

ISSN 1018 - 7324
GPN 2008200207

水產研究

**JOURNAL OF
TAIWAN FISHERIES RESEARCH**

Vol. 32 No.2 / December 2024



農業部水產試驗所
Fisheries Research Institute, MOA

水產研究

出 版 者：農業部水產試驗所

發 行 人：張錦宜

總 編 輯：葉信明

管理編輯：蔡惠萍、曾振德

諮詢委員：丘臺生、李國添、吳金冽、胡興華、孫璐西、郭光雄、許建宗

黃登福、陳瑤湖、陳宏遠、張清風、張水鍇、廖一久、劉錫江

蔡懷楨、鄭森雄、鄭明修、蕭錫延、蕭泉源、蘇茂森

編輯委員：吳豐成、何源興、翁進興、許晉榮、曾福生、張可揚、楊順德、蔡慧君、謝恆毅

(皆依姓氏筆劃排列)

執行編輯：吳美錚、陳威克

本刊連絡處：

基隆市 202 和一路199號 農業部水產試驗所 水產研究執行編輯

電 話：(02) 2462-2101 轉 2506 或 2517

傳 真：(02) 2462-4627

E-mail：mcwu@mail.tfrin.gov.tw / wkchen@mail.tfrin.gov.tw

本刊刊登本所同仁研究成果，非經本所同意，不得重製、數位化或轉載

JOURNAL OF TAIWAN FISHERIES RESEARCH

Published by *Fisheries Research Institute, Ministry of Agriculture*

Publisher: *Chin-I Chang*

Editor-in-Chief: *Hsin-Ming Yeh*

Managing Editors: *Hui-Ping Tsai, Chen-Te Tseng*

Advisory Board: *Ching-Fong Chang, Shui-Kai Chang, Hounq-Yuan Chen, Yew-Hu Chien, Tai-Sheng Chiu, Chien-Chung Hsu, Sing-Hwa Hu, Deng-Fwu Hwang, Lucy Sun Hwang, Ming-Shiou Jeng, Sen-Shyong Jeng, Guang-Hsiung Kuo, Kuo-Tien Lee, I-Chiu Liao, Hsi-Chiang Liu, Chyuan-Yuan Shiau, Shi-Yen Shiau, Mao-Sen Su, Huai-Jen Tsai, Jen-Leih Wu*

Editorial Board: *Ke-Yang Chang, Huey-Jine Chai, Yuan-Shing Ho, Jinn-Rong Hseu, Hernyi Justin Hsieh, Fu-Seng Tseng, Jinn-Shing Weng, Feng-Cheng Wu, Shuenn-Der Yang*

(in alphabetical order)

Executive Editors: *Mei-Chen Wu, Wei-Ke Chen*

The Journal of Taiwan Fisheries Research contains scientific contributions from colleagues of Fisheries Research Institute, Ministry of Agriculture (MOA) and researchers of fisheries science. It is published by Fisheries Research Institute, MOA. Correspondence should be addressed to the Editor-in-Chief, Journal of Taiwan Fisheries Research, 199 Hou-Ih Road, Keelung 202, Taiwan. Phone: +886-2-2462-2101 ext. 2506 or 2517. Fax: +886-2-2462-4627. E-mail: mcwu@mail.tfrin.gov.tw or wkchen@mail.tfrin.gov.tw.

水產研究

第 32 卷 第 2 期 / 民國 113 年 12 月

目次

臺灣西南海域白腹鯖雌魚之生殖生物學研究 / 何珈欣・吳伊淑・鄭力綺・陳秋月・翁進興

Reproductive Biology of Blue Mackerel (*Scomber japonicus*) in the Waters off Southwestern Taiwan /
Jia-Shin He, Yi-Shu Wu, Li-Chi Cheng, Chiu-Yueh Chen and Jinn-Shing Weng

.....1

光照強度、微藻濃度及放卵密度對密點少棘胡椒鯛 (*Diagramma pictum*) 受精卵孵化之影響 /
邱沛盛・何信緯・黃政軒・朱永桐・許晉榮

Effects of Light Intensity, Microalgae Concentration and Stocking Density on Hatching of Fertilized Eggs of
Spotted Sweetlips (*Diagramma pictum*) / Pei-Sheng Chiu, Shine-Wei Ho, Cheng-Hsuan Huang, Yeong-Torng Chu and
Jinn-Rong Hseu

.....13

臺灣產文蛤種類分子鑑定之研究 / 宋嘉軒・何欣珏・顏綵霞・汪澤宏・黃章文

Molecular Identification of Hard Clam Species in Taiwan / Chia-Hsuan Sung, Hsin-Chueh Ho, Chai-Hsia Gan,
Liang-Jong Wang and Chang-Wen Huang

.....23

以物種專一性引子建立四絲馬鮫與多鱗四絲馬鮫物種鑑定技術 / 蘇義哲・李彥宏・何宜慶・吳豐成

Primer Design for Species Identification of *Eleutheronema tetradactylum* and *Eleutheronema rhadinum* /
Yi-Che Su, Yan-Hong Lee, Hsuan-Ching Ho and Feng-Cheng Wu

.....33

JOURNAL OF TAIWAN FISHERIES RESEARCH

Vol. 32, No. 2 / December 2024

淨化處理對帶殼葡萄牙牡蠣 (*Magallana angulata*) 衛生食用安全與品質之影響 / 高翊峰 · 何晟瑩 · 張麗緹 · 張晏瑋 · 周芷瑩 · 葉駿達 · 方銘志

Effects of Depuration on Food Hygiene, Flavor, and Fresh-keeping in Local Fresh Whole-shelled Oysters (*Magallana angulata*) / Yi-Feng Kao, Cheng-Ying Ho, Li-Ti Zhang, Yen-Wei Chang, Chi-Zing Chou, Chun-Ta Yeh and Ming-Chih Fang

.....45

臺灣文蛤主產區養殖戶對產業問題點的觀點分析 / 楊清閔

Hard Clam Farmers' Opinions About Aquaculture Industry Problems Across Major Cultivation Areas in Taiwan / Ching-Min Yang

.....61

書評～全球首套經 DNA 驗證的魚類早期生活史圖鑑《魚大十八變：魚卵及仔稚魚多樣》 / 嚴宏洋

Book Review: The World's First DNA-Verified Atlas of Fish Early Life History ~ 《Eggs and larvae of 500 Taiwan Fishes》 / Hong-Young Yan

.....79

電子檔請參見本所官網



臺灣西南海域白腹鯖雌魚之生殖生物學研究

何珈欣·吳伊淑·鄭力綺*·陳秋月·翁進興

農業部水產試驗所沿近海漁業生物研究中心

摘 要

白腹鯖 (*Scomber japonicus*) 為臺灣西南海域扒網漁業重要經濟魚種之一。本研究於 2020 年 11 月至 2021 年 10 月期間按月至澎湖扒網漁船採樣，共採集 692 尾樣本，雌雄分別為 305 尾及 387 尾，性比為 44.1%，雌雄比例有顯著差異 ($p < 0.05$)。雌魚尾叉長 (FL) 介於 139.1 – 352.0 mm，體重 (body weight, BW) 介於 34.3 – 562.3 g，體長與體重之關係式為 $BW = 1.716 \times 10^{-5} FL^{2.942}$ ($n = 305$)；雄魚尾叉長 (fork length, FL) 介於 141.9 – 344.0 mm，體重介於 34.0 – 519.5 g，體長與體重之關係式為 $BW = 2.435 \times 10^{-5} FL^{2.875}$ ($n = 387$)。根據卵巢生殖腺外部型態及生殖腺指數 (gonadosomatic index, GSI)，2020 年 11 月至 2021 年 4 月均有出現完熟期，GSI 平均值範圍介於 0.18 – 12.15 間，自 2020 年 11 月至隔年 4 月維持在較高值 3 以上、卵巢組織切片及卵徑頻度測量等數據，推估白腹鯖生殖期為 11 – 4 月，2 月份所採樣本發現水卵，推估高峰在 2 – 4 月。孕卵數為 6,006 – 596,452，批次孕卵數為 2,653 – 79,287 粒卵，卵徑介於 0.14 – 1.25 mm。雌魚 50% 性成熟體長為 245.8 mm。

關鍵詞：白腹鯖、生殖期、性成熟

前 言

白腹鯖 (*Scomber japonicus*)，屬於鯖科 (Scombridae) 鯖屬 (*Scomber*)，俗稱白肚花飛，體型呈紡錘型稍側扁，側線下方無斑點 (Hernández *et al.*, 2000)。本種為分布廣泛沿近海表中層洄游性魚類，喜好群游，具趨光性，會進行日夜間垂直移動，主要分布在溫帶和亞熱帶的印度洋和太平洋海域 (邵, 2023; Cai *et al.*, 2022)。在臺灣，主要分布本島周邊海域，其漁場位於靠近沿岸 200 m 等深線附近海域 (張, 2014; 王與王, 2014)，作業漁具漁法為燈火漁業之扒網及鯖鰱圍網，其中澎湖以扒網漁法為主，白腹鯖為主要大宗漁獲 (王與王, 2014)。臺灣白腹鯖漁獲量雖未達必要統計數量，漁業署漁業統計年報官網上未列出，但白腹鯖漁業資源為國際上日本、韓國及中國大陸之間共同利用，在該等國家漁業具有重要地位 (Cai *et al.*, 2022)，因此視為重要經濟魚種。

根據李 (2013) 蒐集之漁獲報表及漁會統計資料，臺灣白腹鯖漁獲量自 1996 年的 5 萬公噸下降至 1998 年 1.5 萬公噸，2000 年之後漁獲約為 1 – 2 萬公噸，2012 年產量約為 1.6 萬公噸，顯示漁獲量有減少之趨勢 (張, 2014)。目前臺灣鯖鰱漁業以花腹鯖和真鰱為主要目的魚種，白腹鯖相關者僅有東北部海域白腹鯖之生殖生物學與聲學 (黃, 2008; 張, 2014) 及分布系群探討 (湯, 2006; 曾, 2004) 以及針對閩南海域白腹鯖遺傳結構調查 (張等, 2011)。國外部分，日本及中國對於白腹鯖利用較臺灣普遍，因此較多白腹鯖研究，包含年級群變動情形 (Iizuka, 1974; 薛, 2020)、族群加入量與水溫關係 (Watanabe and Yatsu, 2006)、資料評估調查 (村上, 2002)、生殖生物學研究 (Yukami *et al.*, 2009)。生殖生物學之研究為資源評估管理之重要基礎，具有重要的科學和管理意義 (翁, 2003)，有助於全面了解其生態特性、評估種群健康、制定有效的管理策略、促進資源的可持續利用，白腹鯖為西南海域鯖鰱漁業的主要目標魚種，卻未有生殖生物學相關研究報告。因此本研究將探討臺灣西南海域之白腹鯖的生殖生物特性，運用組織學，顯微鏡觀察生殖腺發育情形，

*通訊作者 / 高雄市前鎮區漁港北三路 6 號, TEL: (07) 821-8103 轉 215; FAX: (07) 821-8205; E-mail: lccheng@mail.tfrin.gov.tw

分析其生殖腺指數 (gonadosomatic index, GSI) 和卵徑頻度等，作為日後對臺灣西南白腹鯖資源進行解析及管理之基礎參考資料，確保白腹鯖資源的長期穩定和漁業的可持續發展。

材料與方法

一、樣本採集

本研究於 2020 年 11 月至 2021 年 10 月期間，按月至澎湖赤崁漁港、馬公漁港扒網漁船隨機採樣 30 尾以上，採樣過程中辨識體型呈現紡錘型，體背側藍黑色，具深藍色不規則之斑紋，腹部銀白色 (邵, 2023) 判定為白腹鯖。樣本以碎冰冰藏後攜回實驗室進行解剖，分別量測其尾叉長 (fork length, FL)，使用電子游標尺精確至 0.1 mm，體重 (body weight, BW)，精確至 0.1 g，生殖腺重 (gonad weight, GW)，精確至 0.01 g。另將生殖腺浸泡在 10% 福馬林溶液中進行固定，作為後續組織切片、孕卵數估計及卵徑大小測定用。根據卵巢生殖腺外觀及 GSI 月別變動，同時以顯微鏡觀察生殖腺發育情形及卵徑頻度分析等方法，建立各項相關參數。

二、資料分析

(一) 尾叉長與體重關係

以各月份測得之尾叉長與體重進行統計迴歸分析，其體長體重關係式如下 (張, 2014)：

$$BW = a \times FL^b$$

BW：樣本個體全重 (g)

FL：尾叉長(mm)

a、b 為迴歸係數

(二) GSI

GSI 計算公式如下 (Uosaki and Bayloff, 1999; Armas *et al.*, 2006)：

$$GSI = GW / EW \times 10^2$$

GW 為生殖腺重 (g)

EW 為去內臟重(g)

(三) 卵巢發育判別

依據林 (2007)、羅 (2010) 等文獻，將生殖腺發育分為未成熟 (immature)、成熟中 (maturing)、已成熟 (matured) 和產後期 (spent) 等四個階段，分別計算各月別不同性成熟階段百分比，作為判定生殖期的依據。未成熟階段為染色質核仁期及周邊核仁期，成熟中階段為卵黃胞期至第三級卵黃期階段，已成熟階段為核仁移動期及完熟期，排卵階段為出現水卵。

(四) 性比

性比 (sex ratio, %) 計算方式為雌魚佔總樣本數之比率，分別探討月別性比及體長別性比，計算式如下：

$$\text{性比} = F / (F + M) \times 100\%$$

F：雌魚 (female)

M：雄魚 (male)

(五) 孕卵數與單次產卵數

參考蕭 (2014) 針對臺灣西南海域黑鰻之研究，選擇 3 幅不同發育階段之卵巢，進行不同部位之孕卵數 (fecundity, F) 及卵徑之差異檢定，即將此 3 幅卵巢分為左右兩葉，每葉在分為前、中、後 3 個部位，整幅卵巢總計有 6 個測定部位。經雙因子變異數分析檢定結果顯示，同一樣本不同部位間之卵徑及孕卵數並無差異，而同一部位在不同個體之間則有顯著差異，此結果顯示任何部位均可代表整幅卵巢之發育狀況，為求一致性，本研究統一選用左葉之中間部位做為採卵分析。

參考張 (2014) 針對東北海域之研究，採用重量法 (gravimetric method) 來推算孕卵數與單次產卵數 (batch fecundity, BF)，隨機採取 0.05 g 重卵粒，計算卵徑 ≥ 0.1 mm 的卵粒數，以估算卵細胞發育達到卵黃胞期及完熟期之卵數，其估算公式如下：

$$\text{孕卵數 (F)} = (0.05 \text{ g 卵巢中卵徑} \geq 0.10 \text{ mm 之卵數} / 0.05 \text{ g 卵巢重}) \times \text{卵巢重}$$

$$\text{單次產卵數 (BF)} = (0.05 \text{ g 卵巢中之卵徑} \geq 0.51 \text{ mm} / 0.05 \text{ g 卵巢重}) \times \text{卵巢重}$$

(六) 50% 性成熟體長 (size at 50% maturity)

本研究以 50 mm 作為體長組距進行分析，透過組織切片、生殖腺指數(GSI)及卵徑大小，來計算各組距內生殖腺達性成熟的比例，再利用

Table 1 Monthly sampled sex ratio of *Scomber japonicus* collected from the waters off southwestern Taiwan. The sample size of both female and male specimens and the χ^2 test for each monthly sex ratio were examined

Year	Month	Female	Male	Sex ratio(%)	χ^2	p-value
2020	Nov.	11	48	18.6	23.2	0.000001*
	Dec.	0	0	—	—	—
2021	Jan.	47	52	47.5	0.3	0.615303
	Feb.	46	13	78.0	18.5	0.000017*
	Mar.	23	25	47.9	0.1	0.772830
	Apr.	49	73	40.2	4.7	0.029791*
	May	31	37	45.6	0.5	0.466854
	Jun.	20	26	43.5	0.8	0.376344
	Jul.	21	38	35.6	4.9	0.026883*
	Aug.	16	38	29.6	9.0	0.002755*
	Sep.	14	15	48.3	0.0	0.852684
	Oct.	27	22	55.1	0.5	0.475051
Total		305	387	44.1	9.7	0.001826*

*Significant at 5% level

logistic curve (King, 1995)計算性成熟率達 50%之魚體大小(size at 50% maturity)，其計算式如下：

$$Pr = 1/(1 + e^{a+bFL})$$

Pr：成熟百分比

FL：尾叉長 (mm)

a、b 為常數

結 果

一、尾叉長與體重關係

研究期間共計採集 692 尾樣本魚，其中雌魚 305 尾、雄魚 387 尾，雌雄別之體長範圍分別為 139.1 – 352.0 mm、141.9 – 344.0 mm，體重 (BW) 範圍為 34.3 – 562.3 g、34.0 – 519.5 g (Table 1)。雌雄魚的體長體重關係式，經最大概似比檢定後，結果顯示有顯著差異 ($p < 0.05$) 而具有性別二態性 (sexual dimorphism)，因此兩者資料無法合併分析。雌雄魚尾叉長與體重關係式如下：

雌魚：BW = $1.716 \times 10^{-5} FL^{2.942}$ (n=305) (Fig.

1a)

雄魚：BW = $2.435 \times 10^{-5} FL^{2.875}$ (n=387) (Fig.

1b)

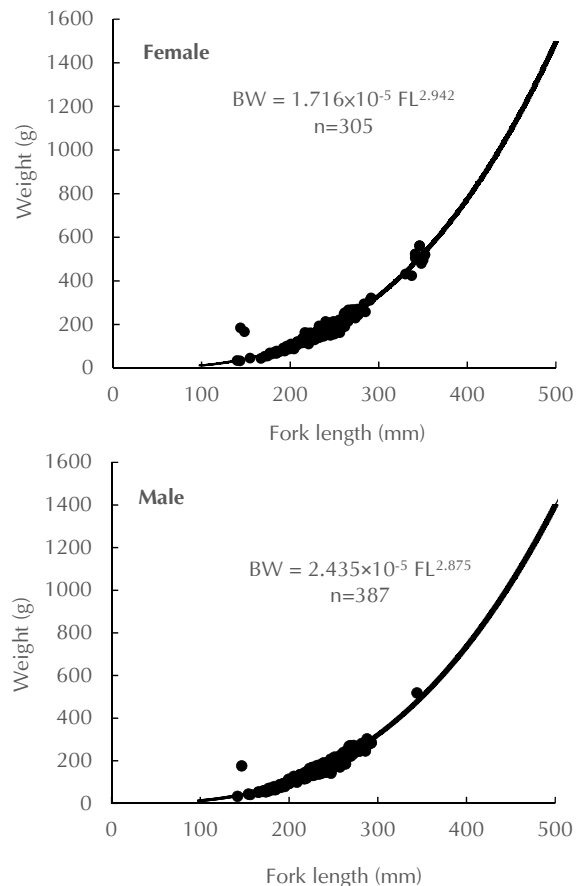
**Fig. 1** Relationship between body weight (BW) and fork length (FL) of female and male *Scomber japonicus* specimens.

Table 2 Index specifying the sex, sex ratio, and length of *Scomber japonicus*. The sample size of both female and male specimens and the χ^2 test for length (mm) and sex ratio were examined

Length(mm)	Female	Male	Sex ratio(%)	χ^2	p
120	0	0	—	—	—
140	1	0	100.00	1.00	0.3173
160	4	4	50.00	0.00	1.0000
180	5	16	23.81	5.76	0.0164*
200	17	29	36.96	3.13	0.0768
220	32	46	41.03	2.51	0.1129
240	95	132	41.85	6.03	0.0141*
260	96	108	47.06	0.71	0.4008
280	35	39	47.30	0.22	0.6419
300	7	12	36.84	1.32	0.2513
320	0	0	—	—	—
340	2	0	100.00	2.00	0.1573
360	11	1	91.67	8.33	0.0039*

*Significant at 5% level

二、性比

(一) 月別性比變化

本研究雌魚樣本 305 尾、雄魚 387 尾，共 692 尾標本，性比為 44.1%。性比之月別變化情形如 Table 1，除了 2021 年 2 月及 10 月之外，其餘月份雄魚樣本數均比雌魚多。性比月別分布經卡方檢定結果顯示 2020 年 11 月及 2021 年 2、4、7 及 8 月雌雄魚有顯著差異 ($p < 0.05$)，採集之總樣本數性比亦有顯著差異 ($p < 0.05$)，雄魚樣本數比雌魚多。

(二) 尾叉長別性比變化

本種之性比會隨著體型變大而提高，體型在 300 mm 以下，以雄魚所占比例較高，大於 300 mm 者則以雌魚居多 (Table 2)。

三、卵徑大小月別變化

白腹鯖之月別平均卵徑頻度分布變動如 Fig. 2 所示，卵徑分布介於 0.14 – 1.25 mm，自 11 月起大於 0.51 mm 之卵粒已開始出現，且 0.1 mm 卵

徑比例降低，大型卵徑之比率增加，更有卵徑達 0.8 mm 之卵粒出現，至 2 – 3 月達高峰期，出現最大卵徑達 1.25 mm。直至 5 月份此時卵徑大於 0.51 mm 之比例降低，小於 0.2 mm 比例增加，直到 7 月大型卵徑比例又開始增加，占比約 30%，8 月後卵徑皆小於 0.2 mm 直至 10 月。

四、卵細胞成熟階段

經由肉眼先行判定生殖腺成熟階段，再依各不同生殖階段隨機抽取樣本，進行 200 尾組織切片觀察卵巢卵母細胞發育過程。每尾組織切片取相同成熟階段，量測卵細胞約 3 – 6 顆卵粒進行卵徑測量並取其平均值。參考翁 (2003)、Lee *et al.* (2005)、Wu *et al.* (2012) 等研究的判斷標準，將卵細胞發育分成下列九個階段：

(一) 染色質核仁期 (chromatin-nucleolus stage, Cn)

卵粒非常小，肉眼無法清楚看出，外型大致呈圓形，卵徑 < 0.05 mm，細胞質被蘇木精染成深紫色，呈嗜鹼性 (Fig. 3A)。

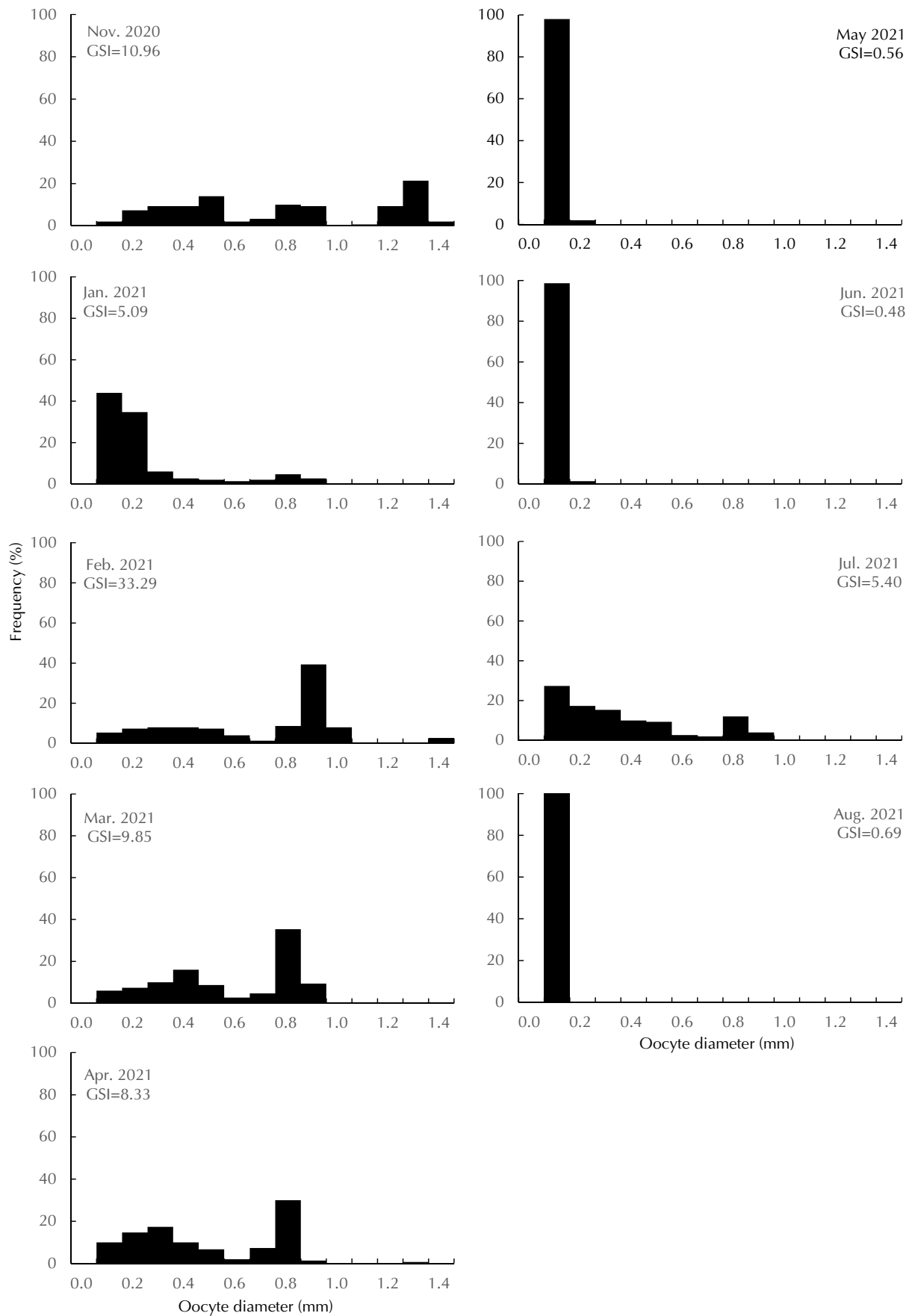


Fig. 2 Monthly variations in the mean oocyte diameter distributions of *Scomber japonicus*.

