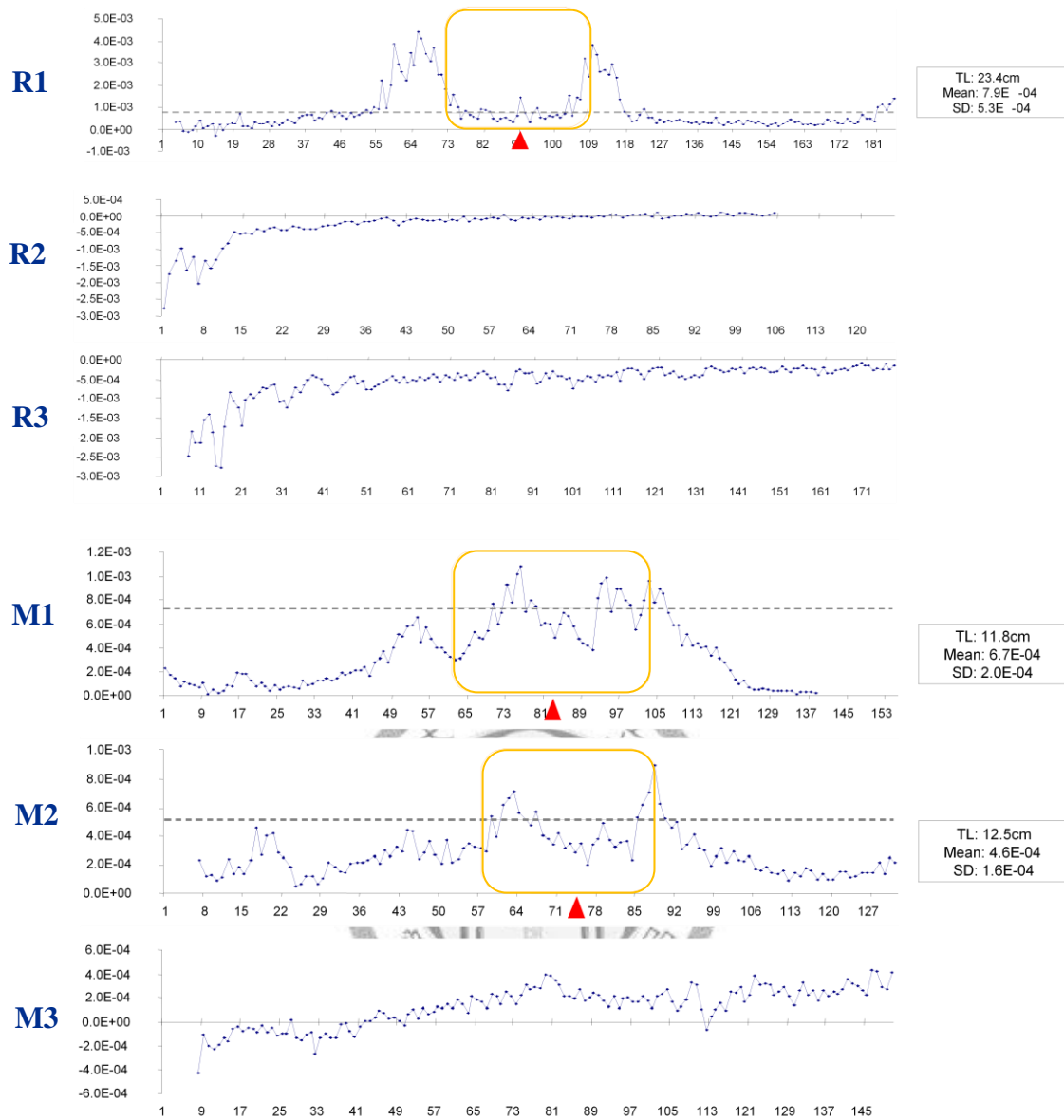


圖 11. 人工養殖與放流再捕黑鯛耳石樣本之錳鈣比數值變化圖。

橫軸為各分析點與核心之距離( $\mu\text{m}$ )，縱軸為錳鈣比數值，方框處為耳石核心區域，虛線處為核心區域濃度平均值，TL：全長，Mean：核心區域濃度平均值，SD：核心區域濃度標準差(林 2008)。