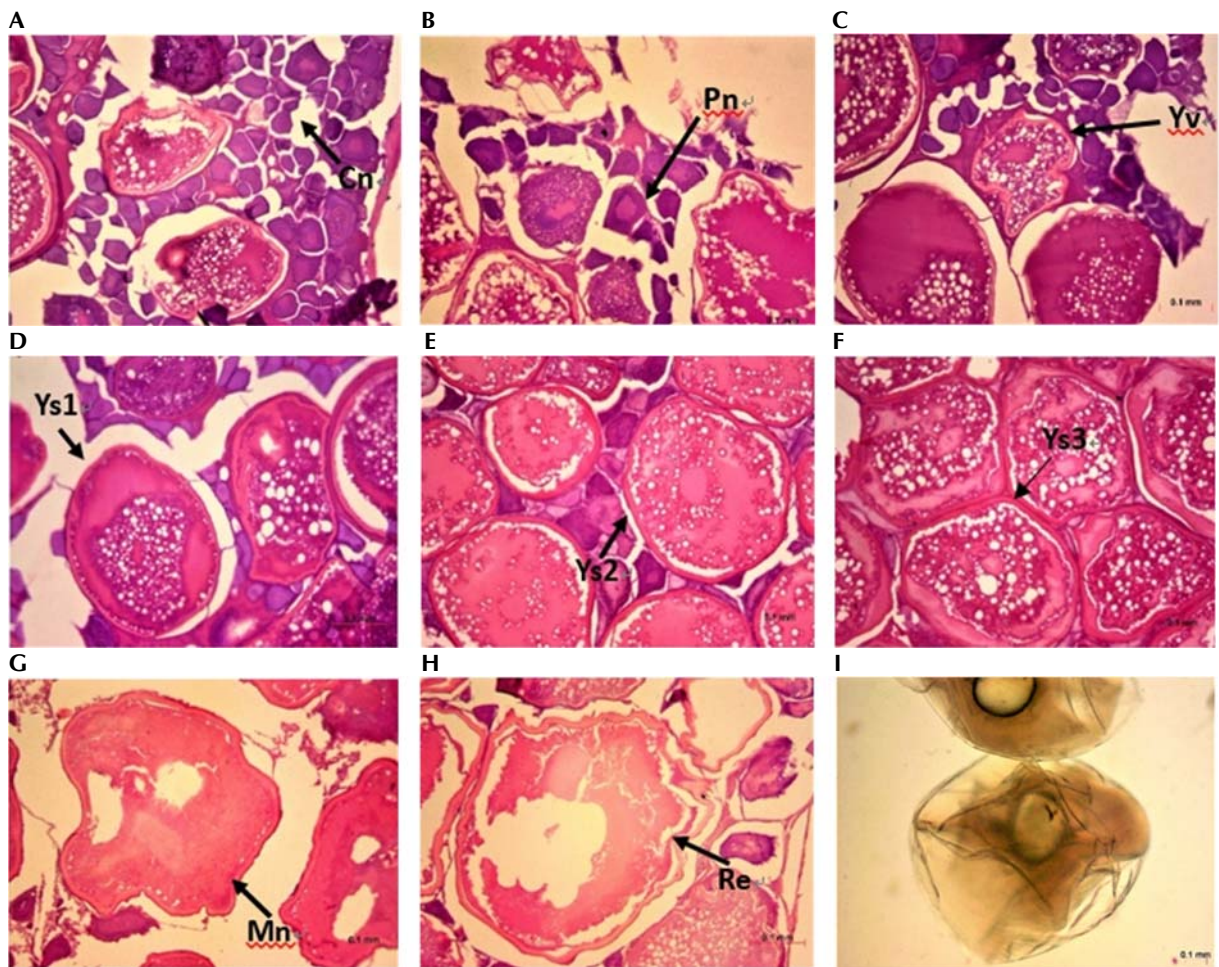


Fig. 3 Histological observations of the oocyte of *Scomber japonicus*. (A) Chromatin-nucleolus stage (Cn), (B) Perinucleolus stage (Pn), (C) Yolk vesicle stage (Yv), (D) Primary yolk stage (Ys1), (E) Secondary yolk stage (Ys2), (F) Tertiary yolk stage (Ys3), (G) Migratory nucleus stage (Mn), (H) Ripe egg stage (Re), (I) Transparent egg stage.

(二) 周邊核仁期 (peri-nucleolus stage, Pn)

卵徑較前一階段大，有一個大且明顯的細胞核，卵徑在 0.05 – 0.10 mm 之間，呈嗜鹼性 (Fig. 3B)。

(三) 卵黃胞期 (yolk vesicle stage, Yv)

卵粒變大，外觀呈圓形或橢圓形，開始出現油滴及卵黃胞，卵徑在 0.10 – 0.18 mm 之間 (Fig. 3C)。

(四) 初級卵黃期 (primary yolk stage, Ys1)

卵徑持續增大，細胞質中遍佈較小的油滴和卵黃球，卵徑在 0.19 – 0.25 mm 之間 (Fig. 3D)。

(五) 次級卵黃期 (secondary yolk stage, Ys2)

此階段油滴大小開始增加，並往細胞核周圍

聚集，細胞質中卵黃球數量增加，卵徑在 0.24 – 0.30 mm 之間 (Fig. 3E)。

(六) 第三級卵黃期 (tertiary yolk stage, Ys3)

卵黃球開始合併成卵黃團，油滴大小及數量持續增加，卵徑在 0.31 – 0.39 mm 之間 (Fig. 3F)。

(七) 核仁移動期 (migratory nucleus stage, Mn)

此階段卵黃球合併為卵黃團，油滴大小增加，細胞核向動物極移動或消失不見，卵徑在 0.38 – 0.50 mm 之間 (Fig. 3G)。

(八) 完熟期 (mature stage, Re)

油滴再相互癒合成一個或二個大型油滴，此時卵黃團即充滿整個卵粒，細胞外圍顆粒層及卵

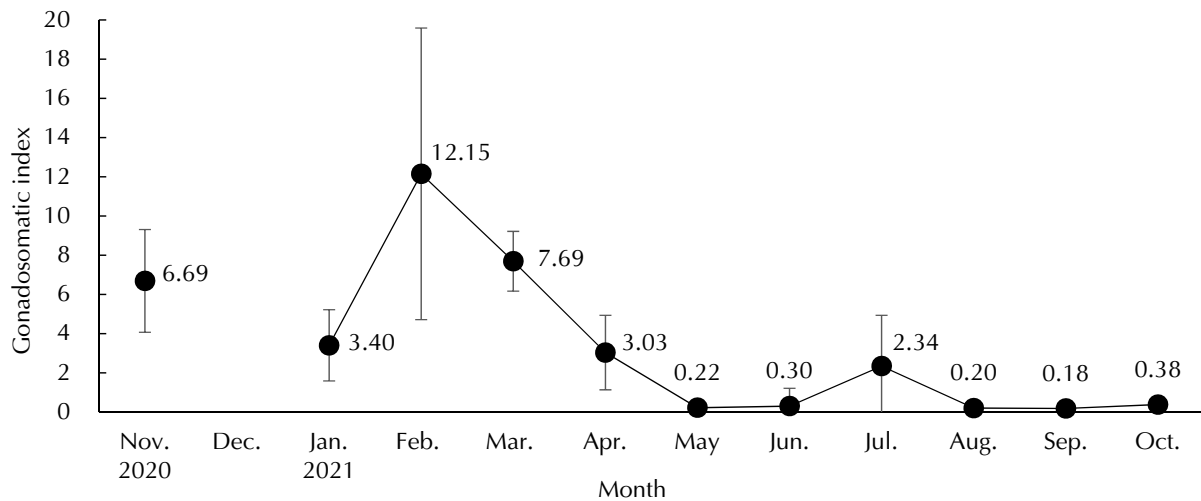


Fig. 4 Monthly variation of the gonadosomatic index (GSI) values for female *Scomber japonicus*, expressed as mean $\pm$ SD.

鞘細胞接消失，卵徑在 0.40 – 0.61 mm 之間 (Fig. 3H)。

(九) 完熟期之透明卵 (transparent egg stage)

卵細胞達成熟時即將進行排卵，卵細胞吸附水分後外貌呈透明狀，卵徑範圍在 0.51 – 1.25 mm (Fig. 3I)。

據組織學的觀察，約在核仁移動期至完熟期階段， $GSI \geq 4.4$ ，卵徑 ≥ 0.51 mm。

(四) 產卵後階段 (spent stage)

產卵後的卵巢較成熟階段時小，外觀呈暗紅色且鬆弛狀，卵巢內會殘留些許大的卵粒，並可發現已經萎縮的卵細胞。

五、生殖腺外部形態特徵

從卵巢的外觀、生殖腺成熟指數與觀測組織切片的結果，將卵巢分為四個不同的成熟階段：

(一) 未成熟階段 (immature stage)

此階段卵巢呈細小線狀，肉眼無法看到卵粒；根據組織學的觀察，約在染色質核仁期至周邊核仁期階段， $GSI \leq 1.80$ ，卵徑範圍在 0.01 – 0.12 mm 之間。

(二) 成熟中階段 (maturing stage)

卵巢逐漸增大，肉眼可以看到細小的卵粒；根據組織學的觀察，約在卵黃胞期至第三級卵黃期階段， GSI 在 1.80 – 4.3 之間，卵徑範圍在 0.10 – 0.51 mm 之間。

(三) 已成熟階段 (Mature stage)

卵巢明顯變大，肉眼可以看到明顯的卵粒；根

六、GSI

雌魚 GSI 月平均值範圍介於 0.18 – 12.15 間， GSI 自 2020 年 11 月至隔年 4 月維持在較高值 3 以上，其中 2 月及 3 月指數最高分別為 12.15 及 7.69，5 月之後開始下降，直到 7 月 GSI 稍微升高為 2.34，8 月後持續下降 (Fig. 4)。

七、成熟度月別變化

雌魚樣本每月各生殖腺成熟階段所佔之比例變化結果如 Fig. 5，雌魚的成熟度月別變動，雌魚於 2020 年 11 月開始出現性成熟個體，比例為 63.6%，之後逐漸增加，2-3 月已成熟階段比例達最高，分別為 89.1%、73.9%，4 月有出現排完卵個體佔 2.0%，5 月及 6 月無成熟個體，7 月有出現少數性成熟個體為 9.5%，8 月後無性成熟個體。

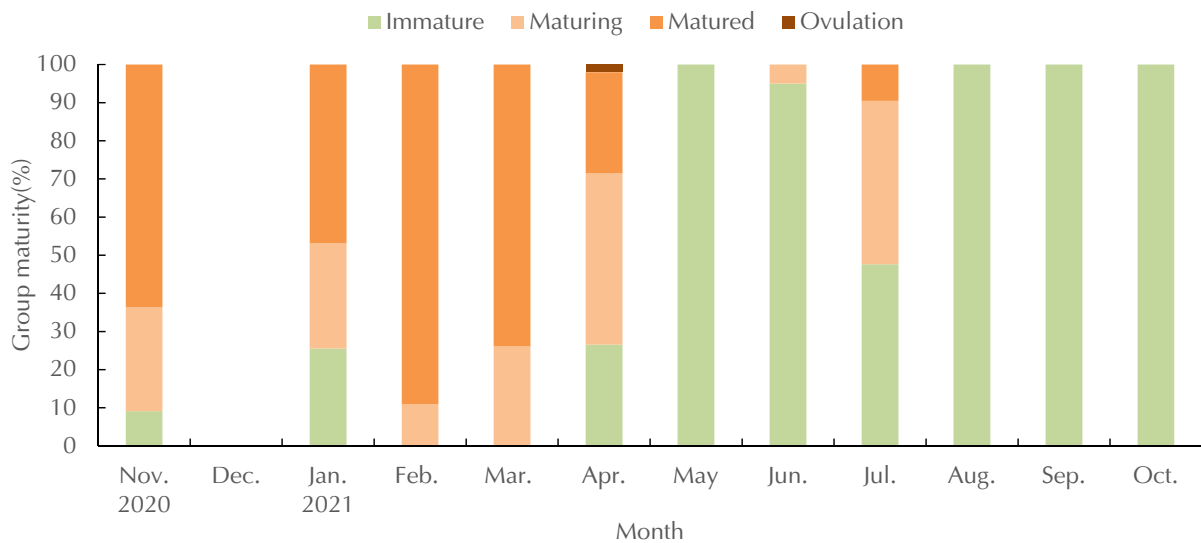


Fig. 5 Monthly variation of group maturity rate for female *Scomber japonicus*.

八、孕卵數與單次產卵數

(一) 孕卵數

觀察組織切片結果，選取卵巢 64 幅，估計之孕卵數為 6,006 – 596,452 粒，平均孕卵數為 $240,033 \pm 134,662$ 粒卵，當卵徑達 0.51 mm 時，卵徑會呈現透明狀，達成熟階段。

(二) 批次產卵數

選取 GSI 高峰期 11 月至 4 月期間之雌魚 42 尾（尾叉長介於 216.3 – 341.0 mm；體重介於 121.4 – 505.8 g），計算批次孕卵數範圍為 2,653 – 79,287 粒，平均批次孕卵數為 18,641 粒卵。

九、 L_{50} 性成熟體長

經由組織切片及外部型態觀察，顯示體型在 213.7 mm FL 即有出現成熟魚，套用 Logistic 曲線公式雌魚性成熟比率與尾叉長 (FL) 關係式如下：

$$Pr = 1 / (1 + e^{10.59 - 0.0593FL})$$

將 $Pr = 0.5$ 代入此關係式求得雌魚 50% 性成熟體長為 245.8 mm FL (Fig. 6)。

十、生殖期推估

根據白腹鯖月別卵徑頻度分析及生殖腺成熟度的月別變化，2020 年 11 月至 2021 年 4 月均有出現完熟期，其中從 2020 年 11 月至隔年 4 月成

熟魚所占比例最高，2 – 4 月卵徑 > 0.51 成熟階段累計比例達 50% 以上。判斷本魚種之生殖期在 11 至 4 月，高峰為 2 月至 4 月。

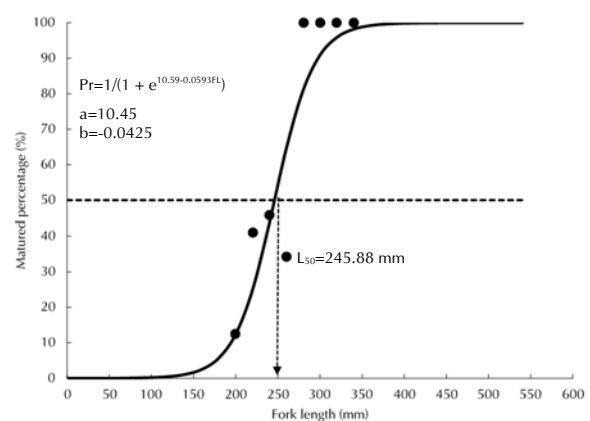


Fig. 6 Relationship between percentage of mature female *Scomber japonicus* and total length

討 論

一、採樣限制

本研究白腹鯖樣本採集期間為 2020 年 11 月至 2021 年 10 月扒網漁船所捕獲，在臺灣西南海域主要捕撈鯖魚為扒網漁船，由扒網的資料顯示臺灣西南海域的鯖魚以白腹鯖較多，與花腹鯖的比例約 82 : 18 (王與王, 2014)。臺灣東北部海域白腹鯖主要來源也是以扒網為主，少部分因受漁業

署鯖鱈漁業管理辦法禁漁期期間使用一支釣進行捕獲(張, 2014)。在鄰近其他國家, 北太平洋漁業委員會日本、俄羅斯及中國大陸提報白腹鯖漁獲量統計, 漁撈方式包含圍網與拖網, 其中圍網佔總漁獲量 72% (Cai *et al.*, 2023)。顯示該魚種主要漁獲以扒網或圍網為主要方式。

二、尾叉長頻度分布

本研究白腹鯖漁獲樣本中, 最大尾叉長為 352 mm, 平均尾叉長為 236 ± 26 mm, 張 (2014) 在臺灣東北海域白腹鯖採得樣本最大尾叉長為 397 mm, 扒網樣本平均尾叉長為 241 mm, 西南海域白腹鯖體型略小於東北海域扒網樣本。鯖魚為東北海域扒網大宗漁獲魚種, 漁業署訂定鯖鱈漁業管理辦法進行鯖魚資源管理, 針對東北海域白腹鯖在規範禁漁期推動前 5 年, 白腹鯖平均體長 230 – 260 mm, 推動禁漁期後, 102 年至 109 年平均體長為 260 – 300 mm, 較禁漁期前體型增大(陳, 2021); 然而在西南海域部分較少針對白腹鯖進行長年體長監測, 未有資料能進行比較是否有因長期漁獲壓力下魚種平均體長有變小趨勢(吳, 2022)。未來將持續針對西南海域進行白腹鯖體型監測, 了解因不同時期漁獲壓力體長變化情形。

三、性比

本魚種為雌雄異體生活史模式, 性比顯示雄魚數量多於雌魚, 性比為 44%, 具顯著差異 ($p < 0.05$), 尾叉長大於 340 mm 性比以雌魚為優勢。殷 (1998) 指出, 由於雄魚性成熟早於雌魚, 因此在性成熟小型個體中, 雄魚佔較多, 而大型個體以雌魚為優勢。此外, 雌魚所佔之比例會隨著全長增加而增加, 其原因包含了雌雄魚壽命長短、性別轉變、單向洄游進出及不同採集地點所致 (Fumio, 1960); 過去研究指出, 影響魚種雌雄性比差異可能與生殖活動有關(何, 2018; 李, 2010), 本研究於生殖期 11、2、4 月性比有顯著差異 (Table 1), 與上述研究者結果相似。Claereboudt *et al.* (2005) 指出, 不同作業漁具漁法會影響性比, 但臺灣西南海域針對本魚種作業漁法目前以扒網為主, 因此無法比較, 將來可蒐集其他海域漁法進行來比較。

四、性成熟體長

白腹鯖成熟體長會因地理位置不同而有差異(李, 2021), 影響魚類性成熟體長因子包含環境(水溫、餌料豐度、成長發育季等)、系群量多寡 (Trippel, 1995) 及漁獲壓力 (Jonsson *et al.*, 1991) 等。本研究臺灣西南海域白腹鯖雌性 50% 性成熟體長 245.8 mm, 東北海域 50%性成熟體長 323 mm (張, 2014)。國外部分, 日本研究東海北中部海域利用 50%成熟時的 GSI 作為標準, 性成熟體長大於 275 mm (Yukami *et al.*, 2009), 中國黃海海域最小性成熟體長為 250 mm (鄭等, 2003), 臺灣海峽最小性成熟體長為 210 mm (葉等, 2005)。由高緯度至低緯度, 顯示越低緯度性成熟體長越小, 低緯度因水溫高促進成長速率, 因成長速度快, 使魚類在短期間內達到性成熟, 因此性成熟體長較小, 因此緯度越往南之海域魚類有越早熟之趨勢 (吳, 2014; 葉等, 2005; Zeng *et al.*, 2012)。

五、生殖期及產卵類型

魚類的產卵模式根據卵細胞發育情形及排卵方式來判斷, 一般可分為三種型式 (Wallace and Selman, 1981; Weat, 1990; Murua and Saborido-Rey, 2003): 1. 同步成熟型 (synchronism); 2. 分批同步成熟型 (group synchronism); 3. 非同步成熟型 (asynchronism); 其中分批同步及非同步成熟型為卵巢內存在各種不同成熟階段卵細胞, 一年可產多次且產卵期長。再由 GSI 月別變化、月別成熟度及卵徑頻度變化判定其生殖期為 11 – 4 月。由組織切片觀察卵巢中, 有 2 種不同成熟階段之卵細胞同時存在, 一群為當次產卵所排出大群成熟卵, 另一群則停留在為成熟階段並有濾泡與卵黃共存, 顯示單一產卵期的產卵次數超過一次, 綜合上述推斷白腹鯖的產卵形式為分批同步成熟型又稱為多次產卵型。Ohga (2012) 和 Nyuji (2012) 研究顯示其產卵模式與本研究相同, 白腹鯖屬多次產卵型魚種。

六、系群

本次研究只針對臺灣西南海域洄游之白腹鯖

調查其生殖期等基礎資訊，無再針對其系群進行深入調查，過去研究顯示臺灣周邊只有單一系群存在(湯, 2006; 曾, 2007)，白腹鯖在不同海域的種群劃分存在一定的爭議。日本學者通常將東海不同越冬場的白腹鯖統稱為對馬暖流群系(李等, 2021)，為確認該魚種系群利用分子標記對白腹鯖進行的遺傳結構分析顯示，臺灣海峽的白腹鯖與對馬暖流群系有顯著的遺傳相似性，因此臺灣西南海域的白腹鯖更可能屬於對馬暖流系群(張等, 2021; Zeng *et al.*, 2012)。

參考文獻

- 王振培, 王凱毅 (2004) 臺灣西南部海域扒網之鯖魚漁況研究. 臺灣水產學會刊, 41(3): 205-221.
- 李錄州 (2010) 臺灣西南海域大頭白姑魚之生殖生物學研究. 國立高雄海洋科技大學漁業生產與管理研究所 碩士論文, 81 pp.
- 李國添 (2013) 臺灣周邊海域鯖鰺漁業資源動態解析(以東北部海域為主). 行政院農業委員會漁業署 102年度科技計畫研究報告, 26 pp.
- 李曰嵩, 邢宇娜, 潘靈芝, 張瑜, 余為 (2021) 白腹鯖生活史及模型應用研究進展. 中國大連海洋大學學報, 39(4): 694-705.
- 何珈欣, 吳伊淑, 蕭琍婷, 陳羿惠, 余淑楓, 吳龍靜 (2018) 臺灣西南海域杜氏叫姑魚之生殖生物學研究. 水產研究, 26(1): 13-26.
- 村上修 (2002) クロガシラガレイ(サロマ湖系群)の成熟体長と成熟年齢. 北海道立水產試驗所研究報告, 61: 17-23.
- 吳宗翰 (2002) 臺灣北部及東北部海域底拖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, 111 pp.
- 吳春基, 黃建智, 翁進興, 吳龍靜 (2014) 臺灣西南海域花斑蛇鰻之生殖生物學研究. 水產研究, 22(1): 23-41.
- 邵廣昭 (2023) 臺灣魚類資料庫網路電子版 <https://fishdb.sinica.edu.tw/chi/species.php?id=381904>.
- 林智文 (2007) 臺灣西南沿海產尖尾海鯽之生殖生物學研究. 國立高雄海洋科技大學漁業生產與管理系 碩士論文, 84 pp.
- 張麗艷, 蘇永全, 王航俊, 王軍 (2011). 臺灣海峽鯖魚種群遺傳結構. 生態學報, 31(23): 7097-7103.
- 陳儷方 (2021) 鯖鰺禁漁助長大2種鯖魚體型趨勢跳級. <https://www.agriharvest.tw/archives/60821>.
- 殷名稱 (1998) 魚類生態學. 水產出版社, 臺灣, 537 pp.
- 翁進興 (2003) 澎湖海域日本銀帶鰭之生殖生物學研究. 國立臺灣海洋大學環境生物與漁業科學學系 碩士論文, 85 pp.
- 張雅雯 (2014) 臺灣東北部海域白腹鯖年齡成長與生殖生物學之研究. 國立臺灣海洋大學環境生物與漁業科學學系 碩士論文, 87 pp.
- 黃明輝 (2008) 不同水深對白腹鯖現場標物反射強度測量之變動. 國立高雄海洋科技大學漁業生產與管理系 碩士論文, 71 pp.
- 曾宗德, 葉顯樞 (2007) 臺灣附近海域產白腹鯖 (*Scomber japonicus*) 之形態形質變異. 臺灣水產學會刊, 34(2): 197-205.
- 湯宗瑜 (2006) 利用型態及遺傳變異分析探討臺灣周邊水域鯖魚之種間判別與系群關係. 國立臺灣大學動物學研究所 碩士論文, 64 pp.
- 葉孫忠, 王茵, 何文成 (2005) 臺灣海峽白腹鯖捕撈群體結構及資源開發利用狀況. 中國福建水產, 2005(2): 20-23.
- 鄭元甲, 陳雪忠, 程家驊 (2003) 東海大陸架生物資源與環境. 中國上海科學技術出版社, 835 pp.
- 蕭琍婷 (2014) 臺灣西南海域黑鰻之生殖生物學研究. 國立高雄海洋科技大學漁業生產與管理研究所 碩士論文, 74 pp.
- 薛艷會, 陳新軍, 汪金濤 (2020) 白腹鯖對馬系群資源豐度預測研究. 中國海洋技術學報, 39(1): 77-83.
- 羅舜仁 (2010) 臺灣西南海域產小鰭鰻魚之生殖生物學研究. 國立高雄海洋科技大學漁業生產與管理系 碩士論文, 81 pp.
- Armas, R. G., K. T. Alexander and H. H. Agustin (2006) Evidence of billfish reproduction in the southern Gulf of California, Mexico. Bull. Mar. Sci., 79: 705-717.
- Cai, K., R. Kindong, Q. Ma, X. Han and S. Qin, (2022). Growth heterogeneity of chub mackerel (*Scomber japonicus*) in the Northwest Pacific Ocean. J. Mar. Sci. Eng., 10(2): 301.
- Cai, K., R. Kindong, Q. Ma and S. Tian (2023) Stock assessment of chub mackerel (*Scomber japonicus*) in the northwest Pacific using a multi-model approach. Fishes, 8(2): 80.
- Claereboudt, M. R., J. L. McIlwain, H. S. Al-Oufi and A. A. Ambu-Ali (2005) Patterns of reproduction and spawning of the kingfish (*Scomberomorus commerson*, Lacépède) in the coastal waters of the Sultanate of Oman. Fish. Res., 73: 273-282.
- Fumio, M. (1960) Fishery biology of the yellow-tail, *Seriola quinqueradiata*, inhabiting in the waters arounding Japan. Memoirs of the Faculty of Agriculture of Kinki University, No. 1, 300 pp.
- Hernández, J. J. C. and A. T. S. Ortega (2000). Synopsis of biological data on the Chub Mackerel (*Scomber*

- japonicus* Houttuyn, 1782). FAO Fisheries Synopsis, No.157, 77 pp.
- Iizuka, K. (1974) The ecology of young mackerel in the north-eastern sea of Japan-IV Estimation of the population size of the 0-age group and the tendencies of growth patterns on 0, I and II age groups. Bull. Tohoku. Reg. Fish. Res. Lab., 34: 1-16.
- Jonsson, N., B. Jonsson and L. P. Hansen (1991) Energetic cost of spawning of male and female Atlantic salmon (*Salmo salar* L.). J. Fish Biol., 39: 739-744.
- King, M. (1995) Fisheries Biology, Assessment and Management. Fishing News Book, Oxford, 341 pp.
- Lee, C. F., K. M. Liu, W. C. Su and C. C. Wu (2005) Reproductive biology of the common ponyfish *Leiognathus equulus* in the south-western waters off Taiwan. Fish. Sci., 71(3): 551-562.
- Murua, H. and F. Saborido-Rey (2003) Female reproductive strategies of marine fish species of the North Atlantic. J. Northw. Atl. Fish. Sci., 33: 23-31.
- Nyuji, M. S., H. Kitano, H. Ohga, M. Yoneda and A. Shimizu (2012). Changes in the expression of pituitary gonadotropin subunits during reproductive cycle of multiple spawning female chub mackerel *Scomber japonicus*. Fish. Physiol. Biochem., 38(3): 883-897.
- Ohga, H. K., A. Shimizu, H. Kitano, S. Selvaraj, M. Nyuji, H. Adachi, A. Yamaguchi and M. Matsuyama (2012) Steroidogenic and maturation-inducing potency of native gonadotropic hormones in female chub mackerel, *Scomber japonicus*. Reprod. Biol. Endocrinol., 10: 71.
- Trippel, E. A. (1995) Age at maturity as a stress indicator in fisheries. Bioscience, 45 (11): 759-770.
- Uosaki, K. and W. H. Bayliff (1999) A review of the Japanese longline fishery for tunas and billfishes in the eastern Pacific Ocean, 1988-1992. Bull. Inter-Am. Trop. Tuna Comm., 21(6): 275-439.
- Wu, C. C., W. C. Su, K. M. Liu, J. S. Weng and L. J. Wu (2012) Reproductive biology of the Japanese butterflyfish *Psenopsis anomala* in the south-western waters off Taiwan. J. Appl. Ichthyol., 28: 209-216.
- Watanabe, C. and A. Yatsu (2006) Long-term changes in maturity at age of chub mackerel (*Scomber japonicus*) in relation to population declines in the waters off northeastern Japan. Fish. Res., 78: 323-332.
- Wallace, R. A. and K. Selman (1981) Cellular and dynamic aspects of oocyte growth in teleosts. Ame. Zool., 21: 325-343.
- Weat, G. (1990) Methods of assessing ovarian development in fishes: a review. Aust J. Mar. Fre.Res., 41: 199-222.
- Yukami, R. S. Ohshimo, M. Yoda and Y. Hiyama (2009) Estimation of the spawning grounds of chub mackerel *Scomber japonicus* and spotted mackerel *Scomber australasicus* in the East China Sea based on catch statistics and biometric data. Fish. Sci., 75(1): 167-174.
- Zeng, L. Y., Cheng, Q. Q., and Chen, X. Y. (2012). Microsatellite analysis reveals the population structure and migration patterns of *Scomber japonicus* (Scombridae) with continuous distribution in the East and South China Seas. Biochem. Syst. Ecol., 42: 83-93.

Reproductive Biology of Blue Mackerel (*Scomber japonicus*) in the Waters off Southwestern Taiwan

Jia-Shin He, Yi-Shu Wu, Li-Chi Cheng*, Chiu-Yueh Chen and Jinn-Shing Weng

Coastal and Offshore Fishery Research Center, Fisheries Research Institute

ABSTRACT

The Blue mackerel (*Scomber japonicus*) is an important economic species in southwest Taiwan's Danish seine fishery industry. From November 2020 to October 2021, a total of 692 samples were collected on a monthly basis. Among them, 305 were male and 387 were female, for a significantly different male-to-female sex ratio of 44.1% ($p < 0.05$). The fork length (FL) of female fish ranged from 139.1 to 352.0 mm; the body weight (BW) ranged from 34.3 to 562.3 g. The length-weight relationship was $BW = 1.716 \times 10^{-5} FL^{2.942}$ ($n=305$). The FL of male fish ranged from 141.9 to 344.0 mm; the BW ranged from 34.0 to 519.5 g. The length-weight relationship was $BW = 2.435 \times 10^{-5} FL^{2.875}$ ($n=387$). Based on the external ovary morphology, full maturity was observed from November 2020 to April 2021, with the gonadosomatic index (GSI) averaging between 0.18 and 12.15. From November 2020 to April 2021, the GSI remained above 3. Data from ovarian tissue sections and oocyte diameter frequency measurements suggest that the blue mackerel's reproductive period occurred from November to April, peaking at February to April, as water eggs were found in samples collected in February. The egg count ranged from 6,006 to 596,452, the batch fecundity ranged from 2,653 to 79,287 ova, and the oocyte diameter ranged from 0.14 to 1.25 mm. The FL at 50% sexual maturity for females was 245.8 mm.

Key words: Blue mackerel, *Scomber japonicus*, spawning period, sexual maturity

*Correspondence: No. 6, Yugang N. 3rd Rd., Cianjhen District, Kaohsiung 80672, Taiwan. TEL: (07) 8218103 ext. 215; E-mail: lccheng@mail.tfrin.gov.tw

光照強度、微藻濃度及放卵密度對密點少棘胡椒鯛 (*Diagramma pictum*) 受精卵孵化之影響

邱沛盛* · 何信緯 · 黃政軒 · 朱永桐 · 許晉榮

農業部水產試驗所海水養殖研究中心

摘 要

密點少棘胡椒鯛 (*Diagramma pictum*) 廣泛分布於印度-西太平洋地區，是漁業、遊釣和水族貿易的重要物種，有發展水產養殖與增殖放流的潛力。在水產養殖環境中，光照強度、水中微藻的濃度及育苗初始受精卵的投放密度都會影響受精卵孵化及後續魚苗培育的成敗。本研究分別探討密點少棘胡椒鯛受精卵在不同光照強度 (0、1,000、4,500 及 20,000 lux)、微藻濃度 (6.38×10^5 、 1.68×10^6 、 3.35×10^6 及 4.86×10^6 cells/mL) 及放卵密度 (250、500、1,000 及 2,000 粒/L) 條件下，經過 24 hr 的孵化率及孵化後仔魚的畸形率。結果顯示，光照強度提高，剛孵化仔魚畸形率顯著增加，而微藻濃度及放卵密度提高都會導致孵化率降低及畸形率提高。建議密點少棘胡椒鯛育苗時最初的 24 hr 維持環境條件如下：光照強度 0 – 1,000 lux、微藻濃度 6.38×10^5 cells/mL 及放卵密度 250 粒/L，可獲得的孵化率分別為 44 – 54%、78.89% 及 74.48%，孵化後仔魚畸形率分別為 11 – 17%、5.52% 及 15.82%。本研究結果可應用於密點少棘胡椒鯛的受精卵孵化管理，有助於提升後續魚苗生產之存活率。

關鍵詞：密點少棘胡椒鯛、孵化、光照、微藻濃度、放卵密度

前 言

石鱸科 (Haemulidae) 魚類有 21 個屬、136 種 (Nelson, 1994; Fricke *et al.*, 2024)，在世界各地都是重要的漁業資源，如胡椒鯛 (sweetlips)、石鱸或雞魚 (grunts) (Lee, 1985; Chang, 1997)。其中，胡椒鯛同時也是常見的觀賞魚以及休閒垂釣魚種 (Leu *et al.*, 2012; Hauville *et al.*, 2017)。密點少棘胡椒鯛 (Painted sweetlips, *Diagramma pictum*) 廣泛分布於印度-西太平洋地區，從紅海和東非到日本和新喀里多尼亞，是漁業、遊釣和水族貿易中的重要物種 (Randall *et al.*, 1997; Froese and Pauly, 2024)，在國內市場價格約 400 – 500 元/kg。通常棲息在相對封閉的海灣、河口、淺海區域和珊瑚礁區 (Smith and McKay, 1986; Sommer *et al.*, 1996)。稚魚常出現在海草床 (Smith and McKay, 1986)，以底棲無脊椎動物及小魚為食 (Sommer *et al.*, 1996)。近年來，屏

東開始有業者進行種苗生產，屬於剛起步階段，而澎湖縣政府也有進行此種魚類增殖放流的需求。Chiu *et al.* (2025) 已完整描述密點少棘胡椒鯛的自然產卵、初期發育及魚苗首次攝食階段的培育，為此魚種邁向商業化生產奠定基礎。

大部分的經濟性海水魚類均產浮性卵，即產卵後親魚並不會照顧受精卵，而是任由這些受精卵隨著水漂流 (Holt *et al.*, 2017)，因此，環境因素對於受精卵的孵化或孵化後仔魚的生理狀態就有顯著的影響 (Ellis *et al.*, 1997; Downing and Litvak, 2002; Chiu and Leu, 2021; Chiu *et al.*, 2023)。在水產養殖環境中，有許多因素會影響魚苗培育的成敗，如受精卵品質、水中溶氧、微生物因素、打氣擾動、氨氮濃度、光照強度、水中微藻的濃度及育苗初始受精卵的投放密度 (Barnes *et al.*, 2009; Broach *et al.*, 2017; Degidio *et al.*, 2018; Groover *et al.*, 2021; Mueller *et al.*, 2017; Pereira-Davison and Callan, 2018; Sowaske *et al.*, 2023)。

先前許多研究測試海水魚受精卵在不同光照強度下的孵化情形 (Ellis *et al.*, 1997; Cook and Rust, 2002; Watanabe and Feeley, 2004)，發現不同

*通訊作者 / 臺南市七股區三股里海埔 4 號；TEL: (06) 788-0461 轉 219；FAX: (06) 788-1597；E-mail: pschiu@mail.tfrin.gov.tw

的光照強度會影響仔魚孵化、發育、攝食、生長及活存 (Cook and Rust, 2002; Puvanendran and Brown, 2002; Villamizar *et al.*, 2011; Pereira-Davison and Callan, 2018; Groover *et al.*, 2021)，而在上述的研究報告中，光照強度的設定依據不同魚種各有不同範圍，從 0 – 6,500 lux 皆有 (Cook and Rust, 2002; Pereira-Davison and Callan, 2018)。

海水魚苗培育時在水中添加微細藻是相當常見的，又稱「綠水養殖」(Planas and Cunha, 1999; Liao *et al.*, 2001; Carton, 2005; Nicolaisen *et al.*, 2014)。在臺灣的海水魚苗培育過程，常使用綠水來穩定水質、滋養餌料生物及減少魚苗的緊迫 (Liao *et al.*, 2001)。許多研究探討水中活體微藻的濃度對魚苗視覺及攝食的影響 (Cobcroft *et al.*, 2001; Degidio *et al.*, 2018)，部分研究使用非活體或經過濃縮處理的微藻營造綠水環境來評估魚苗攝食與活存情況 (Hilder *et al.*, 2017; Sales *et al.*, 2016)，但對受精卵孵化的影響則較少描述。有些業者認為環境中的微藻會影響受精卵的孵化，因此會等到魚苗孵化後才加入「綠水」，也有部分業者會直接將受精卵放到已經培育好的綠水中進行育苗。目前對於使用商業微藻膏來製造「綠水」環境是否影響海水魚苗的受精卵孵化仍不清楚。

在育苗時確定適當的受精卵投放密度，可以提高孵化率及魚苗生理狀態，使得魚苗可順利活存至首次攝食階段 (Broach *et al.*, 2017)。許多研究都證實了放卵密度對孵化的影響，一般來說，在無通氣的情況下，過高的放卵密度都會降低孵化率 (Toledo *et al.*, 2004; Sugama *et al.*, 2004)，但若過度降低放卵密度也可能會減少養殖收益，因此，需要仔細的探討最佳的放卵密度為何，以建立最佳的養殖管理參數。

迄今為止，有關密點少棘胡椒鯛受精卵在不同光照強度、微藻濃度及放卵密度下的孵化情形尚不清楚，因此有必要進行一系列的實驗探討，以期改進其魚苗量產技術。

材料與方法

一、種魚培育及受精卵取得

本研究動物試驗之執行已獲得實驗動物小組的許可 (113-IACUC-01)，實驗用受精卵來自

於自行培育的 22 尾密點少棘胡椒鯛種魚 (體全長約 50 – 70 cm)。全數飼養在室內 50 噸的水泥池中，採用流加水系統養殖，海水交換率每天 100%。水質參數如下：水溫 24.5 – 31.2°C、鹽度 29.0 – 31.0 ppt、溶氧量 (DO) > 5 mg/L、pH 8 – 9。整個實驗期間採用自然光週期 (冬季 11 hr 光照，夏季 13 hr 光照)。種魚每天 09:00 及 16:00 餵食鱸魚浮性飼料，為使種魚獲得更多樣化的營養，每三天補充餵食一次切碎鯖魚肉，每次餵食至種魚飽食不再索餌為止。每天 17:00 放置漂浮性受精卵收集器 (Fig. 1)，並於隔日 09:00 查看收集器並收集受精卵。



Fig. 1 Marine fish pelagic egg collector.

二、孵化率及畸形率測定

本研究各實驗測定孵化率及畸形率的方法都相同。首先將胚體形成期、出現 10–12 肌節的受精卵 (Fig. 2)，轉移到實驗用的 250 mL 燒杯中。

每個燒杯都含有新鮮海水，以靜止、不打氣狀態等待受精卵孵化後計算孵化率 (Broach *et al.*, 2017)及畸形率 (Chiu and Leu, 2021)，計算公式如下：

$$\text{孵化率 (\%)} = \left(\frac{\text{剛孵化的仔魚數量}}{\text{初始受精卵數量}} \right) \times 100$$

$$\text{畸形率 (\%)} = \left(\frac{\text{孵化後畸形的仔魚數量}}{\text{剛孵化的仔魚數}} \right) \times 100$$

畸形仔魚的判定如 Fig. 3，畸形魚苗與正常魚苗相比會有脊索縮短、尾部彎曲情形 (Chiu and Leu, 2021; Tian *et al.*, 2022)。除光照強度、微藻濃度及放卵密度各組不同之外，其他水質參數於實驗前後測量：溫度 26.0 – 26.5°C、鹽度 29.5 – 30.5

ppt、DO > 4 mg/L、pH 7.95 – 8.05、總氨氮 (Total ammonia, TAN) < 0.01 mg/L、NO₂-N < 0.05、NO₃-N < 10 mg/L。溫度、鹽度及 pH 使用多參數水質儀 (XT-131M, JAQUA, Taichung, Taiwan)、DO 以手持式測量儀 (DO30, Twinno Instruments, New Taipei City, Taiwan) 直接於燒杯中進行分析，TAN、NO₂-N 及 NO₃-N 的測定則採 1 mL 水樣，使用分光光度儀 (WaterLink Spin Touch, LaMotte, Chestertown, MD, USA) 分析。



Fig. 2 A fertilized egg with 10-12 somites has formed in the embryo.

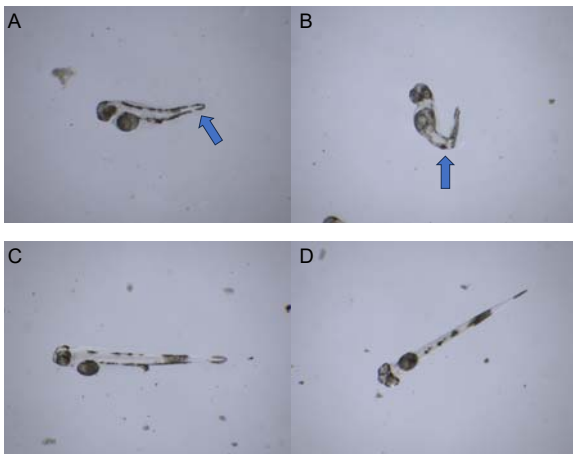


Fig. 3 The deformed larva has a shorter notochord (A, arrow) and a curved tail (B, arrow), while the normal larva has a straight and uncurved notochord (C-D).

三、光照強度對受精卵孵化及畸形之影響

以 T5 燈管之水族燈具 (pro aquarium lamp, ISTA, TZONG YANG, Taiwan) 配合黑色遮光網來設定不同光照強度，分別為 0、1,000、4,500 及 20,000 lux 四組，光照強度 0 – 4,500 lux 組的設計

參考其他珊瑚礁魚類的試驗 (Pereira-Davison and Callan, 2018)，20,000 lux 組為模擬戶外養殖池的光照強度。一般來說，戶外養殖池若沒有特別遮光，光照強度均超過 20,000 lux，而我們所使用的照度計 (LM-81LX, Lutron electronic, Taiwan) 偵測極限閾值即為 20,000 lux。其他水質參數如下：溫度 26.0 – 26.5°C、鹽度 29.5 – 30.5 ppt、DO > 4 mg/L、pH 7.95 – 8.05。實驗開始時每個燒杯放入 30 粒受精卵，每組三重複，燒杯中無打氣。受精卵放入後經過 24 hr (即光照週期 24L : 0D，L=光照，D=黑暗) 計算孵化率及畸形率。

四、微藻濃度對受精卵孵化及畸形之影響

以商業用濃縮微藻膏 (*Chlorella* spp.) (Super Chlorella V12, Chlorella Industry, Japan) 添加於海水中配置不同濃度的綠水環境，根據其中微藻細胞量分為 6.38×10^5 、 1.68×10^6 、 3.35×10^6 及 4.86×10^6 cells/mL 四組，微藻濃度設置參照其他珊瑚礁魚類的試驗 (Degidio *et al.*, 2018; Chen and Zeng, 2021)。實驗中的光照強度依照第三節的實驗結果設定，光照週期為 24L : 0D。其他水質參數如下：溫度 26.0 – 26.5°C、鹽度 29.5 – 30.5 ppt、DO > 4 mg/L、pH 7.95 – 8.05。每個燒杯放入 30 粒受精卵，每組三重複，燒杯中無打氣。受精卵放入後經過 24 hr 計算孵化率及畸形率。

五、放卵密度對受精卵孵化及畸形之影響

設計 250、500、1,000 及 2,000 粒/L 四組，放卵密度的設定參照 Broach *et al.* (2017) 的研究。實驗中的光照強度依照第三節的實驗結果，光照週期為 24L : 0D。微藻添加的濃度依照第四節的實驗結果，每組三重複，燒杯中無打氣。其他水質參數如下：溫度 26.0 – 26.5°C、鹽度 29.5 – 30.5 psu、DO > 4 mg/L、pH 7.95 – 8.05。受精卵放入後經過 24 hr 計算孵化率及畸形率。

六、統計分析

本研究所有數據以平均值 ± 標準誤 (mean ± SEM) 表示。光照強度、微藻濃度及放卵密度實驗結果以單因子變異數分析 (one-way

ANOVA) 進行統計分析，並以 Tukey's honestly significant difference test 進行事後檢定，比較各組間平均值差異的顯著性。所有百分比之數據分析前均經過角度轉換 (arcsine transformation) 為常態分佈，各項分析之顯著水準 $\alpha=0.05$ ，統計繪圖軟體為 GraphPad Prism 9.0.0 (GraphPad Software)。

結 果

一、光照強度對受精卵孵化及畸形之影響

密點少棘胡椒鯛受精卵在光照強度 0、1,000、4,500 及 20,000 lux 暴露下經過 24 hr，孵化率分別為 54.44 ± 7.78 、 44.44 ± 1.11 、 51.11 ± 4.01 及 $41.11 \pm 4.44\%$ ，各組間沒有顯著差異 ($p > 0.05$)。畸形率分別為 11.44 ± 5.72 、 17.40 ± 2.01 、 53.47 ± 8.28 及 53.33 ± 4.24 ，在 4,500 及 20,000 lux 組的畸形率顯著高於 0 及 1,000 lux 組 ($p < 0.05$) (Fig. 4)。

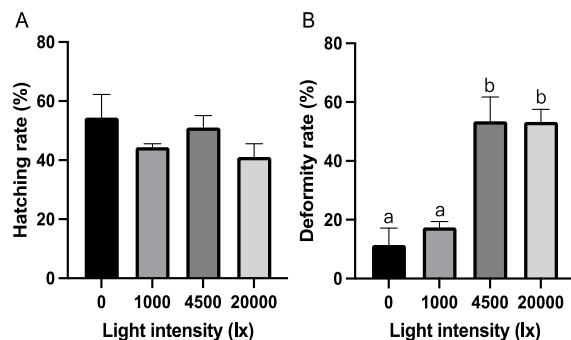


Fig. 4 Effects of light intensity on the (A) hatching rate and (B) deformity rate of painted sweetlips (*Diagramma pictum*) eggs. Different letters in the bar chart indicate significant differences ($p < 0.05$).

二、微藻濃度對受精卵孵化及畸形之影響

密點少棘胡椒鯛受精卵在微藻濃度 6.38×10^5 、 1.68×10^6 、 3.35×10^6 及 4.86×10^6 cells/mL 及光照強度 1,000 lux 條件下經過 24 hr，孵化率分別為 78.89 ± 4.01 、 70.00 ± 7.69 、 70.00 ± 3.33 及 $48.89 \pm 6.75\%$ ，在 6.38×10^5 cells/mL 組的孵化率顯著高於 4.86×10^6 組 ($p < 0.05$)。畸形率分別為 5.52 ± 1.08 、 15.53 ± 5.90 、 12.90 ± 3.57 及 $61.04 \pm 15.50\%$ ，在 4.86×10^6 cells/mL 組的畸形率顯著高於其他各組 ($p < 0.05$) (Fig. 5)。

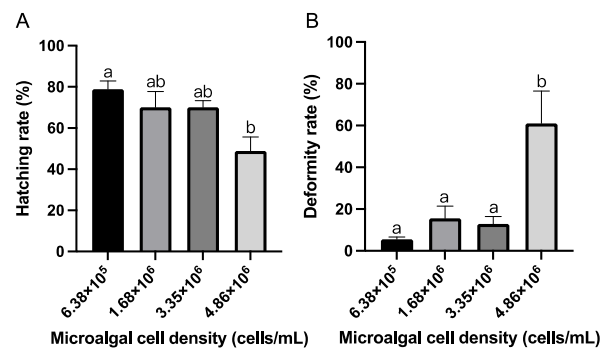


Fig. 5 Effects of commercial microalgae paste cell density on the (A) hatching rate and (B) deformity rate of painted sweetlips (*Diagramma pictum*) eggs. Different letters in the bar chart indicate significant differences ($p < 0.05$).

三、放卵密度對受精卵孵化及畸形之影響

密點少棘胡椒鯛受精卵在放卵密度 250、500、1,000 及 2,000 粒/L、光照強度 1,000 lux 及商業微藻膏濃度 6.38×10^5 cells/mL 條件下經過 24 hr，孵化率分別為 74.48 ± 4.06 、 46.93 ± 3.07 、 40.80 ± 16.03 及 $25.47 \pm 0.75\%$ ，放卵密度 250、500 及 1,000 粒/L 組的孵化率顯著高於 2,000 粒/L 組 ($p < 0.05$)。畸形率分別為 15.82 ± 3.98 、 77.51 ± 2.81 、 55.43 ± 23.25 及 $57.94 \pm 9.27\%$ ，250 粒/L 組顯著低於 500 粒/L 組 ($p < 0.05$) (Fig. 6)。

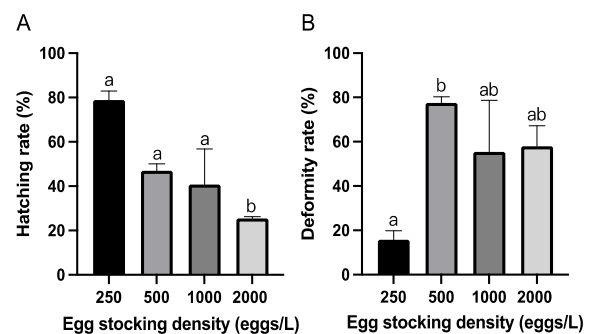


Fig. 6 Effects of egg stocking density on the (A) hatching rate and (B) deformity rate of painted sweetlips (*Diagramma pictum*) eggs. Different letters in the bar chart indicate significant differences ($p < 0.05$).

討 論

本研究首次探討密點少棘胡椒鯛受精卵在不同光照、微藻濃度及放卵密度條件下的孵化情形，可建立此魚種的養殖基礎參數，提供養殖業者參考。實驗結果顯示，受精卵在光照強度 0 – 20,000 lux 的範圍內均可順利孵化，而各組孵化率 (40 – 60%) 沒有顯著差異。同樣的，拿騷石斑魚 (*Nassau grouper, Epinephelus striatus*) 的受精卵在實驗所設定的光照強度條件 (0 – 1,636 lux) 下也都能孵化 (65 – 71%) (Ellis *et al.*, 1997)，而大西洋牙鰾 (summer flounder, *Paralichthys dentatus*) 的孵化率 (64 – 100%) 及孵化後仔魚的脊索長度 (2.87 – 3.24 mm) 在光照強度 0 – 2,000 lux 之間也沒有顯著差異 (Watanabe and Feeley, 2004)。然而，密點少棘胡椒鯛孵化後仔魚的畸形率在較高的光照強度組別 (4,500 及 20,000 lux) 明顯增加，與 Liu *et al.* (1994) 進行狹鱗庸鰈 (*Pacific halibut, Hippoglossus stenolepis*) 的孵化實驗中所觀察到的結果相似，在最高光照強度組別 (15 lux) 的孵化後畸形率 (92%) 高於低光照強度組別 (0 – 5 lux, 24 – 63%)。可以看出對海水魚苗來說，光照強度若持續提高直到超過特定閾值，就會對孵化後的仔魚產生負面影響，這也可以解釋為什麼臺灣的養殖者在戶外育苗時，都會在受精卵孵化前給予一定程度的遮光。Villamizar *et al.* (2011) 認為，魚類早期生活史階段對光照相當敏感是由於缺乏色素以及光感受器未發育完全。在歐洲海鱸 (European seabass, *Dicentrarchus labrax*) 及漠斑牙鰾 (southern flounder, *Paralichthys lethostigma*) 的研究中都已證實過「高光照」是一種環境緊迫因子 (Barahona-Fernandes, 1979; Henne and Watanabe, 2003)。然而，也有少數不同的案例，如長蛇齒單線魚 (lingcod, *Ophiodon elongatus*) 在光照強度 1 lux 的孵化率顯著高於 0 及 530 lux，在 1 lux 條件下畸形率最低 (Cook and Rust, 2002)，顯示在魚卵孵化時對光照強度的需求也存在種間特異性。目前的實驗結果顯示，0 – 1,000 lux 可能較適合密點少棘胡椒鯛受精卵孵化，發生畸形的魚苗也較少，然而 1,000 – 4,500 lux 之間的光照條件在本實驗中沒有設置實驗組，是否也能得到與 0 – 1,000 lux 相近的結果則需要進一步測試。

「綠水養殖」為海水魚苗培育常用的方法 (Planas and Cunha, 1999; Liao *et al.*, 2001; Carton, 2005; Nicolaisen *et al.*, 2014)，一般都探討魚苗在綠水環境的攝食率及攝食強度 (Carton, 2005; Nicolaisen *et al.*, 2014; Groover *et al.*, 2021)，而探討綠水環境對海水魚卵孵化影響的研究不多，在養殖現場也較容易忽略環境中微藻濃度對魚卵孵化的影響。我們的研究證實密點少棘胡椒鯛受精卵的孵化情形會受到水中微藻濃度的影響，即微藻濃度提高至 4.86×10^6 cells/mL 時，會導致孵化率降低以及孵化後魚苗畸形率顯著的增加。可能原因來自於微藻濃度增加所造成的幾種不同結果，包含水中微生物孳生、濁度提高及魚卵所接受到的光照強度降低等。本研究使用商業用的藻膏來製造微藻環境，因藻膏內的微藻並非活藻，因此藻體可能隨著時間推移沉澱並在燒杯底部腐敗，導致環境中微生物孳生。Oppen-Berntsen *et al.* (1990) 認為，大西洋鮭魚 (Atlantic salmon, *Salmo salar*) 受精卵孵化失敗可能與卵膜被真菌感染有關，而 Barnes *et al.* (2009) 則觀察到柱狀菌 (*Flavobacterium columnare*) 感染受精卵造成虹鱒 (rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*) 孵化失敗。從濁度增加的角度來看，在自然環境中，濁度增加往往伴隨著溶氧量的降低，而溶氧量降低則可能導致魚類在胚胎發育過程中缺氧 (Mueller *et al.*, 2017; Phan *et al.*, 2020)。Del Rio *et al.* (2019) 發現，低溶氧會導致魚類胚胎發育及孵化時間延遲，造成孵化率降低。過去也有許多研究發現，環境濁度提高會導致魚苗畸形率提高 (Griffin *et al.*, 2009; Phan *et al.*, 2019, 2020)，而畸形的樣態通常是脊索彎曲、尾部畸形 (Phan *et al.*, 2022)，與本研究觀察的結果吻合。微藻濃度增加也會使受精卵接受到的光照強度降低 (Groover *et al.*, 2021)，根據光照強度實驗結果，受精卵在低光照如 0 – 1,000 lux 環境下孵化率會提高，然而，在微藻濃度實驗中卻顯示微藻的濃度越高 (導致光照強度越低) 造成孵化率降低及畸形率增高。因此，我們推測在微藻濃度實驗中造成孵化率降低及畸形率增加的主要原因並非光照，而是微生物增生或溶氧降低導致，日後可以透過監測微生物與溶氧量來證實這點。