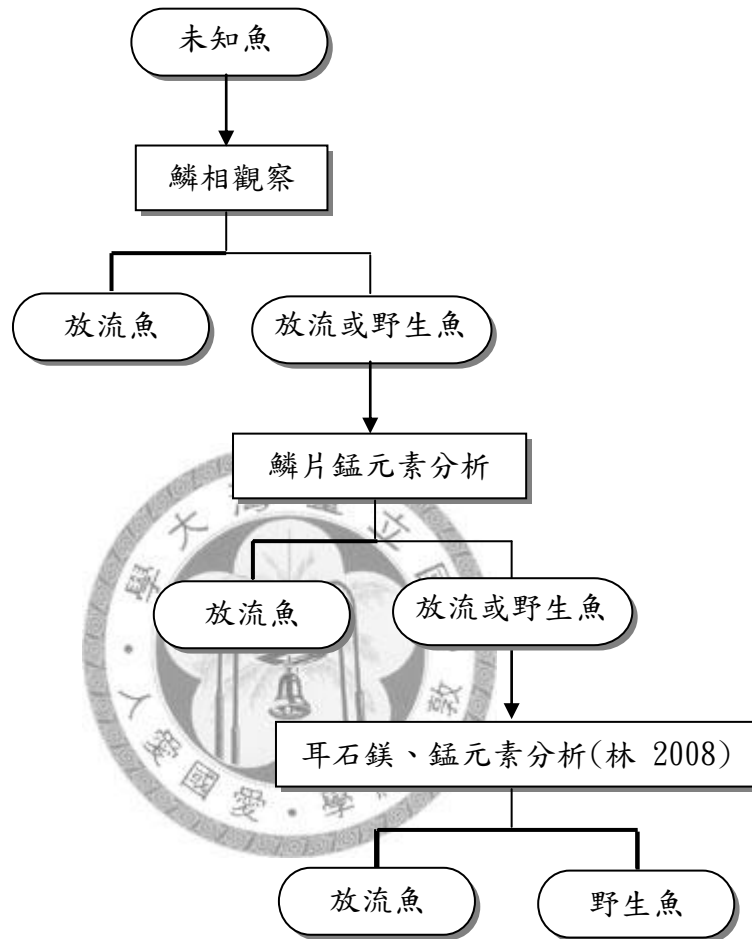


圖 12. 依據鱗相、鱗片錳元素分析與耳石鎂、錳元素分析分辨放流與野生魚的判別流程圖。

表 1. 本研究使用 30 尾黑鯛樣本資料表。

編號	採集時間	全長(cm)	體重(g)	樣本描述
R1	2007/01/12	23.4	270.7	完全人工養殖魚
R2	2007/01/12	18.1	108.6	..
R3	2007/01/12	17.4	87.2	..
R4	2008/09/13	22.5	170.8	..
R5	2008/09/13	24.8	224.5	..
M1	2006/05/07	11.8	29.2	體表有紅色螢光標識
M2	2006/06/20	12.5	33.6	..
M3	2006/06/20	15.6	58.7	..
M4	2008/10/22	14.0	49.4	體表有綠色螢光標識
M5	2008/10/22	11.5	31.4	..
U1	2005/12/03	16.5	73.1	體表無螢光標識
U2	2006/02/27	13.1	55.7	..
U3	2005/12/02	17.2	69.7	..
U4	2006/02/27	14.9	78.1	..
U5	2005/12/13	9.7	15.3	..
U6	2006/08/31	37.6	1022.1	..
U7	2006/08/31	27.2	461.6	..
U8	2005/12/03	17.9	119.5	..