在放卵密度實驗中發現，放卵密度越高導致密點少棘胡椒鯛受精卵孵化率降低與畸形率增加，

而結果顯示 250 粒/L 為較適合的放卵密度。菱體兔牙鯛 (Pinfish, *Lagodon rhomboides*) 的放卵密度實驗中也發現相似的結果,在水體無打氣的情況下,放卵密度高於 250 粒/L 會導致孵化率降低 (Broach *et al.*, 2017)。點帶石斑魚 (orange-spotted grouper, *Epinephelus coioides*) 放卵密度 200 – 400 粒/L, 孵化率 (> 70%) 顯著高於 800 – 1600 粒/L (40 – 60%) (Toledo *et al.*, 2004), 駝背鱸 (humpback grouper, *Cromileptes altivelis*) 的放卵密度從 500 粒/L 增加到 3000 粒/L, 孵化率從 77% 下降到 59% (Sugama *et al.*, 2004), 金鰭鋸鰂石鱸 (Pigfish, *Orthopristis chrysoptera*) 放卵密度超過 1000 粒/L, 則從 85 – 90% 降至 70 – 75% (Broach *et al.*, 2017), 可見在一般無流水, 不論打氣或無打氣, 放卵密度增加都會顯著影響孵化率, 如果要增加放卵數量及提升孵化率, 建議需將卵放在具有濾網的容器, 再置放於流通的水中 (Broach *et al.*, 2017)。密點少棘胡椒鯛放卵密度的增加會進一步使孵化後的畸形率增加, 尤其超過 250 粒/L 到 500 粒/L, 增加幅度顯著。金鰭鋸鰂石鱸放卵密度從 250 粒/L 增加 1000 粒/L, 魚苗在發育至首次攝食階段的體長顯著減小 (Broach *et al.*, 2017)。這可能是因為放卵密度的增加導致水體中溶氧降低, 也造成每粒卵所能獲取的溶氧量降低 (Mueller *et al.*, 2017; Del Rio *et al.*, 2019; Phan *et al.*, 2020), 最終會導致發育延遲與魚苗畸形。

本研究採取一次探討一個因子的試驗方法, 探討光照、微藻濃度及放卵密度對密點少棘胡椒鯛魚卵孵化的影響, 然而, 在實際的養殖環境中, 三個因子對受精卵孵化與仔魚畸形的影響可能有強弱之別, 彼此之間也可能存在交互作用, 需要進一步透過多因子的試驗設計及分析才能有更切實的解釋, 但本研究在單因子實驗的結果則有助於日後進行多因子試驗時, 提供各因子水準設定的參考。根據現階段的研究結果, 建議密點少棘胡椒鯛育苗時最初的 24 hr 可維持環境條件如下, 光照強度 0 – 1,000 lux、微藻濃度 6.38×10^5 cells/mL 及放卵密度 250 粒/L, 可獲得相對理想的孵化率與較低之畸形率。

謝 辭

本研究由農業部科技計畫:「陸棚性魚介類增裕技術之建立 (113 農科-6.5.1-水-02)」經費支持, 使本研究得以順利完成, 特此致謝。

參考文獻

- Barahona-Fernandes, M. H. (1979) Some effects of light intensity and photoperiod on the sea bass larvae (*Dicentrarchus labrax*) reared at the Centre Oceanologique de Bretagne. *Aquaculture*, 17: 311-321.
- Barnes, M. E., D. Bergmann, J. Jacobs and M. Gabel (2009) Effect of *Flavobacterium columnare* inoculation, antibiotic treatments and resident bacteria on rainbow trout *Oncorhynchus mykiss* eyed egg survival and external membrane structure. *J. Fish. Biol.*, 74: 576-590.
- Broach, J. S., C. L. Ohs and M. A. DiMaggio (2017) Effects of egg stocking density on egg hatchability, larval quality and water quality for pinfish, *Lagodon rhomboides*, and pigfish, *Orthopristis chrysoptera*. *Aquac. Res.*, 48: 3589-3605.
- Carton, A. G. (2005) The impact of light intensity and algal-induced turbidity on first-feeding *Seriola lalandi* larvae. *Aquac. Res.*, 36: 1588-1594.
- Chang, S. L. (1997) Studies on the early development and larval rearing of three-banded sweetlips *Plectorhynchus cinctus*. *J. Taiwan Fish. Res.*, 5: 157-165.
- Chen, J. Y. and Zeng, C. (2021) The effects of live prey and greenwater on the early larval rearing of orchid dottyback *Pseudochromis fridmani*. *Aquaculture*, 543: 737008.
- Chiu, P. S. and M. Y. Leu (2021) Captive spawning, early development and larviculture of the dwarf hawkfish, *Cirrhichthys falco* (Randall, 1963) with experimental evaluation of the effects of temperature, salinity and initial prey on hatching success and first feeding. *Aquaculture*, 542: 736866.
- Chiu, P. S., S. W. Ho, C. H. Huang, Y. C. Lee and Y. H. Lin (2023) Captive reproductive behavior, spawning, and early development of white-barred goby *Amblygobius phalaena* (Valenciennes, 1837) and examined larval survival and viability at different water temperatures and salinities. *Fishes*, 8: 364.

- Chiu, P. S., B. H. Yu, Y. H. Tu, Y. T. Chu, C. H. Huang, S. W. Ho, S. H. Lin, S. L. Yeh and M. Y. Leu (2025) Year-round natural spawning, early ontogeny, and larval rearing of the painted sweetlips, *Diagramma pictum* (Thunberg, 1792) in a hatchery: Potential as a new species for mariculture. *Aquaculture*, 594: 741380.
- Cobcroft, J. M., P. M. Pankhurst, P. R. Hart and S. C. Battalene (2001) The effects of light intensity and algae-induced turbidity on feeding behaviour of larval striped trumpeter. *J. Fish. Biol.*, 59: 1181-1197.
- Cook, M. A. and M. B. Rust (2002) The effect of light intensity on development and hatching success of lingcod, *Ophiodon elongatus* (Girard), eggs. *Aquac. Res.*, 33: 217-222.
- Degidio, J. M. L., R. P. Yanong, C. L. Ohs, C. A. Watson, E. J. Cassiano and K. Barden (2018) First feeding parameters of the milletseed butterflyfish *Chaetodon miliaris*. *Aquac. Res.*, 49: 1087-1094.
- Del Rio, A. M., B. E. Davis, N. A. Fangue and A. E. Todgham (2019) Combined effects of warming and hypoxia on early life stage Chinook salmon physiology and development. *Conserv. Physiol.*, 7: coy078.
- Downing, G. and M. K. Litvak (2002) Effects of light intensity, spectral composition and photoperiod on development and hatching of haddock (*Melanogrammus aeglefinus*) embryos. *Aquaculture*, 213: 265-278.
- Ellis, E. P., W. O. Watanabe, S. C. Ellis, J. Ginoza and A. Moriwake (1997) Effects of turbulence, salinity, and light intensity on hatching rate and survival of larval Nassau grouper, *Epinephelus striatus*. *J. Appl. Aquac.*, 7: 33-43.
- Fricke, R., W. N. Eschmeyer and R. van der Laan (2024) Catalog of fishes: genera, species, references. <https://researcharchive.calacademy.org/research/ichthyology/catalog/fishcatmain.asp>. (accessed 24 May 2024).
- Froese, R. and D. Pauly (2024) FishBase. World Wide Web electronic publication. <https://fishbase.mnhn.fr/photos/ThumbnailsSummary.php?ID=4465> (accessed 24 May 2024).
- Griffin, F. J., E. H. Smith, C. A. Vines, and G. N. Cherr (2009) Impacts of suspended sediments on fertilization, embryonic development, and early larval life stages of the Pacific herring, *Clupea pallasii*. *Biol. Bull.*, 216:175-187.
- Groover, E. M., M. M. Alo, S. W. Ramee, T. N. Lipscomb, J. M. L. Degidio and M. A. DiMaggio (2021) Development of early larviculture protocols for the melanurus wrasse *Halichoeres melanurus*. *Aquaculture*, 530: 735682.
- Hauville, M. R., E. J. Cassiano, K. P. Barden, M. L. Wittenrich and C. A. Watson (2017) Larval development, growth and impact of first feed on the aquaculture of French grunt (*Haemulon flavolineatum*, Desmarest, 1823). *Aquac. Res.*, 48: 5439-5442.
- Henne, J. P. and W. O. Watanabe (2003) Effects of light intensity and salinity on growth, survival, and whole-body osmolality of larval Southern flounder *Paralichthys lethostigma*. *J. World Aquac. Soc.*, 34: 450-465.
- Hilder, P. E., J. M. Cobcroft and S. C. Battaglione (2017) Factors affecting the feeding response of larval southern bluefin tuna, *Thunnus maccoyii* (Castelnau, 1872). *Aquac. Res.*, 48: 2752-2766.
- Holt, G. J., M. Y. Leu, C. K. Callan and B. Erisma (2017) Large angelfish and other pelagic spawners. In *Marine ornamental species aquaculture* (R. Calado, I. Olivotto, M. Planas and G. J. Holt eds.), West Sussex, UK: John Wiley and Sons Ltd., 251-278.
- Lee, S. C. (1985) Fishes of the family Haemulidae (Teleostei: Percoidae) of Taiwan. *Bull. Inst. Zool. Academia Sinica*, 24: 257-272.
- Leu, M. Y., P. J. Meng, K. S. Tew, J. Kuo and C. C. Hung (2012) Spawning and development of larvae and juveniles of the Indian Ocean oriental sweetlips, *Plectorhinchus vittatus* (Linnaeus, 1758), in the Aquarium. *J. World Aquacult. Soc.*, 43: 595-606.
- Liao, I. C., H. M. Su and E. Y. Chang (2001) Techniques in finfish larviculture in Taiwan. *Aquaculture*, 200: 1-31.
- Liu, H. W., R. R. Stickney, W. W. Dickhoff and D. A. McCaughan (1994) Effects of environmental factors on egg development and hatching of Pacific halibut *Hippoglossus stenolepis*. *J. World Aquacult. Soc.*, 25: 317-321.
- Mueller, J. S., T. B. Grabowski, S. K. Brewer, and T. A. Worthington (2017) Effects of temperature, total dissolved solids, and total suspended solids on survival and development rate of larval Arkansas River shiner. *J. Fish Wildl. Manag.*, 8: 79-88.
- Nelson, J. S. (1994) *Fishes of the World* (Third ed.) John Wiley & Sons, Inc., New York, 600 pp.
- Nicolaisen, O., M. Cuny and S. Bolla (2014) Factorial experimental designs as tools to optimize rearing conditions of fish larvae. *Aquaculture*, 422: 253-260.
- Oppen-Berntsen, D. O., A. Bogsnes and B. T. Walther

- (1990) The effects of hypoxia, alkalinity and neurochemicals on hatching of Atlantic salmon eggs. *Aquaculture*, 86: 417-430.
- Pereira-Davison, E. and C. K. Callan (2018) Effects of photoperiod, light intensity, turbidity and prey density on feed incidence and survival in first feeding yellow tang (*Zebrasoma flavescens*)(Bennett). *Aquac. Res.*, 49: 890-899.
- Planas, M. and I. Cunha (1999) Larviculture of marine fish: problems and perspectives. *Aquaculture*, 177: 171-190.
- Phan, T. C. T., A. V. Manuel, N. Tsutsui and T. Yoshimatsu (2019) Impact of short-term salinity and turbidity stress on the early developmental stages of Japanese flounder, *Paralichthys olivaceus* (Temminck and Schlegel, 1846). *Asian Fish. Sci.*, 32: 93-103.
- Phan, T. C. T., A. V. Manuel, N. Tsutsui and T. Yoshimatsu (2020) Impacts of short-term salinity and turbidity stress on the embryonic stage of red sea bream *Pagrus major*. *Fish. Sci.*, 86: 119-125.
- Phan, T. C. T., A. V. Manuel, N. Tsutsui and T. Yoshimatsu (2022) Effects of salinity and turbidity on development of bamboo sole (*Heteromycteris japonicus*). *Fish. Bull.*, 120: 268-276.
- Puvanendran, V. and J. A. Brown (2002) Foraging, growth and survival of Atlantic cod larvae reared in different light intensities and photoperiods. *Aquaculture*, 214: 131-151.
- Randall, J. E., G. R. Allen and R. C. Steene (1997) *Fishes of the Great Barrier Reef and Coral Sea*. University of Hawaii Press, Honolulu, Hawaii, 594 pp.
- Sales, R., R. C. S. Mélo, R. M. de Moraes Junior, R. C. S. da Silva, R. O. Cavalli, D. M. D. A. F. Navarro and L. P. de Souza Santos (2016) Production and use of a flocculated paste of *Nannochloropsis oculata* for rearing newborn seahorse *Hippocampus reidi*. *Algal Res.*, 17: 142-149.
- Smith, M. M. and R. J. McKay (1986) Family No. 179. Haemulidae. In *Smiths' Sea Fishes* (M. M. Smith and P. C. Heemstra eds.), Springer-Verlag, Berlin, Germany, 564-571.
- Sommer, C., W. Schneider and J. M. Poutiers (1996) *FAO species identification field guide for fishery purposes. The living marine resources of Somalia*. FAO, Rome. 376 p.
- Sowaske, G., C. A. Murray, S. W. Hutchins, T. N. Lipscomb and M. A. DiMaggio (2023) Evaluation of larviculture protocols for the Pacific blue tang (*Paracanthurus hepatus*). *Aquaculture*, 565: 739116.
- Sugama, K., S. I. Trijoko and K. Maha Setiawati (2004) Environmental factors affecting embryonic development and hatching of humpback grouper (*Cromileptes altivelis*) Larvae. In *Advances in Grouper Aquaculture* (M. A. Rimmer, S. McBride and K. C. Williams eds.), Australian Centre for Internet Agricultural Research. ACIAR, Canberra, 17-20.
- Tian, S., K. Zhou, Y. Liao, Y. Tang, Q. Liu, R. Zhang, L. Shou and J. Zeng (2022) Effects of temperature shock on the survival of different life stages of large yellow croaker (*Larimichthys crocea*) by simulated power plant cooling water. *Front. Mar. Sci.*, 9: 1037137.
- Toledo, J. D., N. B. Caberoy and G. F. Qunitio (2004) Environmental factors affecting embryonic development, hatching and survival of early stage larvae of the grouper (*Epinephelus coioides*). In *Advances in Grouper Aquaculture* (M. A. Rimmer, S. McBride and K. C. Williams eds.), Australian Centre for Internet Agricultural Research. ACIAR, Canberra, 10-16.
- Villamizar, N., B. Blanco-Vives, H. Migaud, A. Davie, S. Carboni and F. J. Sanchez-Vazquez (2011) Effects of light during early larval development of some aquacultured teleosts: A review. *Aquaculture*, 315: 86-94.
- Watanabe, W. O. and M. W. Feeley (2004) Light intensity effects on embryos, prolarvae, and first-feeding stage larvae of the summer flounder, *Paralichthys dentatus*. *J. Appl. Aquac.*, 14: 179-200.

Effects of Light Intensity, Microalgae Concentration and Stocking Density on Hatching of Fertilized Eggs of Spotted Sweetlips (*Diagramma pictum*)

Pei-Sheng Chiu*, Shine-Wei Ho, Cheng-Hsuan Huang, Yeong-Torng Chu and Jinn-Rong Hseu

Mariculture Research Center, Fisheries Research Institute

ABSTRACT

The painted sweetlips (*Diagramma pictum*), widely distributed in the Indo-West Pacific region, is an important species for fisheries, fish stocking, and the aquarium trade, and has potential for aquaculture development and stock enhancement. In aquaculture environments, light intensity, microalgae concentration in water, and the initial stocking density of fertilized eggs affect the hatching success and subsequent larval rearing outcomes. This study investigates the hatching rate and deformity rate of larvae after 24 hours under varying light intensities (0, 1,000, 4,500, and 20,000 lux), microalgae concentration (6.38×10^5 , 1.68×10^6 , 3.35×10^6 and 4.86×10^6 cells/mL), and egg stocking densities (250, 500, 1,000, and 2,000 eggs/L). Results show that increased light intensity significantly increases larval deformity rates, while higher microalgae concentration and egg stocking densities lead to reduced hatching rates and increased deformity rates. We recommend that the following environmental conditions should be maintained during the initial 24 hours of *D. pictum* larval rearing: light intensity at 0-1,000 lux, microalgae concentration at 6.38×10^5 cells/mL, and egg stocking density at 250 eggs/L. Under these conditions, the respective hatching rates are 44-54, 78.89 and 74.48%, and the respective larval deformity rates are 11-17, 5.52 and 15.82%. The results of this study can be applied to the hatching management of fertilized eggs in *D. pictum* and contribute to improving the survival rate of subsequent larval production.

Key words: *Diagramma pictum*, hatching, light intensity, microalgae concentration, egg stocking density

*Correspondence: 4, Haipu, Sangu, Qigu Dist., Tainan, Taiwan. TEL: (06)7880461 ext. 219; E-mail: pschiu@mail.tfrin.gov.tw

臺灣產文蛤種類分子鑑定之研究

宋嘉軒^{1,2} · 何欣珏² · 顏綵霞² · 汪澤宏³ · 黃章文^{1*}

¹ 國立臺灣海洋大學水產養殖學系

² 農業部水產試驗所技術服務組

³ 農業部林業試驗所植物保護組

摘 要

文蛤為臺灣重要養殖二枚貝類，在分類上屬於軟體動物門 (Mollusca) 雙殼綱 (Bivalvia) 簾蛤科 (Veneridae) 文蛤屬 (*Meretrix*)。本研究以粒線體 DNA cytochrome c oxidase subunit I (COI) 為目標基因，對臺灣不同地區的文蛤進行分子鑑定，總共分析 85 個樣品，結果顯示有 74 個樣品屬於臺灣文蛤 (*Meretrix taiwanica*)、有 11 個樣品屬於韓國文蛤 (*M. lamarckii*) 及 1 個樣品屬於麗文蛤 (*M. lusoria*)。就養殖文蛤的種類來看，在彰化、雲林、嘉義及臺南地區皆為臺灣文蛤，只有臺南發現到 1 個樣品屬於麗文蛤，顯示臺灣各地區主要的種類是臺灣文蛤，而非麗文蛤。野生文蛤的種類，在臺北淡水採集到的樣品屬於臺灣文蛤，金門及新北龍門的則屬於韓國文蛤。臺灣文蛤基因單倍型多樣性 (haplotype diversity, Hd) 的結果顯示，養殖 ($Hd = 0.752 \pm 0.048$) 和野外 ($Hd = 0.891 \pm 0.074$) 族群都呈現高單倍型多樣性，單倍型網狀分析 (haplotype network analysis) 的結果顯示，在 64 個臺灣文蛤樣品中包含 21 種單倍型，其中有 4 種主要的單倍型，且不同地區的樣品保持基因流動。本研究結果提供的資訊有助於未來臺灣地區文蛤的物種鑑定、族群遺傳及種原管理之發展。

關鍵詞：臺灣文蛤、麗文蛤、基因多樣性

前 言

文蛤是臺灣常見且重要的養殖二枚貝類，早期依靠捕獲天然苗後進行淺海養殖，依據漁業年報統計，自 1974 年文蛤產量達 13,976 mt，1983 年人工育苗成功後，養殖方式由淺海轉為陸上魚塢養殖，產量增加至 16,049 mt，到 2003 年提高至 31,518 mt，產量成長倍增。近年來，隨著養殖技術持續的精進，養殖文蛤的產量持續提升，在 2022 年產量達 54,112 mt，產值為新臺幣 45.39 億元 (臺灣地區漁業統計年報, 2022)，成為養殖貝類的首位，養殖生產區為彰化縣、雲林縣、嘉義縣及臺南市四縣市。文蛤可進行低氧或無氧呼吸，在適當的溫度下即使是真空狀態仍可存活數日，有助文蛤的運送及保存，在全臺的各級賣場、超市、傳統市場都可看到生鮮文蛤的販售。

文蛤一般是雌雄異體，從外觀上沒有明顯的特徵可有效地進行性別的區分，外殼上的花紋及色斑具有高度多樣性，不同成長階段及個體間變化很大，除了皺肋文蛤 (*Meretrix lyrata*) 在外殼上具有明顯鋸齒狀的殼紋，其餘種類的文蛤很難僅憑外觀正確地鑑別，仍需依靠形態學的特徵進行判斷，最常使用的項目為：殼體形態、絞齒 (hinge teeth) 數目、閉殼肌痕 (adductor muscle scar)、套線 (pallial line) 及套線彎 (pallial sinus) 等指標共同進行 (黃等, 2019)。然而，文蛤的形態特徵有時會受成長階段、生長環境影響，增加了鑑定的困難，隨著生物技術的發展，以 DNA 為基礎的分析方式成為進行物種鑑定和親緣分析的主要方法之一。

最常被使用的分子鑑定的方式就是利用聚合酶鏈連鎖反應 (polymerase chain reaction, PCR) 擴增特定的 DNA 目標片段，透過核酸定序解讀 PCR 產物的序列，最後與基因資料庫進行比對確認，最常使用的是由美國國家生物技術資訊中心 (National Center for Biotechnology Information, 簡

*通訊作者 / 基隆市北寧路 2 號 ; TEL: (02) 2462-2192 ext. 5238; cw Huang@mail.ntou.edu.tw

稱 NCBI) 所設置 Genebank 資料庫。在 1994 年, Folmer *et al.* (1994) 以粒線體 DNA 上的細胞色素 c 氧化酶 1 (cytochrome c oxidase subunit I, COI) 基因目標片段, 發表一對共通性引子 (universal primer) 可應用在 11 門 (phyla) 無脊椎動物的分子鑑定 (Folmer *et al.*, 1994), 這對引子亦適用於文蛤屬 (*Meretrix*) 的物種 (Yamakawa and Imai, 2013)、牡蠣與貽貝等二枚貝類的鑑定及分析 (Abbadi *et al.*, 2016; Wen *et al.*, 2018)。除了最普遍使用的 COI 基因, 也有研究發現在 COII 基因的 DNA 序列中具有獨特的高變異性區域, 可利用 PCR 或 PCR-RFLP 的方式區分麗文蛤 (*M. lusoria*)、韓國文蛤 (*M. lamarckii*)、皺肋文蛤和中華文蛤 (*M. petechialis*) 等四種文蛤 (Sung *et al.*, 2023)。

文蛤養殖在臺灣有悠久的歷史, 最早可追溯到日據時代, 依照臺灣水產雜誌 (1921) 記載, 在大正 10 年, 時任總督府水產養殖局水產科的技術員青木起雄, 從日本的福岡、熊本、佐賀及岡山縣採購蛤蜊, 運送兩批次到臺北、新竹、臺中、臺南及高雄各處的試驗場進行養殖, 並於隔年表示移植計畫成功, 由於麗文蛤是屬於日本的原生種, 因此普遍認為臺灣的文蛤是由日本引進的麗文蛤。隨著麗文蛤粒線體全基因體的定序完成 (Sung *et al.*, 2020), 學者們發現臺灣的養殖文蛤與日本的麗文蛤在 DNA 序列上並不相同。Hsiao and Chuang (2023) 的研究利用 COI 基因序列及形態學的證據證實目前的臺灣產的文蛤非屬麗文蛤, 正式更名為臺灣文蛤 (*M. taiwanica*), 淡水河口是其原生棲息地。因此, 本研究參考前述最新發表的研究報告, 針對臺灣不同地區的養殖及野生文蛤進行分子鑑定, 釐清目前養殖文蛤種類之現況, 並與野外文蛤進行比較, 探討彼此之間的差異。

材料與方法

一、樣品收集及 DNA 萃取

養殖文蛤樣品購買自為彰化、雲林、嘉義、臺南地區具產銷履或電商通路養殖場, 各縣市皆為 1 場, 樣品數分別為: 10 個、19 個、16 個及 19 個。野外文蛤來源為新北淡水、新北龍門、金門, 樣品數分別為: 15 個、1 個及 10 個, 皺肋

文蛤因外型能較明顯進行區別, 未列入本研究中。剪取適量斧足或閉殼肌組織, 將組織浸泡於含有 proteinase K 的 tissue lysis buffer 中, 使用 QIAamp DNA Mini Kit 進行核酸 (genomic DNA) 萃取, 以超微量分光光度計 (NanoDrop 2000) 進行核酸濃度測定, DNA 樣品吸光值 (OD260/280) 需介於 1.9 – 2.0 之間, DNA 樣品儲存在 -20°C 低溫冷凍櫃供後續分析使用。

二、PCR 分析

PCR 反應試劑使用 Premix Ex Taq™ (TAKARA)。引子使用 Folmer *et al.* (1994) 所發表的引子對 (LCO1490: 5'-GGTCAACAAATCA TAAAGATATTGG-3'、HC02198: 5'-TAAACTT CAGGGTGACCAAAAAATCA-3'), 進行粒線體 COI 基因的目標片段擴增。反應條件為: 94°C、2 min; 著進行 35 個循環的 94°C、30sec / 54°C、30 sec / 72°C、50 sec, 及 72°C、10 min。PCR 產物以 2% 的瓊質膠 (agarose) 進行電泳分析, 使用 1X TAE (Tris-acetate-EDTA) buffer 作為電泳緩衝溶液, 將目標片段膠體切下送至基龍米克斯生物科技股份有限公司進行核酸定序。

三、文蛤 COI 基因參考序列 (reference sequence) 及比對分析

挑選 GenBank 上具有粒線體基因體全長且有文獻發表的序列資訊, 包含: 韓國文蛤 (NC_016174) (Wang *et al.*, 2011)、皺肋文蛤 (NC_022924) (Wu *et al.*, 2014)、麗文蛤 (MT418596) (Sung *et al.*, 2020) 及中華文蛤 (EU145977) (Ren *et al.*, 2009)。臺灣文蛤因目前尚無粒線體基因體序列, 選擇 Hsiao and Chuang (2023) 使用之 COI 基因序列。使用 CLCbio genomics workbench 進行 local BLSAT、sequence alignment、deduced sequence translation。序列資料也使用 Nucleotide BLAST (Basic Local Alignment Search Tool) (<https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>) 進行比對。

Table 1 COI gene species identification results

Location	Sample number	Matched accession from BLAST	% Query cover	% Identification	Meretrix species
Tamsui (TS)	11	MN275940	100	99.43-100	<i>taiwanica</i>
Longmen (LM)	1	GU071281	100	99.05	<i>lamarckii</i>
Changhua (CH)	10	MN275940	100	99.62-100	<i>taiwanica</i>
Yunlin (YL)	19	MN275940	100	99.24-100	<i>taiwanica</i>
Chiayi (CY)	16	MN275940	100	99.62-100	<i>taiwanica</i>
Tainan (TN)	18	MN275940	100	99.62-100	<i>taiwanica</i>
Tainan (TN)	1	MT418596	100	98.67	<i>lusoria</i>
Kinmen (KM)	10	NC_016174	100	98.06-99.52	<i>lamarckii</i>
Total	86				

四、演化樹形圖分析 (phylogenetic analysis)

使用 BioEdit (Hall, 1999) 進行核酸 DNA 序列 clustalW Multiple alignment，接續使用 MEGA 6 (Tamura *et al.*, 2013) 繪製演化樹形圖，使用最大似估計法 (maximum likelihood)，經 Akaike information criterion (AIC) 及 Bayesian information criterion (BIC) 評估 Jukes-Cantor model 為最佳模式，可靠性統計值 (bootstrap value) 採用 500 次重複計算，bootstrap value 大於 75 時標註於演化樹形圖。

五、臺灣文蛤單倍型 (haplotype) 及相關遺傳多樣性分析

使用 COI 基因為分析的目標基因，核酸序列經 BioEdit 進行 clustalW Multiple alignment，續由 DnaSP v5 (Librado and Rozas, 2009) 進行單倍型相關分析，計算單倍型數量 (h)、多型性位點 (s)、單倍型多樣性 (Hd)、核苷酸多樣性 (π) 及 Tajima's D 統計數值來檢定養殖及野生族群內個體之基因變異是否符合中性選擇 (neutral selection)。單倍型的分析數據再匯入 popart (Leigh and Bryant, 2015) 進行 TCS 單倍型網狀分析 (Clement *et al.*, 2000) 繪製出 TCS 單倍型網狀圖。有色圓形節點代表 1 個單倍型的位置，圓形節點越大代表屬於該單倍型的樣品數量越多，黑色節點代表可能有未被檢視的單倍型 (missing haplotypes)。

結 果

一、臺灣各地文蛤分子鑑定之結果

本研究分別針對臺灣產的養殖文蛤及野外撈捕的文蛤進行種類分子鑑定，以 COI 基因為分析的目標基因，定序基因片段約 620 bp，分析樣品數為 86 個，可鑑定出三種文蛤，包含：臺灣文蛤、韓國文蛤及麗文蛤。在養殖的樣品中，彰化、雲林及嘉義分別分析了 10、19 及 16 個的文蛤樣品，鑑定結果皆屬於臺灣文蛤，臺南的 19 個文蛤樣品，其中 18 個屬於臺灣文蛤，有 1 個文蛤屬於麗文蛤。在野外的樣品中，從淡水分析了 11 個的樣品，鑑定結果屬於臺灣文蛤，在金門及新北龍門分別分析了 10 及 1 個的文蛤樣品，鑑定結果屬於韓國文蛤，詳如 Table 1。比對臺灣文蛤與其他文蛤的 COI 基因序列，在核酸序列同一性 (identity) 為 82.9 – 99.4% (Table 2)，在胺基酸序列相似性 (similarity) 為 82.9 – 99.4% (Table 3)。進一步分析 COI 基因的目標片段區胺基酸序列，臺灣文蛤與韓國文蛤 (82.9 – 86.3%) 及皺肋文蛤 (82.3 – 87.5%) 差異較大，麗文蛤 (94.8 – 96.5%)、中華文蛤 (94.8 – 97.9%) 與臺灣文蛤相似性高 (Fig. 1)。在臺灣不同地區之間，臺灣文蛤 COI 基因核酸序列的同一性為 82.9 – 99.4% (Table 2)，胺基酸序列相似性為 82.9 – 99.4% (Table 3)。

Table 2 Pairwise sequence similarity of the DNA sequence of partial COI gene

	MZ453092	TS107-1	TS107-2	TS107-3	CH111-4	CH111-5	YL108-3	YL108-4	CY110-3	CY110-6	CY111-5	TN111-13	TN111-2	Mlu	Mpe	Mla	Mly
MZ453092	—																
TS107-1	0.994	—															
TS107-2	0.994	0.996	—														
TS107-3	0.986	0.988	0.988	—													
CH111-4	0.996	0.998	0.998	0.990	—												
CH111-5	0.998	0.996	0.996	0.988	0.998	—											
YL108-3	0.992	0.986	0.986	0.990	0.988	0.990	—										
YL108-4	0.998	0.992	0.992	0.984	0.994	0.996	0.990	—									
CY110-3	0.998	0.996	0.996	0.988	0.998	0.996	0.990	0.996	—								
CY110-6	0.996	0.994	0.994	0.986	0.996	0.994	0.988	0.994	0.998	—							
CY111-5	0.998	0.996	0.992	0.984	0.994	0.996	0.990	0.996	0.996	0.994	—						
TN111-13	0.996	0.994	0.994	0.986	0.996	0.998	0.988	0.994	0.994	0.996	0.994	—					
TN111-2	0.910	0.912	0.912	0.912	0.914	0.912	0.910	0.908	0.912	0.910	0.908	0.910	—				
Mlu	0.916	0.910	0.910	0.910	0.912	0.914	0.916	0.914	0.914	0.912	0.914	0.912	0.986	—			
Mpe	0.935	0.929	0.929	0.925	0.931	0.933	0.931	0.933	0.933	0.931	0.933	0.931	0.920	0.925	—		
Mla	0.848	0.844	0.842	0.842	0.844	0.846	0.844	0.846	0.846	0.844	0.848	0.844	0.838	0.846	0.844	—	
Mly	0.850	0.844	0.844	0.840	0.846	0.848	0.842	0.848	0.848	0.846	0.848	0.846	0.846	0.857	0.853	0.851	—

MZ453092: Reference sequence of *Meretrix taiwanica*. TS: Tamsui, CH: Changhua, YL: Yunlin, CY: Chiayi, TN: Tainan. Mlu: *M. lusoria*, Mpe: *M. petechialis*, Mla: *M. lamarckii*, Mly: *M. lyrata*.

Table 3 Pairwise sequence similarity of the deduced amino acid sequence of partial COI gene

	MZ453092	TS107-1	TS107-2	TS107-3	CH111-4	CH111-5	YL108-3	YL108-4	CY110-3	CY110-6	CY111-5	TN111-13	TN111-2	Mlu	Mpe	Mla	Mly
MZ453092	—																
TS107-1	0.982	—															
TS107-2	0.982	0.988	—														
TS107-3	0.988	0.994	0.994	—													
CH111-4	0.988	0.994	0.994	1.000	—												
CH111-5	0.994	0.988	0.988	0.994	0.994	—											
YL108-3	0.994	0.977	0.977	0.982	0.982	0.988	—										
YL108-4	0.994	0.977	0.977	0.982	0.982	0.988	0.988	—									
CY110-3	0.994	0.988	0.988	0.994	0.994	0.988	0.988	0.988	—								
CY110-6	0.988	0.982	0.982	0.988	0.988	0.982	0.982	0.982	0.994	—							
CY111-5	0.994	0.988	0.977	0.982	0.982	0.988	0.988	0.988	0.988	0.982	—						
TN111-13	0.988	0.982	0.982	0.988	0.988	0.994	0.982	0.982	0.982	0.988	0.982	—					
TN111-2	0.948	0.954	0.954	0.960	0.960	0.954	0.943	0.943	0.954	0.948	0.943	0.948	—				
Mlu	0.960	0.943	0.943	0.948	0.948	0.954	0.954	0.954	0.954	0.948	0.954	0.948	0.965	—			
Mpe	0.977	0.960	0.960	0.965	0.965	0.971	0.971	0.971	0.971	0.965	0.971	0.965	0.948	0.971	—		
Mla	0.863	0.852	0.846	0.852	0.852	0.857	0.857	0.857	0.857	0.852	0.863	0.852	0.829	0.852	0.857	—	
Mly	0.846	0.835	0.835	0.835	0.835	0.840	0.840	0.840	0.840	0.835	0.846	0.835	0.823	0.857	0.852	0.875	—

MZ453092: Reference sequence of *Meretrix taiwanica*. TS: Tamsui, CH: Changhua, YL: Yunlin, CY: Chiayi, TN: Tainan. Mlu: *M. lusoria*, Mpe: *M. petechialis*, Mla: *M. lamarckii*, Mly: *M. lyrata*.

二、演化樹形圖分析

使用 Maximum likelihood 法進行演化樹形圖分析，在養殖文蛤的分析結果顯示，彰化、雲林、嘉義、臺南的樣品都與臺灣文蛤聚類在同一演化支 (clade)，除了臺南有 1 個樣品與麗文蛤聚類在相同的演化支 (Fig. 2)。在野外文蛤的分析結果顯示，淡水的樣本與臺灣文蛤聚類在同一演化支，龍門及金門的樣品則與韓國文蛤聚類在同一演化支 (Fig. 2)，樹形圖的結果與序列比對的結果相吻合。

三、臺灣文蛤單倍型及相關遺傳多樣性分析

檢視單倍型及相關遺傳多樣性分析，結果顯示，養殖文蛤有 15 種單倍型，有 17 個多型性位點 (s)，單倍型多樣性 (Hd) 為 0.752 ± 0.048 ，核苷酸多樣性 (π) 為 0.00313 ± 0.00053 、Tajima's D 檢測為 -1.62887 ($0.10 > p > 0.05$) (Table 4)；野外文蛤有 7 種單倍型，有 5 個 s，Hd 為 0.891 ± 0.074 ， π 為 0.00309 ± 0.00047 、Tajima's D 檢測為 -0.15873 。

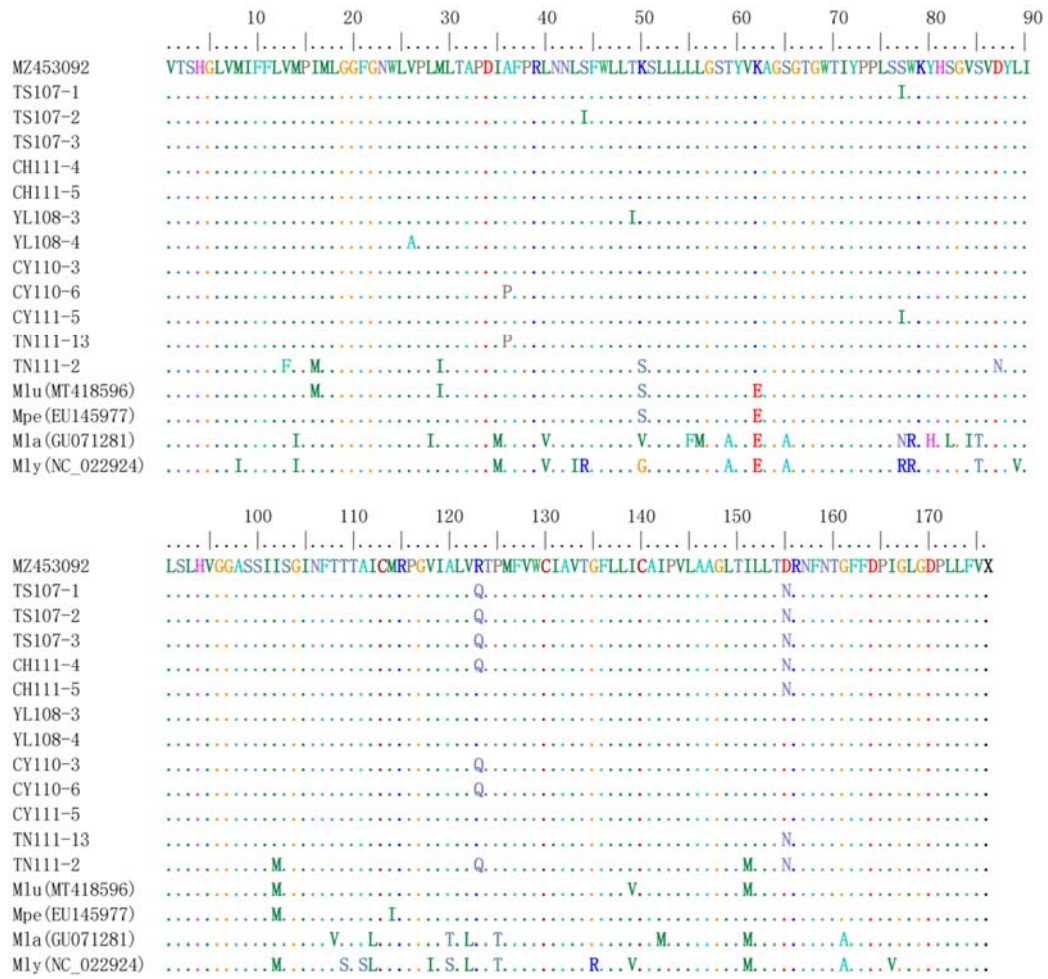


Fig. 1 Deduced amino acid sequence alignment of partial COI gene. MZ453092: Reference sequence of *Meretrix taiwanica*. TS: Tamsui, CH: Changhua, YL: Yunlin, CY: Chiayi, TN: Tainan. Mlu: *M. lusoria*, Mpe: *M. petechialis*, Mla: *M. lamarkii* and Mly: *M. lyrata*.

Table 4 COI gene genetic diversity of farmed and wild *Meretrix taiwanica* populations

	N	No. of haplotype (h)	No. of variable sites (s)	Haplotype diversity (Hd $\pm$ SD)	Nucleotide diversity ($\pi \pm$ SD)	Tajima's D
Farmed	63	15	17	0.752 $\pm$ 0.048	0.00313 $\pm$ 0.00053	-1.62887 ^a
Wild	11	7	5	0.891 $\pm$ 0.074	0.00309 $\pm$ 0.00047	-0.15873 ^b
All	74	21	21	0.816 $\pm$ 0.038	0.00388 $\pm$ 0.00050	-1.58493 ^a

SD: Standard deviation; ^aNo statistical significance if $0.10 > p > 0.05$; ^bNo statistical significance if $p > 0.10$

($p > 0.10$) (Table 4)。養殖文蛤和野外文蛤的 Hd 都大於 0.5，顯示者族群都保持基因多樣性良好的狀態，但 Tajima's D 檢測為負值，顯示有偏離中性假說的趨勢。

檢視單倍型網絡分析 (haplotype network analysis) 的結果，63 個臺灣文蛤樣品中有 21 個單倍型 (Fig. 3)，Hap8 是數量最多的單倍型，含有 29

個文蛤樣品，出現在彰化、雲林、嘉義及臺南，其次依序是 Hap16、Hap6、Hap15、Hap1 及 Hap10，分別含有 9 個、8 個、7 個、3 個及 3 個文蛤樣品。每個 haplotype 之間的差異不大，最大只有 3 個核苷酸的差異，各地區都有共有與獨有的單倍型，顯示彼此有一定程度的交流。

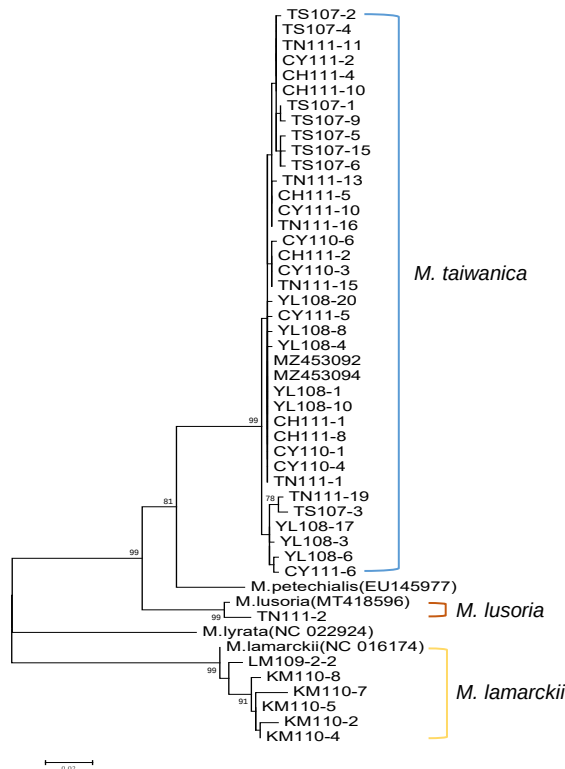


Fig. 2 Phylogenetic tree of the farmed and wild hard clams based on the COI gene DNA sequence. The tree was reconstructed using the maximum likelihood (ML) method in MEGA v.6 software based on the JC model. Bootstrap values (500 replications) greater than 75% are shown at the branch nodes. TS: Tamsui, YL: Yunlin, CH: Changhua, CY: Chiayi and TN: Tainan.

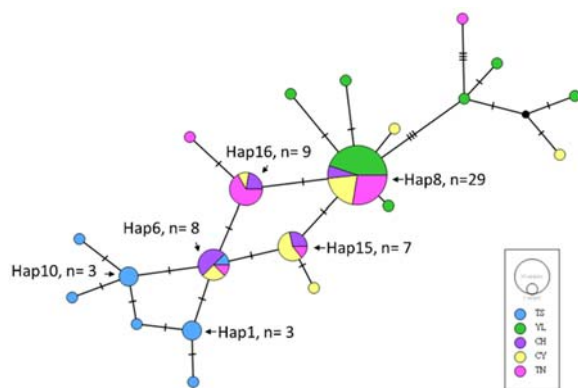


Fig. 3 The TCS haplotype network of *Meretrix taiwanica*. Blue: TS (Tamsui), Green: YL (Yunlin), Purple: CH (Changhua), Yellow: CY (Chiayi), Pink: TN (Tainan).

討 論

關於臺灣文蛤的種類問題，陸續有文獻使用不同的技術進行探討，透過同工異構酶 (allozymes) 的分析，提出臺灣的文蛤可能是麗文

蛤的姊妹種 (sibling species) 或是隱蔽種 (cryptic species) (Yamakawa *et al.*, 2008)。依據 COI 基因 PCR-RFLP 分析圖譜的結果，發現臺灣的文蛤 (Taiwanese *Meretrix*) 在序列的分析結果是與麗文蛤和中華文蛤有明顯的區別，但要將其鑑別成一個不同的物種是證據不足的 (Yamakawa and Imai, 2013)。近期的研究利用 COI 及 COII 基因序列進行分析，提出臺灣的養殖文蛤應該是獨立的種，不屬於麗文蛤、中華文蛤或其他文蛤物種 (宋, 2022)。一直到 Hsiao and Chuang (2023) 的研究克服了形態學上的困難，搭配 COI 基因的序列分析，確立了臺灣的淡水河口是臺灣文蛤的原產地，將其學名正式更名為 *M. taiwanica*，也提供了正確的基因序列資訊可進行分子鑑定。本研究使用前述所發表的 COI 基因序列進行比對鑑定，總共分析 86 個文蛤樣品，其中有 74 個屬於臺灣文蛤 (86%)、有 11 個屬於韓國文蛤 (12.8%) 及有 1 個屬於麗文蛤 (1.2%)，在養殖文蛤樣本的鑑定結果中，屬於臺灣文蛤有 62 個，屬於麗文蛤有 1 個，佔比分別為 98.4% 及 1.6%，顯示臺灣文蛤是養殖的主要種類。有研究使用 COI 及 CYTB 基因 DNA 序列分析，將養殖文蛤歸屬於中華文蛤的一個支系 (Huang *et al.*, 2020)，在本研究中則未發現有中華文蛤的存在，兩者的差異可能與使用不同的參考序列有關。在野外捕撈的文蛤樣品中，淡水的 11 個樣品都屬於臺灣文蛤，在養殖的文蛤則有額外發現麗文蛤，推測淡水河口地區的棲地環境不適合源自日本的麗文蛤，無法在野外的環境形成穩定的族群，而在人工養殖下，環境穩定且食物充足，有少數的麗文蛤適應存活了下來，然而單憑殼的外型難以分辨臺灣文蛤及麗文蛤，仍需利用分子鑑定的方式才能加以區分。

演化樹形圖的分析顯示出不同種類的文蛤可被區分在不同的演化支，且具有高 bootstrap value，彼此親緣關係較相近，分析的結果與先前研究相符 (Hsiao and Chuang, 2023)。在淡水、彰化、雲林、嘉義及臺南的文蛤樣品聚類在同一演化支，其中可觀察有不同的分群，而分群和地點的關聯並不明顯，這部分仍需進行更多的分析才能釐清。

單倍型 (haplotype) 是由 haploid 和 genotype 兩個名詞組合而成的，是指將親代遺傳給子代的變異 (variants) 或多型性 (polymorphisms) 進行分類，這些遺傳上的差異位在染色體上的一個區

域或片段 (Choudhury, 2022)，可藉由分析種內 haplotype 的組成及頻度來瞭解不同生物體之間的物種演化、親緣及族群結構等關係。在中華文蛤 (Zheng *et al.*, 2019)、韓國文蛤 (Feng *et al.*, 2020)、菲律賓簾蛤 (*Ruditapes philippinarum*) (Wei *et al.*, 2023) 及九孔 (*Haliotis diversicolor*) (Hsu and Gwo, 2017) 等研究顯示貝類具有高的單倍型多樣性 ($Hd > 0.5$)。本研究分析的臺灣文蛤中，63 個樣品中有 15 個單倍型 ($Hd = 0.752 \pm 0.048$)，野外捕撈的文蛤從 11 個樣品中分析出有 7 個 haplotype ($Hd = 0.891 \pm 0.074$) (Table 3)，顯示人工養殖和野外的臺灣文蛤都呈現高多樣性，與上述他貝類的研究結果相同，而高多樣性的原因可能與貝類族群數量大和核酸突變率高有關 (Hedgecock *et al.*, 2004; Launey and Hedgecock, 2001)。在泰國南部的泰國灣 (Gulf of Thailand) 及安達曼海 (Andaman Sea) 是皺肋文蛤的產區，研究發現因為過度的捕撈造成文蛤族群數量大量減少，亦導致單倍型多樣性出現明顯的過低 ($Hd: 0.029 - 0.263$) (Suppapan *et al.*, 2021)。

從單倍型網絡分析的結果顯示，在 63 個臺灣文蛤中有 21 個單倍型，其中屬於 Hap6、Hap8、Hap15、Hap16 這四種單倍型的文蛤有 53 個，顯示本研究中臺灣文蛤的個體明顯集中在這四種共通的單倍型，這說明了在 Tajima's D 檢測是呈現負值，具有偏離中性假說的趨勢，可能因為在人工養殖下，為了保持特定的經濟性狀，在繁殖子代的過程中受到人為的選育，因此每個單倍型出現的頻率和變異無法保持隨機，也因此造成現偏離中性假說的狀況。由 TCS 單倍型網絡分析結合各單倍型的數量與採集地點，可看出不同單倍型樣本數與地理分布的狀況，其中 Hap6 和 Hap8 出現在 4 個地點，Hap6 在新北淡水、彰化、雲林及臺南，Hap8 在彰化、雲林、嘉義及臺南、Hap15 和 Hap16 出現在彰化、嘉義及臺南，顯示各地區之間的單倍型雖有差異，但彼此間保有一定程度的交流。

結 論

隨著 DNA 分子鑑定技術的發展及穩定，成為種類鑑定的主要方式之一，許多不同的技術及目標基因可應用於文蛤的物種分子鑑定，除了分析技術與目標基因，分子鑑定的結果是否準確也

與資料庫中的參考序列是否正確息息相關。本研究以 COI 為目標基因對臺灣不同地區的文蛤進行分子鑑定，並使用最新發表的序列資料進行比對，總共分析 85 個樣品，鑑定結果顯示有 74 個樣品屬於臺灣文蛤、有 11 個樣品屬於韓國文蛤及 1 個樣品屬於麗文蛤，彰化、雲林、嘉義及臺南地區的養殖文蛤種類都是臺灣文蛤，只有臺南有發現到 1 個樣品屬於麗文蛤，顯示臺灣各地區主要養殖的文蛤種類是臺灣文蛤，不是麗文蛤或是中華文蛤。從多樣性分析的結果，養殖文蛤及野外文蛤的樣品都保持高的多樣性，顯示目前的慣行繁養殖的操作模式並未造成基因多樣性的明顯下降。然而，所觀測到單倍型出現集中的趨勢，後續可持續增加觀測的時間、樣品或目標基因，檢視其所造成可能的影響。本研究結果提供了更多的資訊協助後續臺灣文蛤的物種鑑定、族群遺傳及種原管理的研究使用。

謝 辭

本研究得以順利完成，承蒙本所海水養殖研究中心許晉榮主任協助提供臺灣水產雜誌史料文件及海洋漁業組蕭聖代副研究員協助提供淡水地區文蛤樣本材料，特此致謝。

參考文獻

- 宋嘉軒, 蕭聖代, 汪澤宏, 黃章文 (2022) 淡水河口臺灣產文蛤 (*Meretrix* spp.) 遺傳多樣性之研究. 臺灣水產學會111年度會員大會暨學術論文發表會, 國立嘉義大學, 嘉義, 臺灣, 301.
- 黃慶輝, 蕭聖代, 宋嘉軒 (2019) 文蛤之分類、分布及形態構造. 水產試驗所特刊第26號-文蛤科學化養殖, 行政院農業委員會水產試驗所編印, 基隆, 臺灣, 1-4.
- 漁業署 (2002) 中華民國臺閩地區漁業統計年報. 農業部漁業署, 臺北.
- 臺灣水產雜誌 (1921) 種貝運輸大成功. 臺灣水產協會編印, 臺北, 臺灣, 62: 46-47.
- Choudhury, S. R. (2022) Haplotype. In Encyclopedia of Animal Cognition and Behavior (J. Vonk and T. K. Shackelford eds.). Springer, Int. Publ., 3045-3047.
- Clement, M., D. Posada and K. A. Crandall (2000) TCS: A computer program to estimate gene genealogies. Mol. Ecol., 9(10): 1657-1659.