樣本R1至R5為養殖魚，樣本M1至M5為放流魚，樣本U1至U20為未知魚。

續表 1. 本研究使用 30 尾黑鯛樣本資料表。

編號	採集時間	全長(cm)	體重(g)	樣本描述
U9	2006/02/27	14.8	60.2	體表無螢光標識
U10	2008/10/22	13.0	45.3	..
U11	2008/10/22	14.2	62.2	..
U12	2008/10/22	15.4	72.5	..
U13	2008/03/26	23	252.5	..
U14	2008/03/26	19.4	149.3	..
U15	2008/03/26	24.9	299.6	..
U16	2008/03/26	27.0	339.9	..
U17	2008/10/17	29.0	433.7	..
U18	2008/10/17	24.1	277.6	..
U19	2008/10/17	30.0	600.0	..
U20	2008/10/22	34.0	1024.9	..

樣本R1至R5為養殖魚，樣本M1至M5為放流魚，樣本U1至U20為未知魚。

表 2. Hitachi Z-5700(Mn)石墨爐式原子吸收光譜儀設定條件。

Element	Mn
Lamp current (mA)	9.0
Wave length (nm)	279.6
Spectral slit (nm)	0.4
Temp. Control	0.1
Cuvette type	pyro
Sample volumn ( $\mu\text{L}$ )	20



表 3. Mn 升溫程式(Hitachi-5700)。

階段	開始(溫度)	結束(溫度)	秒	載流氣體(ml/min)
乾燥(Dry)	80	140	40	200
灰化(Ash)	750	750	20	200
原子化(Atom)	2300	2300	5	30
清除(Clean)	2400	2400	4	200

表 4. Hitachi-5700 之常用檢量線的分析值。

元素	檢量點	檢量點	檢量點	檢量點
Mn (ppb)	0	2	4	8

表 5. 已知魚(養殖與放流魚)可判別尾數及比例(%)。

判別項目	總數	養殖魚	比例	%
鱗相	5	2	2/5	40
鱗片錳元素分析	10	10	10/10	100
耳石鎂、錳元素分析(林 2008)	6	6	6/6	100

(1) 以鱗相特徵判別 5 尾放流魚，其中 2 尾魚可觀察到不連續帶記號，可判別率為 40%，(2) 以鱗片錳元素分析判別 5 尾養殖魚和 5 尾放流魚，分析結果將此 10 尾判別為養殖魚，可判別率為 100%，(3) 以耳石鎂、錳元素分析(林 2008)判別 3 尾養殖魚和 3 尾放流魚，分析結果將此 6 尾判別為養殖魚，可判別率為 100%。



表 6. 未知魚可判別尾數及比例(%)。

判別項目	總數	野生	養殖	比例	%
鱗相	20	-	4	4/20	20
鱗片錳元素分析	20	10	10	20/20	100
耳石鎂、錳元素分析(林 2008)	9	4	5	9/9	100

-表示無法判別

(1)以鱗相特徵判別 20 尾未知魚，其中 4 尾魚判別為養殖魚，可判別率為 20%，(2) 以鱗片錳元素分析判別 20 尾未知魚，其中 10 尾魚判別為野生魚，10 尾魚判別為養殖魚，可判別率為 100%，(3) 以耳石鎂、錳元素分析(林 2008)判別 9 尾未知魚，其中 4 尾魚判別為野生魚，5 尾魚判別為養殖魚，可判別率為 100%。



表 7. 比較鱗相、鱗片錳元素與耳石鎂、錳元素可判別尾數與正確率。

判別項目	總數	野生	養殖	比例	%
耳石鎂、錳元素分析(林 2008)	9	4	5		
鱗相	9	-	2	2/9	22.2
鱗片錳元素分析	9	4	4	8/9	88.9

-表示無法判別

以耳石鎂、錳元素分析(林 2008)判別 9 尾未知魚結果為基礎，鱗相特徵判別正確率為 22.2%，而鱗片錳元素分析判別正確率為 88.9%。