- Feng, J., X. Wen, Y. Guo, Y. Ye, J. Li and B. Guo (2020) Genetic diversity and population structure of five *Meretrix lamarckii* populations along the southeast China Sea. *Pak. J. Zool.*, 52(4): 1415-1422.
- Folmer, O., M. Black, W. Hoeh, R. Lutz and R. Vrijenhoek (1994) DNA primers for amplification of mitochondrial cytochrome c oxidase subunit I from diverse metazoan invertebrates. *Mol. Mar. Biol. Biotechnol.*, 3(5): 294-299.
- Hall, T. A. (1999) BioEdit: A user-friendly biological sequence alignment editor and analysis program for Windows95/98/NT. *Nucleic Acids Symp. Ser.*, 41(2): 95-98.
- Hedgecock, D., G. Li, S. Hubert, K. Bucklin and V. Ribes (2004) Widespread null alleles and poor cross-species amplification of microsatellite DNA loci cloned from the Pacific oyster, *Crassostrea gigas*. *J. Shellfish Res.*, 23: 379-385.
- Hsiao, S. T. and S. C. Chuang (2023) *Meretrix taiwanica* (Bivalvia: Veneridae): a previously misidentified new species in Taiwan. *Molluscan Res.*, 43(1): 12-21.
- Hsu, T. H. and J. C. Gwo (2017) Genetic diversity and stock identification of small abalone (*Haliotis diversicolor*) in Taiwan and Japan. *PLoS ONE*, 12(6): e0179818.
- Huang, H. T., C. N. Pao, T. Y. Liao and L. L. Liu (2020) Low genetic diversity of cultivated spotted hard clam (*Meretrix petechialis*) in Taiwan. *Aquaculture Res.*, 51(7): 2962-2972.
- Launey, S. and D. Hedgecock (2001) High Genetic Load in the Pacific Oyster *Crassostrea gigas*. *Genetics*, 159(1): 255-265.
- Leigh, J. W. and D. Bryant (2015) popart: Full-feature software for haplotype network construction. *Methods Ecol. Evol.*, 6(9): 1110-1116.
- Librado, P. and J. Rozas (2009) DnaSP v5: A software for comprehensive analysis of DNA polymorphism data. *Bioinformatics*, 25(11): 1451-1452.
- Ren, J., X. Shen, M. Sun, F. Jiang, Y. Yu, Z. Chi and B. Liu (2009) The complete mitochondrial genome of the clam *Meretrix petechialis* (Mollusca: Bivalvia: Veneridae) Mitochondrial DNA, 20(4): 78-87.
- Sung, C. H., S. T. Hsiao, L. J. Wang, Y. Henmi and C. W. Huang (2020) The complete mitochondrial genome of *Meretrix lusoria* (Bivalvia: Veneroida: Veneridae) from Kumamoto, Japan. *Mitochondrial DNA B Resour.*, 5(3): 2451-2453.
- Sung, C. H., L. J. Wang and C. W. Huang (2023) Rapid species identification of *Meretrix lusoria* and three other *Meretrix* clams using PCR and RFLP analysis of the mitochondrial COII gene. *J. Mar. Sci. Technol.*, 31(3): 226-235.
- Suppapan, J., P. Sangthong, A. Songrak and V. Supmee (2021) Population genetic structure of hard clam (*Meretrix lyrata*) along the Southern coast of Thailand. *Biodiversitas*, 22(5): 2477-2488.
- Tamura, K., G. Stecher, D. Peterson, A. Filipski and S. Kumar (2013) MEGA6: Molecular Evolutionary Genetics Analysis version 6.0. *Mol. Biol. Evol.*, 30(12): 2725-2729.
- Wang, H., S. Zhang, G. Xiao and B. Liu (2011) Complete mtDNA of the *Meretrix lamarckii* (Bivalvia: Veneridae) and molecular identification of suspected *M. lamarckii* based on the whole mitochondrial genome. *Mar. Genomics*, 4(4): 263-271.
- Wei, D., S. Zheng, S. Wang, J. Yan, Z. Liu, L. Zhou, B. Wu and X. Sun (2023) Genetic and haplotype diversity of Manila Clam *Ruditapes philippinarum* in different regions of China based on three molecular markers. *Animals*, 13(18): Article 18.
- Wen, J., L. Zeng, X. Xiong, Y. Xu, Y. Sun, Z. Chen, D. Chen, J. Zhao, L. Xu and Y. Li (2018) Species identification of dried shellfish (oyster, clam and mussel) products sold on the Chinese market. *Food Control*, 90: 199-204.
- Wu, X., S. Xiao, X. Li, L. Li, W. Shi and Z. Yu (2014) Evolution of the tRNA gene family in mitochondrial genomes of five *Meretrix* clams (Bivalvia, Veneridae) *Gene*, 533(1): 439-446.
- Yamakawa, A. Y. and H. Imai (2013) PCR-RFLP typing reveals a new invasion of Taiwanese *Meretrix* (Bivalvia: Veneridae) to Japan. *Aquat. Invasions*, 8(4): 407-415.
- Yamakawa, A. Y., M. Yamaguchi and H. Imai (2008) Genetic Relationships among Species of *Meretrix* (Mollusca: Veneridae) in the Western Pacific Ocean. *Pac. Sci.*, 62(3): 385-394.
- Zheng, J. H., H. T. Nie, F. Yang and X. W. Yan (2019) Genetic variation and population structure of different geographical populations of *Meretrix petechialis* based on mitochondrial gene COI. *J. Genet.*, 98: 68.

Molecular Identification of Hard Clam Species in Taiwan

Chia-Hsuan Sung^{1,2}, Hsin-Chueh Ho², Chai-Hsia Gan², Liang-Jong Wang³ and
Chang-Wen Huang^{1*}

¹Department of Aquaculture, National Taiwan Ocean University.

²Technical Service Division, Fisheries Research Institute

³Forest Protection Division, Taiwan Forestry Research Institute

ABSTRACT

Hard clams are important farmed bivalves in Taiwan. They belong to the phylum Mollusca, class Bivalvia, order Veneroida, and family Veneridae. *Meretrix lusoria* has been perceived as the predominant hard clam species in Taiwan. This study aimed to conduct molecular identification of hard clams from different regions in Taiwan, using the COI gene as the target region. A total of 85 samples were analyzed, with results showing that 74 samples belonged to *M. taiwanica*, 11 samples belonged to *M. lamarckii*, and one sample belonged to *M. lusoria*. In Changhua, Yunlin, Chiayi, and Tainan, the farmed hard clam species were all identified as *M. taiwanica*, except for one *M. lusoria* found in Tainan. This indicates that the primary farmed species of Taiwanese hard clam were *M. taiwanica* rather than *M. lusoria* or *M. petechialis*. The hard clams collected from Tamsui were identified as *M. taiwanica*, while samples from Kinmen and Longmen were identified as *M. lamarckii*. The haplotype diversity analysis showed that both farmed ($Hd = 0.752 \pm 0.048$) and wild hard clams ($Hd = 0.891 \pm 0.074$) exhibited a high level of genetic diversity. The haplotype network analysis identified 21 haplotypes among the 63 samples of Taiwanese hard clam. There were four common haplotypes, and haplotypes from different regions maintained the gene flow. This study provides more information on Taiwanese hard clam for future species identification, population genetics, and germplasm management.

Key words: *Meretrix taiwanica*, *Meretrix lusoria*, genetic diversity

*Correspondence: 2 Pei-Ning Road, Keelung 202, Taiwan. TEL: (02) 2462-2192 ext. 5238; E-mail: cw Huang@mail.ntou.edu.tw

以物種專一性引子建立四絲馬鮫與多鱗四絲馬鮫物種鑑定技術

蘇義哲¹ · 李彥宏^{1*} · 何宜慶² · 吳豐成¹

¹農業部水產試驗所東港養殖研究中心

²國立高雄科技大學水產養殖系暨研究所

摘 要

午仔魚中的兩個物種，四絲馬鮫 (*Eleutheronema tetradactylum*) 與多鱗四絲馬鮫 (*E. rhadinum*) 是沿近海漁業及養殖漁業的重要經濟性物種。四絲馬鮫與多鱗四絲馬鮫鑑別特徵主要是藉由側線鱗片數量進行區分，但外觀上仍不易分辨，而魚卵、魚苗及水產加工品更無法藉由外觀進行鑑定，雖然基因定序可以區分兩物種，但時間及成本的花費高。本研究旨在根據四絲馬鮫與多鱗四絲馬鮫細胞色素 c 氧化酶 I (cytochrome c oxidase I, COI) 基因序列上的差異，建立物種專一性引子 (species-specific primer) 技術，依聚合酶連鎖反應 (polymerase chain reaction, PCR) 擴增片段的大小不同，即能快速準確鑑定物種。結果顯示物種專一性引子的物種鑑定結果與外觀鑑定及基因定序結果一致，證實物種專一性引子能夠快速準確的鑑定此兩物種。本研究採集之臺灣周邊海域野外午仔魚樣品為多鱗四絲馬鮫，而養殖場取得午仔魚、魚卵及魚苗樣品為四絲馬鮫。無論是基礎研究、種原保存或現場應用皆需快速且準確的檢測方法來進行物種鑑定，本研究將有助於四絲馬鮫屬 (*Eleutheronema*) 魚類的遺傳背景研究、物種資源保護及午仔魚的養殖產業開發。

關鍵詞：四絲馬鮫、多鱗四絲馬鮫、物種專一性引子、物種鑑定、細胞色素 c 氧化酶 I

前 言

四絲馬鮫屬 (*Eleutheronema*) 魚類具有較大鹽度的耐受力，通常存在於河口和河流，以及淺沙或泥灘上的主要沿海海洋棲息地 (Motomura, 2004)，是沿海和近海小型漁業及養殖漁業的重要商業物種，為高經濟價值魚類 (Binh *et al.*, 2019; Su *et al.*, 2020)，2022 年臺灣馬鮫科魚類生產量約為 12,588 mt，產值約為新臺幣 19 億元 (漁業年報, 2022)。午仔魚大都以生鮮、冷凍、乾燥或鹹魚等商品形式銷售，相較於其他馬鮫種類，因四絲馬鮫體型較大且易受過度捕撈和水質污染影響，四絲馬鮫在熱帶印度-西太平洋範圍內數量迅速減少，已被國際自然保護聯盟 (International Union for Conservation of Nature, IUCN) 列為瀕危物種 (Motomura *et al.*, 2015)。四絲馬鮫屬包含四絲馬鮫 (*Eleutheronema tetradactylum*)、多鱗四

絲馬鮫 (*E. rhadinum*)、三絲馬鮫 (*E. tridactylum*) 等三個物種 (Motomura *et al.*, 2002)，根據測定魚體之測量形質、計數形質及外部形態特徵，可區分三絲馬鮫與其他兩者，但四絲馬鮫與多鱗四絲馬鮫外觀非常接近且不易區分。Bleeker (1862) 最早將其鱗片數多寡、有無犁骨齒板等作為區分四絲馬鮫屬物種的形態特徵，並對四絲馬鮫屬魚類進行分類鑑定 (Motomura, 2004)。文獻指出四絲馬鮫與多鱗四絲馬鮫可透過胸鰭顏色或側線的鱗片數目進行物種區分，四絲馬鮫側線的鱗片數目為 71 – 80 片之間，多鱗四絲馬鮫側線的鱗片數目為 82 – 95 片之間 (Motomura *et al.*, 2002)，或是透過傳統形態學與測量形質數據來區分 (趙等, 2016)，亦可藉由耳石分析微量元素的比率來鑑別野外捕獲或養殖的午仔魚 (Su *et al.*, 2022)。

四絲馬鮫與多鱗四絲馬鮫的棲息區域略有差異，四絲馬鮫多分布於緯度較低區域，印度-西太平洋：波斯灣至巴布亞新幾內亞和澳大利亞北部，多鱗四絲馬鮫多分布於緯度較高區域，日本至南中國海，包括日本、臺灣、中國及越南等沿海 (Motomura *et al.*, 2002; Motomura, 2004)。適合四絲

* 通訊作者 / 屏東縣東港鎮豐漁街 67 號; TEL: (08)8324121 轉 285; FAX: (08)8320234; E-mail: yhlee@mail.tfrin.gov.tw

馬鮫生長的溫度為 25.2 – 29.3°C，而適合多鱗四絲馬鮫生長的溫度為 20.4 – 26.9°C (Froese and Pauly, 2024)，因此四絲馬鮫與多鱗四絲馬鮫對環境溫度的耐受性或許有差異。過去文獻中均提到臺灣午仔魚養殖的物種為四絲馬鮫，且以南部地區為主要養殖場域；臺灣新竹外海海域捕獲的野生午仔魚物種大都為多鱗四絲馬鮫 (Su *et al.*, 2020; Su *et al.*, 2022)。因高緯度地區養殖漁業的發展需求，加上目前在越南已有多鱗四絲馬鮫的相關養殖紀錄 (Binh *et al.*, 2019)，多鱗四絲馬鮫可望成為具潛力的養殖開發物種。

四絲馬鮫 (Atikah *et al.*, 2020; Lakra *et al.*, 2011) 與多鱗四絲馬鮫 (Atikah *et al.*, 2020; Thu *et al.*, 2019) 的粒線體 DNA (mitochondrial DNA, mtDNA) 上的細胞色素 c 氧化酶 I (cytochrome c oxidase I, COI) 基因序列，已隨著基因定序技術的進步而完全解開。許多文獻利用的 COI 基因 (Xiao *et al.*, 2022; Atikah *et al.*, 2020) 或細胞色素 b (Cytochrome b, CYTB) 基因 (Wang *et al.*, 2014) 的序列差異來鑑定四絲馬鮫與多鱗四絲馬鮫物種及其親緣關係，雖然基因定序方法能區分此兩物種，但時間及成本的花費較高。利用聚合酶連鎖反應 (polymerase chain reaction, PCR) 進行午仔魚物種鑑定的方法，則有楊等 (2019) 設計四絲馬鮫與多鱗四絲馬鮫特異序列擴增 (sequence characterized amplified region, SCAR) 標誌，依據 PCR 產物生成有無進行物種鑑別，四絲馬鮫有產物生成，而多鱗四絲馬鮫則無。

許多應用於物種鑑定的分子技術已完整開發，包括限制性片段長度多態性 (restriction fragment length polymorphism, RFLP) (Kumar *et al.*, 2014)、隨機擴增多態性 DNA (random amplified polymorphic DNA, RAPD) (Yang and Quiros, 1993)、多重聚合酶連鎖反應 (Multiplex Polymerase Chain Reaction, Multiplex PCR) (Ali *et al.*, 2014)、次世代定序 (next-generation sequencing, NGS) (Goodwin *et al.*, 2016)，和物種專一性引子 (species-specific primer) (Dong *et al.*, 2019; Varadinová *et al.*, 2015)。物種專一性引子方法因聚合酶連鎖反應的高專一性和便利性，而成為物種鑑定常用的一種檢測方法，例如：細菌 (Matsuki *et al.*, 1999)、酵母菌 (Muir *et al.*, 2011)、線蟲 (AL-Banna *et al.*, 2004)、

嚙蟲目昆蟲 (Psocoptera) (Zhao *et al.*, 2016)、河豚 (*Takifugu* spp.) (Dong *et al.*, 2019) 等。

從養殖物種的選擇、野生或養殖午仔魚的判別及水產加工品等，皆需快速準確的午仔魚物種鑑定檢測方法，因此開發午仔魚物種快速鑑定技術為必要之務。本研究之物種專一性引子以 COI 基因序列上的鹼基差異進行設計，物種專一性引子與四絲馬鮫與多鱗四絲馬鮫的 DNA 樣品，分別擴增大小不同的 PCR 產物，進而能夠快速準確地鑑別出四絲馬鮫與多鱗四絲馬鮫，此技術將有助於午仔魚的遺傳背景研究、物種資源保護及午仔魚的養殖產業開發。

材料與方法

一、樣品取得、外觀鑑定與 DNA 抽取

本研究從臺灣周遭海域採集野生午仔魚樣品 53 尾 (Fig. 1A)，從養殖場取得養殖午仔魚樣品 19 尾 (Fig. 1B)，皆為黑色胸鰭午仔魚樣品，另自漁市場取得黃色胸鰭午仔魚樣品 4 尾 (Fig. 1C)，大小介於 30 – 33 cm 之間，魚卵則取自水產試驗所東港養殖研究中心 (Fig. 1D)，午仔魚魚苗樣品 20 尾從屏東四間午仔魚種苗場取得 (Fig. 1E)，尖吻鱸 3 尾 (*Lates calcarifer*) 及六絲馬鮫 3 尾 (*Polydactylus sexfilis*)，取得樣品後，分別進行編號、拍照記錄外觀，魚鰭、肌肉組織採樣、魚苗及魚卵儲存於 99% 酒精中，於 -20°C 保存，以備後續分析使用。

外觀形態物種鑑定則透過魚側線鱗片數目等形態學進行物種鑑定，四絲馬鮫側線的鱗片數為 71 – 80 片，多鱗四絲馬鮫側線的鱗片數為 82 – 95 片之間 (Motomura *et al.*, 2002)，且本研究樣本皆可分別落於各數據範圍之內。粒線體 DNA 的萃取則參照動物組織抽取套組 (taco™ DNA/RNA Extraction Kit) 之萃取方法進行，經萃取後的 DNA 樣品保存於 -80°C 冰箱，以備後續實驗使用。

二、粒線體 DNA COI 基因序列分析

根據文獻 (Xiao *et al.*, 2022) 中所提到之四絲馬鮫 COI 基因序列 (accession number: MG816119-28, EF609512-13, MG923346-50) 與多鱗四絲馬鮫

COI 基因序列 (accession number: MG816129-38, MK777485)，從美國國家生物技術資訊中心 (National Center for Biotechnology Information, NCBI) (Madden *et al.*, 1996) 基因資料庫中下載 COI 基因序列，並利用歐洲生物資訊研究所 (European Bioinformatics Institute, EBI) 歐洲分子生物學實驗室 (European Molecular Biology Laboratory, EMBL) 網站的多重序列比對軟體 (multiple sequence alignment, MSA) (Kanz *et al.*, 2005) 進行比對，進行四絲馬鮫與多鱗四絲馬鮫 COI 基因序列上的差異分析 (Fig. 2)。

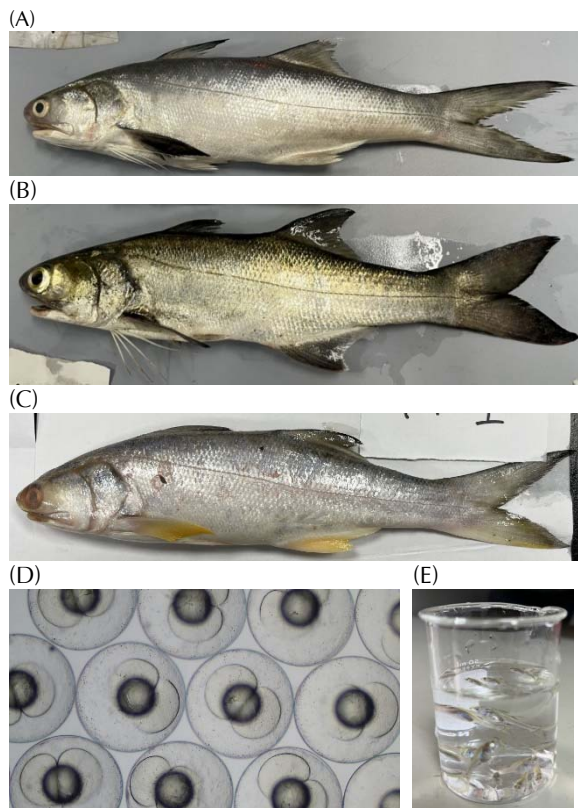


Fig. 1 Samples of this study: *Eleutheronema rhadinum* (A) and *E. tetradactylum* (B) with black pectoral fins. Fourfinger threadfin (C), roe (D), and fry (E) with yellow pectoral fins.

三、DNA COI 基因引子設計

四絲馬鮫與多鱗四絲馬鮫粒線體 DNA COI 基因序列經 MSA 軟體比對，根據在 COI 基因序列上鹼基相同的區域，設計了四絲馬鮫及多鱗四絲馬鮫 COI 基因共用引子一組 (ERET COI F primer: 5'-GGCGTTAACCCGCGCTTTTATAGATTTC-3' 及

ERET COI R primer: 5'-GGTTTAACCCGCGAT TTCACCTTGAC-3')(Table 1)。四絲馬鮫與多鱗四絲馬鮫 ERET COI 引子委由生技公司 (基龍米克斯) 進行商業合成。

四、物種專一性引子設計

四絲馬鮫與多鱗四絲馬鮫 COI 基因序列經 MSA 軟體比對，根據物種間基因序列上的鹼基差異進行引子設計，共設計了 ERET 1 及 ERET 2 兩組引子，每組物種專一性引子中包含了三條引子，針對四絲馬鮫與多鱗四絲馬鮫基因鹼基上的差異，設計兩條正向物種專一性引子，以及序列一致區域設計一條共用的反向引子 (Fig. 3)，將此三條引子為一組合，一同進行 PCR 反應。ERET 1 物種專一性引子序列為：ET 1 F primer: 5'-TGACTC CTCCCCCTTCCTTCTTACTC-3'、ER 1 F primer: 5'-TCTATCTAATCTTTGGGGCATGAGCTGGG-3'、ERET 1 R primer: 5'-GCGTGGGCAAGGTTT CCTGCTAAAGG-3'；ERET 2 物種專一性引子序列為：ET 2 F primer: 5'-CCTAGTCACGGCCGTA TTAATTCTTCTA-3'、ER 2 F primer: 5'-TGACTCC TCCCGCCCTCTTTCTTTCTT-3'、ERET 2 R primer: 5'-CCTCTGGGTGACCAAAGAATCAGAATA-3' (Table 1)，透過膠體電泳檢測，根據 PCR 產物的大小不同進而區分四絲馬鮫與多鱗四絲馬鮫，物種專一性引子委由生技公司 (基龍米克斯) 進行商業合成。

五、PCR 條件及膠體電泳

粒線體 DNA COI 的 PCR 條件為分別取 10 μ L 的 Master Mix (KAPA KK1024 KAPA Taq Ready Mix, Merck) 及 10 μ L 去離子水，再加入 ERET COI 引子各 1 μ L，最後再加入 1 μ L 的 DNA 樣本至 PCR 反應管內 (約 23 μ L)。將上述 PCR 反應管置於 PCR 儀器中設定升降溫程序。PCR 循環包括在 94°C 下加熱 5 分鐘的起始步驟，隨後依 95°C 加熱 30 秒、59°C 加熱 30 秒、72°C 加熱 1 分 30 秒此循環，經 35 個循環後，最後在 72°C 下加熱 7 分鐘。

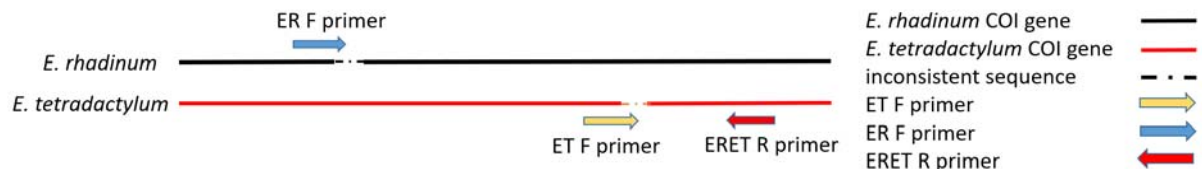
ERET 1 及 ERET 2 物種專一性引子的 PCR 條件為分別取 10 μ L 的 Master Mix (KAPA

Table 1 The primers of this study

Primer	5'-----3'	Primer size (mer)	Annealing temperature (°C)	Product size (bp)
ERET COI F	GGCGTTAACCCGCGCTTTTAGATTTC	27	59	1800
ERET COI R	GGTTTAACCCGCGATTTCACCTTGAC	26		
ET 1 F	TGACTCCTCCCCCTTCCTTCTTACTC	27	61	110
ER 1 F	TCTATCTAATCTTTGGGGCATGAGCTGGG	29		364
ERET 1 R	GCGTGGGCAAGGTTTCCTGCTAAAGG	26		
ET 2 F	CCTAGTCACGGCCGTATTACTTCTTCTA	28	61	164
ER 2 F	TGACTCCTCCCGCCCTCTTTCTTCTT	27		421
ERET 2 R	CCTCTGGGTGACCAAAGAATCAGAATA	27		

Fig. 2 Partial mtDNA COI gene sequences of *E. tetradactylum* and *E. rhadinum* in multiple sequence alignments. An asterisk (*) indicates a consistent base. Accession numbers MG816119-28, EF609512-13, and MG923346-50 are mitochondrion COI gene sequences of *E. tetradactylum*, accession numbers MG816129-38, and MK777485 are mitochondrion COI gene sequences of *E. rhadinum*.

ET-MG816125.1	TTTCCCGCATAAACAACATGAGTTTCTGACTCCTCCCCCTTCCTTCTTACTCCTCCTA
ET-MG816125.1	TTTCCCGCATAAACAACATGAGTTTCTGACTCCTCCCCCTTCCTTCTTACTCCTCCTA
ET-MG816120.1	TTTCCCGCATAAACAACATGAGTTTCTGACTCCTCCCCCTTCCTTCTTACTCCTCCTA
ET-MG816121.1	TTTCCCGCATAAACAACATGAGTTTCTGACTCCTCCCCCTTCCTTCTTACTCCTCCTA
ET-MG816122.1	TTTCCCGCATAAACAACATGAGTTTCTGACTCCTCCCCCTTCCTTCTTACTCCTCCTA
ET-MG816123.1	TTTCCCGCATAAACAACATGAGTTTCTGACTCCTCCCCCTTCCTTCTTACTCCTCCTA
ET-MG816124.1	TTTCCCGCATAAACAACATGAGTTTCTGACTCCTCCCCCTTCCTTCTTACTCCTCCTA
ET-MG816126.1	TTTCCCGCATAAACAACATGAGTTTCTGACTCCTCCCCCTTCCTTCTTACTCCTCCTA
ET-MG816128.1	TTTCCCGCATAAACAACATGAGTTTCTGACTCCTCCCCCTTCCTTCTTACTCCTCCTA
ET-MG923346.1	TTTCCCGCATAAACAACATGAGTTTCTGACTCCTCCCCCTTCCTTCTTACTCCTCCTA
ET-MG923348.1	TTTCCCGCATAAACAACATGAGTTTCTGACTCCTCCCCCTTCCTTCTTACTCCTCCTA
ET-MG923349.1	TTTCCCGCATAAACAACATGAGTTTCTGACTCCTCCCCCTTCCTTCTTACTCCTCCTA
ET-MG923350.1	TTTCCCGCATAAACAACATGAGTTTCTGACTCCTCCCCCTTCCTTCTTACTCCTCCTA
ET-MG923347.1	TTTCCCGCATAAACAACATGAGTTTCTGACTCCTCCCCCTTCCTTCTTACTCCTCCTA
ET-MG816119.1	TTTCCCGCATAAACAACATGAGTTTCTGACTCCTCCCCCTTCCTTCTTACTCCTCCTA
ET-MG816127.1	TTTCCCGCATAAACAACATGAGTTTCTGACTCCTCCCCCTTCCTTCTTACTCCTCCTA
ET-EF609512.1	TTTCCCGCATAAACAACATGAGTTTCTGACTCCTCCCCCTTCCTTCTTACTCCTCCTA
ET-EF609513.1	TTTCCCGCATAAACAACATGAGTTTCTGACTCCTCCCCCTTCCTTCTTACTCCTCCTA
ER-MK777485.1	TTTCTCGAATGAATAACATGAGTTTCTGACTCCTCCCCCTTCCTTCTTCTCCTA
ER-MG816134.1	TTCCCTCGAATGAATAACATAAGCTTTTGACTCCTCCACCCCTCTTCTTCTTCTCCTA
ER-MG816138.1	TTCCCTCGAATGAATAACATAAGCTTTTGACTCCTCCACCCCTCTTCTTCTTCTCCTA
ER-MG816130.1	TTCCCTCGAATGAATAACATAAGCTTTTGACTCCTCCACCCCTCTTCTTCTTCTCCTA
ER-MG816133.1	TTCCCTCGAATGAATAACATAAGCTTTTGACTCCTCCACCCCTCTTCTTCTTCTCCTA
ER-MG816135.1	TTCCCTCGAATGAATAACATAAGCTTTTGACTCCTCCACCCCTCTTCTTCTTCTCCTA
ER-MG816131.1	TTCCCTCGAATGAATAACATAAGCTTTTGACTCCTCCACCCCTCTTCTTCTTCTCCTA
ER-MG816132.1	TTCCCTCGAATGAATAACATAAGCTTTTGACTCCTCCACCCCTCTTCTTCTTCTCCTA
ER-MG816136.1	TTCCCTCGAATGAATAACATAAGCTTTTGACTCCTCCACCCCTCTTCTTCTTCTCCTA
ER-MG816137.1	TTCCCTCGAATGAATAACATAAGCTTTTGACTCCTCCACCCCTCTTCTTCTTCTCCTA
ER-MG816129.1	TTCCCTCGAATGAATAACATAAGCTTTTGACTCCTCCACCCCTCTTCTTCTTCTCCTA

**Fig. 3** Schematic of ERET 1 and ERET 2 species-specific primer designs.

KK1024 KAPA Taq Ready Mix, Merck) 及 10 μ L 去離子水, 再加入 ERET 物種專一性引子各 1 μ L, 最後加入 1 μ L 的 DNA 樣本至 PCR 反應管內 (約 24 μ L)。將上述 PCR 反應管置於 PCR 儀器中設定升降溫程序。PCR 升降溫程序包括在 94°C 下加熱

5 分鐘的起始步驟, 隨後依 95°C 加熱 30 秒、61°C 加熱 30 秒、72°C 加熱 30 秒此循環, 經 35 個循環後, 最後在 72°C 下加熱 7 分鐘。

配置 1.5% 濃度的電泳膠體, 將 PCR 產物樣本添加 DNA 染劑 (DNA VIEW TT-DNA01, 圖爾

思生技公司) 注入電泳膠體孔槽中, 以 100 bp DNA ladder (DM001-R500, GeneDireX™) 為對照, 以電壓 100 V 進行電泳 20 分鐘, 再將膠體放置於紫外光燈箱中, 以相機拍攝 DNA 條帶。

六、基因定序及分析

分別將所擴增的 PCR 產物從電泳膠體切出後, 委由生技公司 (基龍米克斯) 進行基因定序, 採用 Chromas 軟體查看序列峰形圖及編輯, 利用 NCBI BLAST (Basic Local Alignment Search Tool, BLAST) 比對軟體, 將定序結果與 NCBI 基因資料庫進行序列比對。

結果與討論

四絲馬鮫大都洄游在熱帶區域, 多鱗四絲馬鮫主要在亞熱帶至溫帶地區 (Motomura *et al.*, 2002; Motomura, 2004), 四絲馬鮫與多鱗四絲馬鮫適合的環境溫度不同 (Froese and Pauly, 2024)。目前臺灣午仔魚養殖物種為適合熱帶區域之四絲馬鮫, 大都在臺南以南的地區戶外養殖, 以減少冬季寒流所帶來的影響, 為因應高緯度地區養殖漁業的發展需求, 適合亞熱帶至溫帶地區生長的多鱗四絲馬鮫, 可望成為高緯度地區的養殖開發物種, 目前多鱗四絲馬鮫在越南已有相關的養殖紀錄 (Binh *et al.*, 2019), 當臺灣也進行多鱗四絲馬鮫養殖, 屆時午仔魚物種鑑定需求也會隨之增加。四絲馬鮫與多鱗四絲馬鮫主要的鑑別特徵是藉由側線鱗片數量進行區分, 但實務上仍不易分辨, 而魚卵、魚苗及生鮮加工品更是無法藉由外觀進行鑑定, 雖然基因定序可以區分, 但花費的時間及成本較高, 為避免放養錯誤的午仔魚物種, 造成經濟上的損失, 本研究藉由物種專一性引子的特異性, 建立快速鑑定午仔魚物種的方法。

首先依據四絲馬鮫側線的鱗片數 (多為 71 – 80 片), 多鱗四絲馬鮫側線的鱗片數 (為 82 – 95 片) (Motomura *et al.*, 2002) 及其他特徵等外觀形態學進行物種鑑定, 確認本研究採集之午仔魚樣品 (Fig. 1A, B) 分別為多鱗四絲馬鮫與四絲馬鮫。

依據文獻所引用之四絲馬鮫 COI 基因序列 (accession number: MG816119-28, EF609512-13,

MG923346-50) 與多鱗四絲馬鮫 COI 基因序列 (accession number: MG816129-38, MK777485) (Xiao *et al.*, 2022), 利用多重序列比對軟體進行種內與種間的基因相似度分析, 結果顯示種內的基因相似度約為 95% 以上, 而種間基因相似度則約為 86% 左右。本研究根據四絲馬鮫與多鱗四絲馬鮫的 COI 基因之保守序列 (conserved sequences) (Fig. 2) 設計共用 ERET COI 引子 (Table 1), 四絲馬鮫與多鱗四絲馬鮫分別經 ERET COI 引子所擴增之基因片段全長約為 1,800 bp (Fig. 4)。經基因定序比對後, 四絲馬鮫樣品之 PCR 產物與四絲馬鮫 COI 基因序列 (accession number: MG816119.1) 比對, 相似度達 100% (Fig. 5A), 而與多鱗四絲馬鮫基因序列 (accession number: MK777485.1) 比對, 相似度僅達 86.34%。多鱗四絲馬鮫樣品之 PCR 產物與多鱗四絲馬鮫 COI 基因序列 (accession number: MK777485.1) 比對, 相似度達 100% (Fig. 5B), 而與四絲馬鮫基因序列 (accession number: MG816119.1) 比對, 相似度僅達 86.51%, 本研究 COI 基因序列比對結果與外觀形態的物種鑑定結果一致, 再次確認樣品分別為四絲馬鮫與多鱗四絲馬鮫。

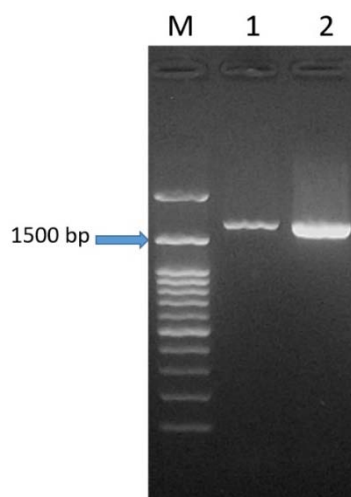


Fig. 4 PCR results of *E. rhadinum* and *E. tetradactylum* mtDNA COI gene. Lane M: 100 bp DNA ladder, Lane 1: *E. rhadinum* (1,800 bp), Lane 2: *E. tetradactylum* (1,800 bp).

物種專一性引子的設計, 以 Xiao *et al.* (2022) 中所提及之四絲馬鮫與多鱗四絲馬鮫 COI 基因序列, 進行序列比對後再以物種間的鹼基差異 (Fig. 2) 設計 ERET 1 及 ERET 2 這兩組物種專一性引

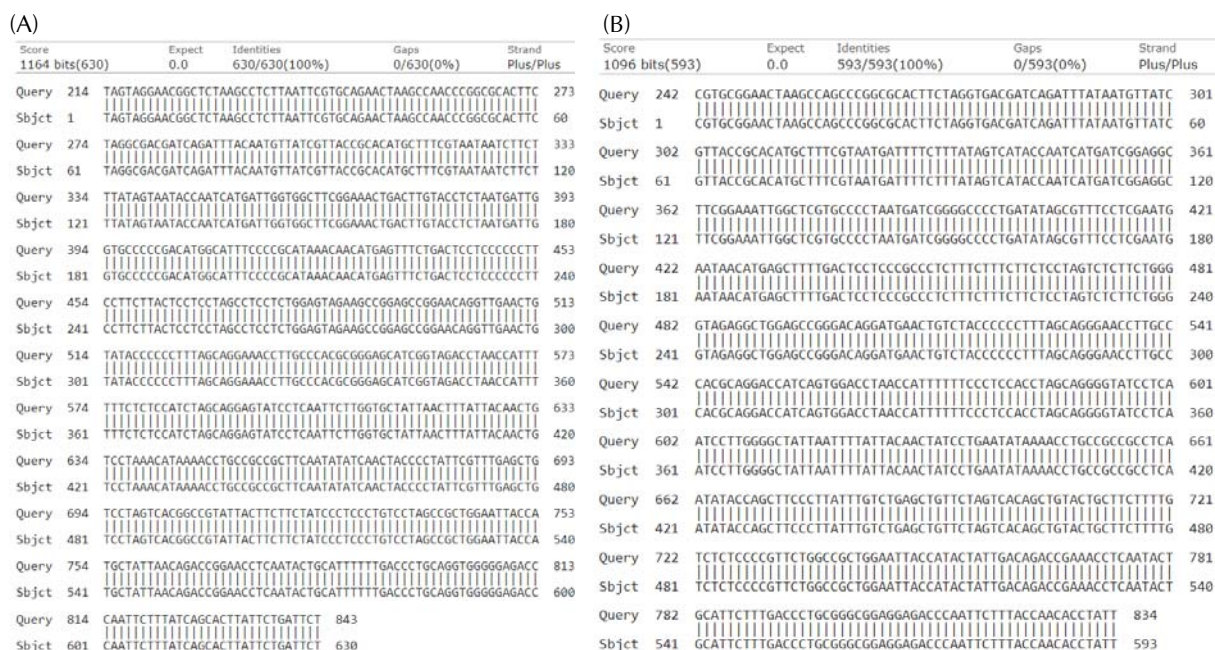


Fig. 5 (A) Sequence alignment results of *E. tetradactylum* PCR product with ERET COI primer expressed 100% identification with *E. tetradactylum* COI gene (accession number: MG816119.1). (B) Sequence alignment result of *E. rhadinum* PCR product with ERET COI primer expressed 100% identification with *E. rhadinum* COI gene (accession number: MK777485.1).

子 (Table 1)，因物種專一性引子的高專一性，ET 1 F 及 ET 2 F 引子只能與四絲馬鮫 DNA 樣品結合而生成 PCR 產物，無法與多鱗四絲馬鮫 DNA 結合，而 ER 1 F 及 ER 2 F 引子只與多鱗四絲馬鮫的 DNA 樣品結合而生成 PCR 產物，無法與四絲馬鮫 DNA 結合，且 ET 1 F & 2 F 與 ER 1 F & 2 F 引子設計與 DNA 模板結合的位置不同 (Fig. 3)，導致擴增的 PCR 產物大小不同進而鑑定物種，例如：使用 ERET 1 物種專一性引子進行物種鑑定，當檢測樣品 PCR 產物長度為 364 bp 時，則該檢測樣品物種為多鱗四絲馬鮫；而當檢測樣品 PCR 產物長度為 110 bp 時，該檢測樣品物種為四絲馬鮫 (Fig. 6A)。使用 ERET 2 物種專一性引子進行物種鑑別，當檢測樣品 PCR 產物長度為 421 bp 時，該檢測樣品物種為多鱗四絲馬鮫；而當檢測樣品 PCR 產物長度為 164 bp 時，該檢測樣品物種為四絲馬鮫 (Fig. 6B)，並可藉由兩組引子的鑑定結果交叉比對，避免誤判。

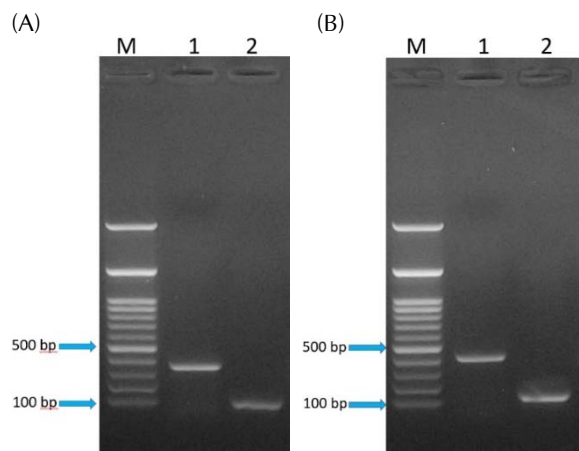


Fig. 6 Species identification results of species-specific primer ERET 1 and ERET 2. (A) Lane M: 100 bp ladder; Lane 1: 364 bp PCR product of *E. rhadinum* with ERET 1 primer; Lane 2: 110 bp PCR product of *E. tetradactylum* with ERET 1 primer. (B) Lane M: 100 bp ladder; Lane 1: 421 bp PCR product of *E. rhadinum* with ERET 2 primer; Lane 2: 164 bp PCR product of *E. tetradactylum* with ERET 2 primer.

將 ERET 1 及 ERET 2 所擴增 PCR 產物進行基因定序比對，結果顯示經 ERET 1 引子所擴增之四絲馬鮫 PCR 產物與四絲馬鮫基因序列 (accession number: EF609513.1) 比對相似度達 98% (Fig. 7A)，而與多鱗四絲馬鮫基因序列

(accession number: MK777485.1) 比對，比對結果則沒有發現特定的顯著相似性。經 ERET 1 引子所擴增之多鱗四絲馬鮫 PCR 產物與多鱗四絲馬鮫基因序列 (accession number: MK777485.1) 相似度達 99% (Fig. 7B)，而與四絲馬鮫基因序列 (accession number: EF609513.1) 比對相似度僅達 86%。

(A)

Score	Expect	Identities	Gaps	Strand
189 bits(102)	8e-53	107/109(98%)	2/109(1%)	Plus/Plus
Query 31	ACTCTCTCCCCCTTCTTCTTACTCTCTCTAGCTCTCTGGAGTAG-AGCCGGAGCCG			
Sbjct 259	ACTC-CTCCCCCTTCTTCTTACTCTCTCTAGCTCTCTGGAGTAGAAGCCGGAGCCG			
Query 90	GAACAGGTTGAAGTGTATACCCCTTTAGCAGGAACCTTGCCACGC	138		
Sbjct 318	GAACAGGTTGAAGTGTATACCCCTTTAGCAGGAACCTTGCCACGC	366		

(B)

Score	Expect	Identities	Gaps	Strand
555 bits(300)	2e-162	305/307(99%)	1/307(0%)	Plus/Plus
Query 66	CGTGGGAAGTAAAGCCAGCCGGCGCACTTCTAGGTGACGATCAGATTATAATGTTATC			
Sbjct 1	CGTGGGAAGTAAAGCCAGCCGGCGCACTTCTAGGTGACGATCAGATTATAATGTTATC			
Query 126	GTTACCGACATGCTTTCTGAATGATTTCTTTATAGTATACCAATCATGATCGGAGGC			
Sbjct 61	GTTACCGACATGCTTTCTGAATGATTTCTTTATAGTATACCAATCATGATCGGAGGC			
Query 186	TTCGGAAATGGCTCGTCCCCAATGATCGGGGCCCTGATATAGCGTTTCCCTGAATG			
Sbjct 121	TTCGGAAATGGCTCGTCCCCAATGATCGGGGCCCTGATATAGCGTTTCCCTGAATG			
Query 246	AATAACATGAGCTTTTGACTCTCCCGCCCTCTTTCTTCTCTAGTCTCTCTGGG			
Sbjct 181	AATAACATGAGCTTTTGACTCTCCCGCCCTCTTTCTTCTCTAGTCTCTCTGGG			
Query 306	GTAGAGGCTGGAGCCGGGACAGGATGAAGTGTCTACCCCTTTAGCAGGAACCTTTC			
Sbjct 241	GTAGAGGCTGGAGCCGGGACAGGATGAAGTGTCTACCCCTTTAGCAGGAACCTTTC			
Query 366	CCACGCA 372			
Sbjct 300	CCACGCA 306			

Fig. 7 (A) Sequence alignment results of *E. tetradactylum* PCR product with ERET 1 primer expressed 98% identification with *E. tetradactylum* COI gene (accession number: EF609513.1); (B) Sequence alignment result of *E. rhadinum* PCR product with ERET 1 primer expressed 99% identification with *E. rhadinum* COI gene (accession number: MK777485.1).

經 ERET 2 引子所擴增之四絲馬鮫 PCR 產物與四絲馬鮫基因序列 (accession number: MG816126.1) 比對，序列一致相似度達 100% (Fig. 8A)，而與多鱗四絲馬鮫基因序列 (accession number: MK777485.1) 比對則沒有發現特定的顯著相似性。經 ERET 2 引子所擴增之多鱗四絲馬鮫 PCR 產物與多鱗四絲馬鮫基因序列 (accession number: MK777485.1) 比對，序列相似度達 99% (Fig. 8B)，與四絲馬鮫基因序列 (accession number: MG816126.1) 比對，比對結果則沒有發現特定的顯著相似性。根據電泳及定序結果，證實本研究設計之物種專一性引子能夠有效、快速與正確的區分四絲馬鮫與多鱗四絲馬鮫此兩物種。

(A)

Score	Expect	Identities	Gaps	Strand
278 bits(150)	2e-79	150/150(100%)	0/150(0%)	Plus/Plus
Query 1	TCCTAGTCACGGCGTATTACTTCTCTATCCCTCCCTGTCTAGCCCTGGGAATTACCA	60		
Sbjct 481	TCCTAGTCACGGCGTATTACTTCTCTATCCCTCCCTGTCTAGCCCTGGGAATTACCA	540		
Query 61	TGCTATTAAACAGACCGGAACCTCAATCTGCAATTTTGTGACCTGCAAGTGGGGGAGACC	120		
Sbjct 541	TGCTATTAAACAGACCGGAACCTCAATCTGCAATTTTGTGACCTGCAAGTGGGGGAGACC	600		
Query 121	CAATTCTTTATCAGCACTTATTCTGATTCT 150			
Sbjct 601	CAATTCTTTATCAGCACTTATTCTGATTCT 630			

(B)

Score	Expect	Identities	Gaps	Strand
732 bits(396)	0.0	398/399(99%)	0/399(0%)	Plus/Plus
Query 3	TTGACTCTCTCCCGCCCTCTTTCTTCTCTAGTCTCTTCTGGGTAGAGGCTGAGAC	62		
Sbjct 195	TTGACTCTCTCCCGCCCTCTTTCTTCTCTAGTCTCTTCTGGGTAGAGGCTGAGAC	254		
Query 63	CGGGACAGGATGAAGTGTCTACCCCTTTAGCAGGGAACCTTGCACGACGAGGACATC	122		
Sbjct 255	CGGGACAGGATGAAGTGTCTACCCCTTTAGCAGGGAACCTTGCACGACGAGGACATC	314		
Query 123	AGTGGACCTAACCTTTTCTCTCCACCTAGCAGGGGTATCTCAATCTTGGGGCTAT	182		
Sbjct 315	AGTGGACCTAACCTTTTCTCTCCACCTAGCAGGGGTATCTCAATCTTGGGGCTAT	374		
Query 183	TAATTTTATTACAACTATCTGAATATAAACCTGCCGCCCTCAATATACCACTTCC	242		
Sbjct 375	TAATTTTATTACAACTATCTGAATATAAACCTGCCGCCCTCAATATACCACTTCC	434		
Query 243	CTTATTGTCTGAGCTGTTCTAGTCACAGCTGTACTGCTCTTTGTCTCTCCCGTCT	302		
Sbjct 435	CTTATTGTCTGAGCTGTTCTAGTCACAGCTGTACTGCTCTTTGTCTCTCCCGTCT	494		
Query 303	GGCCGCTGGAATTACCACTATTATGACAGACGAAACCTCAATAGTCATTCTTGACCC	362		
Sbjct 495	GGCCGCTGGAATTACCACTATTATGACAGACGAAACCTCAATAGTCATTCTTGACCC	554		
Query 363	TGCGGGCGGAGGAGACCAATTCTTTACCAACACTATT 401			
Sbjct 555	TGCGGGCGGAGGAGACCAATTCTTTACCAACACTATT 593			

Fig. 8 (A) Sequence alignment results of *E. tetradactylum* PCR product with ERET 2 primer expressed 100% identification with *E. tetradactylum* COI gene (accession number: MG816126.1). (B) Sequence alignment result of *E. rhadinum* PCR product with ERET 2 primer expressed 99% identification with *E. rhadinum* COI gene (accession number: MK777485.1).

為測試物種專一性引子的應用性，採集不同胸鰭顏色 (Fig. 1A、1B 及 1C) 的午仔魚樣品、魚卵 (Fig. 1D)、四間魚苗繁殖場的魚苗樣品 20 隻 (Fig. 1E) 及其他魚種進行物種鑑定，結果顯示本研究自臺灣南部養殖場取得午仔魚樣品為四絲馬鮫，而臺灣周遭海域多批次收集之野外捕獲午仔魚樣品皆為多鱗四絲馬鮫，並無四絲馬鮫混雜其中，此檢測結果與先前的午仔魚研究一致 (Su *et al.*, 2020; Su *et al.*, 2022)。魚卵及魚苗樣品經 ERET 1 (Fig. 9A) 及 ERET 2 (Fig. 9B) PCR 物種鑑定結果皆為四絲馬鮫，基因定序比對後結果亦同。

文獻指出可依據多鱗四絲馬鮫為黑色胸鰭，四絲馬鮫為黃色胸鰭來區分兩物種 (Motomura, 2004)，本研究針對不同胸鰭顏色午仔魚樣品進行取樣，以物種專一性引子 ERET 1 (Fig. 10A) 及 ERET 2 (Fig. 10B) 進行物種鑑定，結果顯示本研究中之黑色與黃色胸鰭之午仔魚樣品皆為四絲馬鮫，基因定序比對結果亦相同，實驗結果證實胸鰭

顏色並不適宜作為午仔魚物種的鑑別指標。在尖吻鱸 (*Lates calcarifer*) 及六絲馬鮫 (*Polydactylus sexfilis*) 樣品以物種專一性引子 ERET 1 及 ERET 2 進行 PCR 擴增，結果皆無 PCR 產物生成，因此物種專一性引子對四絲馬鮫與多鱗四絲馬鮫的物種鑑定具有高專一性。針對四絲馬鮫與多鱗四絲馬鮫物種鑑定，雖有文獻設計 SCAR 標誌方法，依據 PCR 產物的生成有無，作為四絲馬鮫與其親緣物種鑑定的分子標記 (楊等, 2019)，但此方法易受聚合酶鏈式反應活性或樣品 DNA 品質影響，且無法利用基因序列比對驗證。

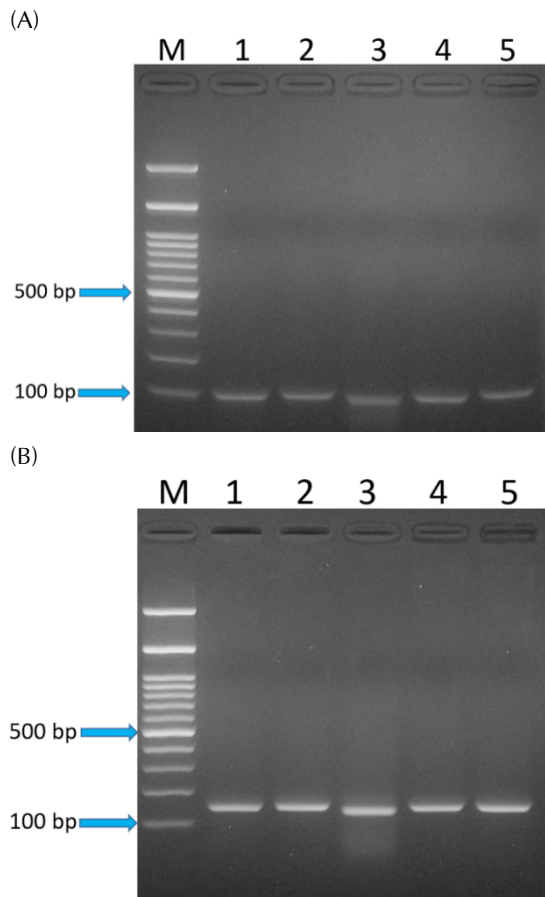


Fig. 9 Variety identification of different fourfinger threadfin farms roes and fry with ERET 1 and ERET 2 primer. All were *E. tetradactylum*. (A) PCR results of farmed fourfinger threadfin roes and fry with ERET 1 primer, Lane 1: Roes, Lane 2-5: fourfinger threadfin fry of different breeding farms. (B) PCR results of farmed fourfinger threadfin roes and fry with ERET 2 primer, Lane 1: Roes, Lane 2-5: fourfinger threadfin fry of different breeding farms.

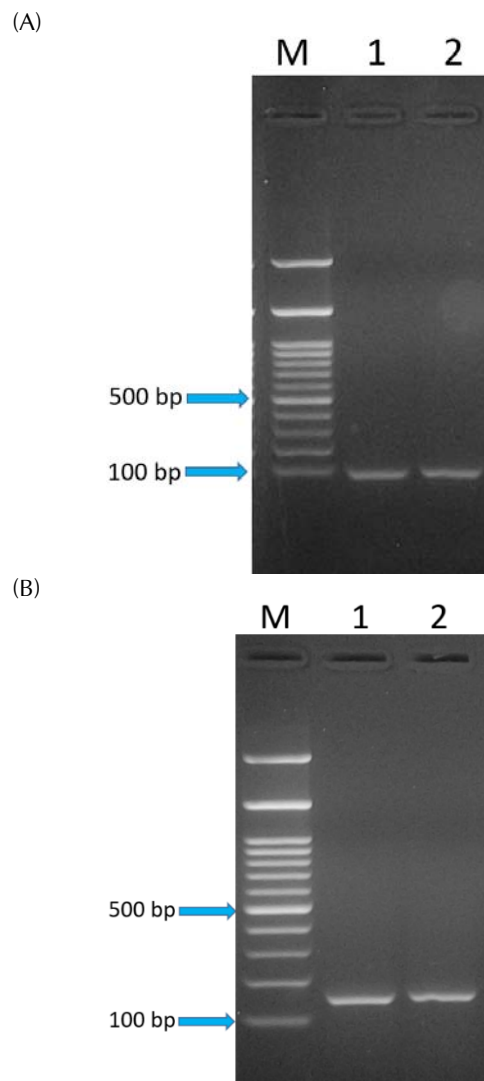


Fig. 10 Variety identification of black or yellow pectoral fin fourfinger threadfin with ERET 1 and ERET 2 primer. Both were *E. tetradactylum*. (A) PCR results of black or yellow pectoral fins of ERET 1, Lane 1: PCR result of black pectoral fin sample; Lane 2: PCR result of yellow pectoral fin sample. (B) PCR results of black or yellow pectoral fins of ERET 2, Lane 1: PCR result of black pectoral fin sample; Lane 2: PCR result of yellow pectoral fin sample.

四絲馬鮫與多鱗四絲馬鮫的外觀鑑別不易區分，魚卵、魚苗及生鮮加工品更是無法藉由外觀進行鑑定，且基因定序花費的時間及成本較高，本研究藉由物種專一性引子 ERET 1 及 ERET 2 的高專一性及再現性，建立快速鑑定午仔魚物種的方法，無論魚卵、魚苗或生鮮加工品皆能快速鑑別，此四絲馬鮫與多鱗四絲馬鮫物種鑑定技術將有助於馬鮫屬魚類的族群遺傳研究、物種資源管理及午仔魚的養殖產業開發。

參考文獻

- 漁業署 (2022) 中華民國臺灣地區漁業年報. 行政院農業部漁業署, 臺北.
- 趙優, 莊平, 張濤, 趙峰 (2016) 中國沿海多鱗四指馬鮫與四指馬鮫型態與遺傳位點差異分析. 海洋與湖沼, 47(1): 108-114.
- 楊翌聰, 李活, 劉錦上, 鄭佩明, 龐德彬, 蒙子寧, 林浩然 (2019) 四指馬鮫、多鱗四指馬鮫種間差異的DNA條形碼分析及SCAR標記開發. 中山大學學報(自然科學版), 58(4): 60-67.
- Al-Banna, L., A. T. Ploeg, V. M. Williamson and I. Kaloshian (2004) Discrimination of six *pratylenchus* species using PCR and species-specific primers. J. Nematol., 36(2): 142-146.
- Ali, M. E., M. A. Razzak and S. B. A. Hamid (2014) Multiplex PCR in species authentication: probability and prospects -a review. Food Anal. Methods, 7: 1933-1949.
- Atikah, N., Y. Esa, M. Rozihan, M. Ismail and I. Kamaruddin (2020) Phylogenetic analysis revealed first report of *Eleutheronema rhadinum* lineage in the coastal waters of Malaysia. J. Environ. Biol., 41: 1424-1431.
- Binh, T. T., N. D. Vinh and T. T. K. Ngan (2019) Effect of density and rations on survival rate and growth performance of *Eleutheronema rhadinum* captive breeding. Aqua. Sci. Fish. Abs. (ASFA), 9-14.
- Bleeker, P. (1862) Notice ichthyologique (I-X). Versl. Akad. Amsterdam, 14: 123-141.
- Dong, C. M., Y. J. Park, J. K. Noh, E. S. Noh, C. M. An, J. H. Kang, J. Y. Park and E. M. Kim (2019) Development of species-specific PCR primers for the rapid and simultaneous identification of the six species of genus *Takifugu*. Dev. Reprod., 23(4): 367-375.
- Froese, R. and D. Pauly Editors. (2024) FishBase. World Wide Web electronic publication. www.fishbase.org (02/2024)
- Goodwin, S., J. D. McPherson and W. R. McCombie (2016) Coming of age: ten years of next-generation sequencing technologies. Nat. Rev. Genet., 17(6): 333-351.
- Kanz, C., P. Aldebert, N. Althorpe, W. Baker, A. Baldwin, K. Bates, P. Browne, A. van den Broek, M. Castro, G. Cochrane, K. Duggan, R. Eberhardt, N. Faruque, J. Gamble, F. G. Diez, N. Harte, T. Kulikova, Q. Lin, V. Lombard, R. Lopez, R. Mancuso, M. McHale, F. Nardone, V. Silventoinen, S. Sobhany, P. Stoehr, M. A. Tuli, K. Tzouvara, R. Vaughan, D. Wu, W. Zhu and R. Apweiler (2005) The EMBL nucleotide sequence database. Nucleic Acids Res., 33(Database issue): D29-33.
- Kumar, D., S. Singh, N. S. Karabasanavar, R. Singh and V. Umapathi (2014) Authentication of beef, carabeef, chevon, mutton and pork by a PCR-RFLP assay of mitochondrial cytb gene. J. Food Sci. Technol., 51(11): 3458-3463.
- Lakra, W. S., M. S. Verma, M. Goswami, K. K. Lal, V. Mohindra, P. Punia, A. Gopalakrishnan, K. V. Singh, R. D. Ward and P. Hebert (2011) DNA barcoding Indian marine fishes. Mol. Ecol. Resour., 11: 60-71.
- Madden, T. L., R. L. Tatusov and J. Zhang (1996) Applications of network BLAST server. Meth. Enzymol., 266: 131-141.
- Matsuki, T., K. Watanabe, R. Tanaka, M. Fukuda and H. Oyaizu (1999) Distribution of bifidobacterial species in human intestinal microflora examined with 16S rRNA-gene-targeted species-specific primers. Appl. Environ. Microbiol., 65(10): 4506-4512.
- Motomura, H., Y. Iwatsuki, S. Kimura and T. Yoshino (2002) Revision of the Indo-West Pacific polynemid fish genus *Eleutheronema* (Teleostei: Perciformes). Ichthyol. Res., 49: 47-61.
- Motomura, H. (2004) Threadfins of the world (family Polynemidae): an annotated and illustrated catalogue of polynemid species known to date. FAO Species Catalogue for Fishery Purposes, 117(3): 13-19.
- Motomura, H., K. Matsuura, J. Bishop and F. Kaymaram (2015) *Eleutheronema tetradactylum*. The IUCN Red List of Threatened Species, e.T46087646A57168342.
- Muir, A., E. Harrison and A. Wheals (2011) A multiplex set of species-specific primers for rapid identification of members of the genus *Saccharomyces*. FEMS Yeast Res., 11(7): 552-563.
- Su, N. J., Y. S. Lu, C. H. Wang, C. H. Liao, W. C. Chiang and C. T. Tseng (2020) Age determination for juvenile fourfinger threadfin (*Eleutheronema rhadinum*) by using otolith microstructure and length data obtained from commercial fisheries off northwestern Taiwan. Fish. Res., 227: 105560.
- Su, N. J., L. C. Huang, C. H. Wang and Y. C. Chang (2022) Using otolith microchemical analysis to identify farmed fourfinger threadfin and wild caught East Asian fourfinger threadfin in western waters off Taiwan. J. Fish. Soc. Taiwan, 49(1): 51-58.

- Thu, P. T., W. C. Huang, T. K. Chou, N. Van Quan, P. Van Chien, F. Li, K. T. Shao and T. Y. Liao (2019) DNA barcoding of coastal ray-finned fishes in Vietnam. PLoS ONE, 14(9): e0222631.
- Varadínová, Z., Y. J. Wang, Z. Kučerová, V. Stejskal, G. Opit, Y. Cao, F. J. Li and Z. H. Li (2015) COI barcode based species-specific primers for identification of five species of stored-product pests from genus *Cryptolestes* (Coleoptera: Laemophloeidae). B. Entomol. Res., 105(2): 202-209.
- Wang, J., P. Sun and F. Yin (2014) Low mtDNA Cytb diversity and shallow population structure of *Eleutheronema tetradactylum* in the East China Sea and the South China Sea. Biochemical. System. Ecology., 55: 268-274.
- Xiao, J., S. Lyu, T. H. Iqbal, S. Hajisamae, K. W. K. Tsim and W. X. Wang (2022) Molecular phylogenetic and morphometric analysis of population structure and demography of endangered threadfin fish *Eleutheronema* from Indo-Pacific waters. Sci. Rep., 12(1): 3455.
- Yang, X. and C. Quiros (1993) Identification and classification of celery cultivars with RAPD markers. Theor. Appl. Genet., 86(2-3): 205-212.
- Zhao, Z. H., B. Y. Cui, Z. H. Li, J. Fan, Q. Yang, Z. Kučerová, V. Stejskal, G. P. Opit, Y. Cao and F. Li (2016) The establishment of species-specific primers for the molecular identification of ten stored-product psocids based on ITS2 rDNA. Sci. Rep., 6: 21022.

Primer Design for Species Identification of *Eleutheronema tetradactylum* and *Eleutheronema rhadinum*

Yi-Che Su¹, Yan-Hong Lee^{1*}, Hsuan-Ching Ho² and Feng-Cheng Wu¹

¹Tungkang Aquaculture Research Center, Fisheries Research Institute

²Department and Graduate Institute of Aquaculture, National Kaohsiung University of Science and Technology

ABSTRACT

The two species of fourfinger threadfin fish, *Eleutheronema tetradactylum* and *Eleutheronema rhadinum*, are economically important species in coastal fisheries and aquaculture. They are primarily distinguished by the number of lateral line scales, rather than appearance alone. Additionally, the fish eggs, fry, and processed aquatic products cannot be identified based on appearance. Although gene sequencing can distinguish between the two species, it is time-consuming and costly. This study aims to develop species-specific primers based on the differences in the cytochrome c oxidase I (COI) gene sequences between *E. tetradactylum* and *E. rhadinum*. The two species can be identified quickly and accurately by amplifying different fragment sizes through polymerase chain reaction. The results showed that species identification using species-specific primers was consistent with both morphological identification and gene sequencing, demonstrating that the primers can achieve fast and accurate species identification. Field samples of threadfin fish collected from the waters around Taiwan were identified as *E. rhadinum*, while samples of threadfin fish, eggs, and fry obtained from aquaculture farms were identified as *E. tetradactylum*. A fast and accurate detection method is necessary for species identification in basic research, germplasm conservation, or field applications. This study contributes to the genetic background research, species resource conservation, and aquaculture industry development of *Eleutheronema* threadfin fish..

Key words: *Eleutheronema tetradactylum*, *Eleutheronema rhadinum*, species-specific primers, species identification, cytochrome c oxidase I (COI)

*Correspondence: No. 67, Fongyu St., Tungkang, Pingtung 92845, Taiwan. TEL: (08) 832-4121 ext. 275; FAX: (08) 832-0234; E-mail: yhlee@mail.tfrin.gov.tw

淨化處理對帶殼葡萄牙牡蠣 (*Magallana angulata*) 衛生食用安全與品質之影響

高翊峰^{1*} · 何晟瑩¹ · 張麗緹² · 張晏瑋¹ · 周芷瑩¹ · 葉駿達¹ · 方銘志²

¹ 農業部水產試驗所水產加工組

² 國立臺灣海洋大學食品科學系

摘 要

本土養殖牡蠣主要產區集中於彰、雲、嘉、南等縣市沿近海域，受惠於營養鹽的供給及豐富的微藻供應鏈，造就國產牡蠣的肥美，然地狹人稠所產生的污染也直接或間接影響牡蠣食用的安全性。為提升國產牡蠣的衛生安全及品質，本研究組裝紫外線燈、冷卻系統及循環過濾槽成 60 L 的小型淨化系統來淨化帶殼牡蠣，並探討淨化前、後對其微生物、鮮度、風味及冷藏架售期之影響。結果顯示：牡蠣淨化前總生菌及腸炎弧菌，分別為 1.63×10^5 cfu/g 及 $> 1,100$ MPN/g，大腸桿菌群及沙門氏菌皆為陰性；淨化處理 96 hr 可提升牡蠣品質至符合冷凍生食用魚介類之標準（總生菌 $< 1.0 \times 10^5$ cfu/g）及生鮮即食水產品之限量標準（腸炎弧菌 < 100 MPN/g，沙門氏菌及單核球增多性李斯特菌陰性）。在風味上，相較於未淨化組，淨化處理（72 hr）之牡蠣肝醣、脂肪酸及游離胺基酸含量分別降低了 73.5% ($p < 0.05$)、46.4% 及 24.2% ($p < 0.05$)。進一步分析呈味胺基酸組成，其中生牡蠣在鮮味、甜味及苦味胺基酸含量上，淨化處理後分別減少 18.9%、27.4% 及 13.4%，然而相較於未淨化的熟牡蠣，淨化處理則顯著改善蒸煮後熟牡蠣呈味胺基酸的流失。比較淨化處理對牡蠣於冷藏期間之衛生安全，顯示未處理組及淨化組牡蠣預估分別於冷藏第 12.3 天及 33.4 天將超過冷凍鮮魚介類可食之標準。上述結果顯示：淨化處理國產帶殼牡蠣不僅有助於提升牡蠣衛生安全符合生食用魚介類之標準，亦能減少熟食牡蠣風味的流失，並延長帶殼牡蠣冷藏之架售期。

關鍵詞：國產牡蠣、淨化、衛生安全、風味、保鮮

前 言

牡蠣是一種濾食性動物，常見於臺灣周邊的沿近海域，而養殖牡蠣的主要產區集中於彰化、雲林、嘉義及臺南等縣市。牡蠣在進食時，藉由吸入水體並濾食出海水中的微藻、懸浮微粒與碎屑 (Laffon *et al.*, 2006)，因此河川上游豐富的營養鹽及微藻的供應，可養成肥美的牡蠣，然地狹人稠因生活活動所帶來的污染物也會直接或間接影響牡蠣的衛生安全。Depaola *et al.* (1990) 指

出可供生食的海鮮特別是牡蠣，常分離出腸炎弧菌 (*Vibrio parahaemolyticus*)，為美國常見腸胃炎的食源性病原菌之一，其感染的主要症狀包含：頭痛、腹痛、噁心、腹瀉、嘔吐等，急性期發生於食入後 24 hr，並持續至 96 hr (CDC, 2013)。美國食品藥物管理局 (2018) 聲明食用生牡蠣確實會增加消費者罹患疾病的風險 (Mead *et al.*, 1999; US FDA, 2018)。

淨化處理是世界各牡蠣養殖場常見採收後的加工處理，目的係將牡蠣出售給終端消費者之前，盡可能的排除牡蠣體內之糞便並降低養殖環境中食源性病原菌的殘留與污染，以減少食用後引發人體消化道不適或食品中毒之風險 (Drake *et al.*, 2007)，研究 (Lee *et al.*, 2008) 證實

*通訊作者 / 基隆市和一路 199 號, TEL: (02)2462-2101 ext. 2837 ; FAX: (02) 2462-3306; E-mail: yfkao@mail.tfrin.gov.tw

淨化對牡蠣是一種有效的處理程序，可以減少活牡蠣中糞便大腸桿菌及腸炎弧菌的含量。聯合國糧食及農業組織 (FAO, 2008) 發布牡蠣及相關貝類採收後的淨化操作指引，供全世界的牡蠣產業進行採收後處理之參考 (Lee *et al.*, 2008)。近年來也廣泛討論，不同的淨化處理時間、海水的鹽度、溫度、換水速率及流速，亦或搭配紫外線燈，或以加工助劑臭氧、次氯酸電解水等來強化淨化用水的處理 (Lee *et al.*, 2008)。理想的淨化條件不僅可降低牡蠣體內食源性病原菌的含量，還能降低牡蠣的死亡率，而任何淨化系統的設計與規劃，最終都得進行系統設備的驗證與衛生安全的確效評估。

在國外的飲食文化中，牡蠣常被生鮮食用，並且許多國家由政府制定法規監控管理並強制要求淨化 (EC No. 853/2004 & 854/2004)。然而，國人食用牡蠣的習慣常以熟食為主，牡蠣收穫後多直接開殼取其清肉，其消費型態，例如：蚵仔煎、蚵嗲、蚵仔湯及蚵仔酥等，牡蠣清肉多經高溫烹調而殺菌，因此儘管漁業署自 2002 年起便積極輔導嘉義縣政府成立全國第一座牡蠣淨化廠來提升牡蠣的品質 (嘉義縣政府, 2016)，然而帶殼牡蠣的淨化處理仍未被廣泛的獲到國內業者所重視。

傳統生產牡蠣清肉需仰賴人工剝殼，19 世紀初為因應美國墨西哥灣附近牡蠣產業鏈的需求，曾爆發大量童工受到剝殼加工場的勞力剝削，進而引發美國政府制定了相關童工的保護法案 (Hine, 1986)。近年來本土漁村日漸人口老化，缺工及勞力密集不僅墊高了牡蠣清肉的生產成本，也嚴重壓縮蚵農的獲利空間。有鑑於西方飲食文化的發展趨勢，發現進口帶殼牡蠣消費市場單價較具競爭力，因此部分業者逐漸意識到必須積極的轉型升級，例如：創造品牌、區隔傳統清肉消費市場、提升帶殼牡蠣之衛生安全與品質等。因此本研究的主要目的在確效淨化處理是否能有效提升本土帶殼牡蠣之衛生安全、品質及風味，並探討淨化對帶殼牡蠣冷藏架售期的影響。

材料與方法

一、帶殼牡蠣之淨化

單體帶殼葡萄牙牡蠣 (*Magallana angulata*)

由南市區漁會提供。淨化系統由 60 L 玻璃水槽上置揚水馬達 (黑豹 L-密封式, 華一水族, 臺灣)，以引流導管銜接上部桶狀過濾水槽、蓄水缸及冷卻系統 (C-0500 靜音冷卻機-1/2hp, 日生, 臺灣)，形成一密閉式循環系統。淨化槽內置 30,000 $\mu\text{W}/\text{cm}^2$ 紫外線水中殺菌燈 (UV-c III, MR.AQUA 第三代動力式迷你殺菌燈, 臺灣)。淨化實驗時，以每批次 8.5 kg 帶殼牡蠣於 60 L 淨化槽，蓄養 0 – 120 hr，淨化時水溫恆定於 22°C，以節流閥控制換水率 15 L/min，淨化後牡蠣開殼採肉進行微生物、揮發性鹽基態氮 (volatile basic nitrogen, VBN)、硫巴比妥酸價 (thiobarbituric acid reactive substances, TBARs)、肝糖 (glycogen)、脂肪酸及游離胺基酸等分析，並以未淨化處理牡蠣為對照組。

二、生菌數測定

根據衛生福利部 102 年 9 月 6 日衛授食字第 1021950329 號公告修正「食品微生物之檢驗方法-生菌數之檢驗」，取 25 g 牡蠣肉中加入 225 mL 生理食鹽水，均質後以 10 倍稀釋進行三個連續稀釋倍數的檢液，再取稀釋液 0.1 mL 至 TSA 培養基中均勻塗佈，於 35°C 培養 24 hr 後計算菌落數 (cfu/g) (total plate counts, TPC)。

三、大腸桿菌之檢驗

根據衛生福利部 110 年 10 月 6 日衛授食字第 110190155 號公告修正「食品微生物之檢驗方法-大腸桿菌之檢驗」，取 25 g 牡蠣肉中加入 225 mL 生理食鹽水，均質後以 10 倍稀釋進行三個連續稀釋倍數檢液，吸取 1 mL，接種於裝有 LST 培養液 10 mL 之試管，每一稀釋倍數接種 3 支，於 35°C 培養 24 ± 2 hr，觀察是否產氣；未產生氣體者繼續培養 24 hr，仍無氣體產生者，即為大腸桿菌群陰性；產生氣體者則疑為大腸桿菌群陽性。

四、腸炎弧菌數檢驗

根據衛生福利部 106 年 4 月 27 日衛授食字第 1061900803 號公告修正「食品微生物之檢驗方法-腸炎弧菌之檢驗」取 25 g 牡蠣清肉檢體加

入 0.85% 食鹽水稀釋液 225 mL，均質後得 10 倍稀釋液。將稀釋檢液及 (或) 原液充分搖勻，分別吸取三個連續倍數之稀釋檢液各 1 mL，接種於 APW 10 mL 中，每稀釋檢液各接種 3 支 (三階三支)，原液、10 倍及 100 倍稀釋檢液時，每階試管含檢體量 1、0.1 及 0.01 (g 或 mL)；10、100 及 1,000 倍稀釋檢液時，每階試管含檢體量 0.1、0.01 及 0.001 (g 或 mL)，於 $35 \pm 2^\circ\text{C}$ 隔夜培養，呈現混濁 APW 液面起深 1 cm 處，分取一接種環 (直徑約 3 mm) 量菌液，劃線接種在 TCBS 培養基表面，於 $35 \pm 2^\circ\text{C}$ 隔夜培養後，觀察菌落之型態。若為可疑腸炎弧菌者，其菌落為圓弧形，呈綠色或藍綠，直徑約 2 - 3 mm。最後確定為腸炎弧菌者，依附表計算其 MPN 數。

五、沙門氏桿菌檢驗

根據衛生福利部 102 年 12 月 23 日部授食字第 1021951187 號公告修正「食品微生物之檢驗方法—沙門氏桿菌之檢驗」。新鮮牡蠣檢體，以無菌操作稱取 25 g，置入已滅菌之均質杯內。加乳糖培養液 225 mL，均質 2 min。將已均質化之檢體與乳糖培養液混合物倒入已滅菌廣口瓶內，將瓶蓋旋緊，於室溫靜置 1 hr 後，混勻並調整 pH 值至 6.8 ± 0.2 。將瓶蓋略旋鬆，於 35°C 培養 24 ± 2 hr 後，供作檢液。吸取牡蠣檢液 1 mL 至四硫代硫酸鹽培養液 (tetrathionate broth, TT) 10 mL 中，混合均勻，將 TT 培養液置於 35°C 培養 24 ± 2 hr。自 TT 增菌培養液中取一接種環量，在海克頓腸內培養基 (hektoen enteric agar, HE)、木糖梨胺酸去氧膽酸鹽培養基 (xylose lysine deoxycholate agar, XLD) 及亞硫酸銻培養基 (bismuth sulfite agar, BS) 培養基表面作劃線後，於 35°C 培養 24 ± 2 hr，觀察所形成菌落型態。

六、揮發性鹼基態氮測定

根據衛生福利部 110 年 10 月 27 日衛授食字第 1101902415 號公告修正水產品中揮發性鹽基態氮之檢驗方法，牡蠣清肉均質後取 2 g 檢體，以 2.2% 三氯乙酸 (trichloroacetic acid solution, TCA) 定容至 20 mL 充分混勻後，並用 Whatman no. 1 濾紙過濾，將 1 mL TCA 提取液和 1 mL 飽

和碳酸鉀溶液的等分試樣置於康威氏皿 (Conway dish) 的外室兩側，並將 1 mL 硼酸吸收液置於康威氏皿的內室，蓋上封閉後輕微水平搖晃混勻 TCA 提取液和飽和碳酸鉀溶液，將康威氏皿平放於 37°C 烘箱中靜置 90 min 後取出，並用 0.02N HCl 滴定硼酸吸收液至淺紅色，計算牡蠣肉中的 VBN 含量 (mg/100g)，另使用 1 mL 2.2% 三氯乙酸代替牡蠣肉萃取物作為空白試驗組。

七、硫巴比妥酸價

參考 Birkeland *et al.* (2004) 所述方法將 5 克均質之牡蠣清肉檢體放入燒杯中，加入 25 mL 7.5% TCA 溶液，均質 1 min，再定量至 50 mL 混合均勻後，在室溫下靜置 10 min，用 Whatman no. 1 濾紙過濾，取 5 mL 樣品濾液加入 5 mL 0.02M TBA 試劑至螺旋試管中，振盪後放入沸水浴加熱 40 min 後冷卻，取 200 μL 至 96 孔盤中，以分光光度計測量波長 532 - 8 nm 之吸光度。

八、肝醣測定

參考 Carroll *et al.* (1956) 所述方法，蒽酮試劑配製係將 140 mL 蒸餾水和 360 mL 濃硫酸混合，然後加入 5 g 硫脲和 250 mg 蒽酮 (又稱 9, 10-二氫蒽-9-酮)，混合均勻並溶解。樣本萃取置備，取牡蠣肉 5 g，加入 15 mL 7% TCA 樣品瓶中均質 2 min，以 4°C 5,000 rpm 離心 20 min 後以 2 號濾紙過濾定容至 100 mL，上述 TCA 抽出液 1 mL 與 95% 乙醇 5 mL 混合均勻，於室溫下靜置 10 hr 後， $1,200 \times g$ 離心 15 min，沉澱部分加水適當稀釋。取 1 mL 稀釋液加入 5 mL anthrone 試劑反應，進行使用 620 nm 分光光度計測其吸光值 (標準曲線：以不同標準濃度之葡萄糖原溶液重複上述操作)，進行比色定量，所得肝醣含量以濕重 (mg/100g) 表示。

九、脂肪酸組成分析

根據衛生福利部 110 年 10 月 27 日衛授食字第 1021950978 號公告食品中脂肪酸之檢驗方法，取 3 - 5 顆未淨化或淨化牡蠣清肉組織樣本，均

Table 1 Effects of different depuration times on the microbial hygiene indicators in local shelled oysters

Depuration time (hr)	TPC (cfu/g)*	<i>Vibrio parahaemolyticus</i> (MPN/g)*	Coliform	<i>Salmonella</i>
None	1.63×10^5	>1100	ND.	ND.
24	8.5×10^4	210	ND.	ND.
48	2.6×10^4	150	ND.	ND.
72	3.6×10^4	240	ND.	ND.
96	4.3×10^3	28	ND.	ND.
120	2.8×10^3	35	ND.	ND.

Note: An asterisk (*) denotes the legal limit outlined in the Ministry of Health and Welfare's Sanitation Standard for the Microorganism in Frozen Foods, which states that raw ready-to-eat aquatic products or ready-to-eat food containing both aquatic products and processed food ingredients shall not exceed a total plate count of 1×10^5 cfu/g or *V. parahaemolyticus* count of 100 MPN/g.

質後送財團法人食品工業研究所委託檢驗，所得之各脂肪酸含量以 (mg/100g) 表示。

十、游離胺基酸組成分析

參考 Jiménez-Martin *et al.* (2012) 所述方法，取 3–5 顆未淨化及淨化 72 hr 之牡蠣，開殼採肉後均質精秤 5 g 樣品，分別加入 DL-Norvalin (Cat. no. N7502, sigma) 及 Norleucine (Cat. no. N1398, sigma) 兩項內部標準品，以 0.1N HCl 均質，離心 (8,700 rpm) 後上清液定容至 50 mL，均勻混和再離心 (3,500 g, 3 min)，取 1 mL 上清液加入 3 倍體積的乙腈 (Acetonitrile, ACN)，均勻混和後離心 (3,500 g, 3 min)，取 400 μ L 上清液於試管中減壓縮得黑綠色乾燥試樣，以 5 μ L 二甲基甲醯胺 (dimethylformamide, DMF) 及 50 μ L ACN，另加入 50 μ L N-tert-Butyldimethylsilyl-N-methyltrifluoroacetamid (Cat no. 77626, sigma-aldrich)，於 100°C 乾浴進行胺基酸衍生化反應 1 hr，待樣品液轉為黃色澄清，以乙醚定容至 0.5 mL，以 GC-MS 進行定量分析。

十一、統計分析

利用 SPSS 進行統計分析，以單因子變異數分析，再進行 Post Hoc 事後檢定分析，以最小顯著性差異法 (least significant difference, LSD) 檢定組間差異性。

結果與討論

將南市區漁會提供國產單體帶殼葡萄牙牡蠣，以冷藏宅配方式寄送至實驗室，量測平均每顆牡蠣重 157.1 ± 22.0 g，開殼後清肉重 28.3 ± 6.6 g。將帶殼牡蠣置於循環水系統 (Fig. 1) 進行淨化處理，未淨化處理組則直接儲存於 4°C 冰箱。

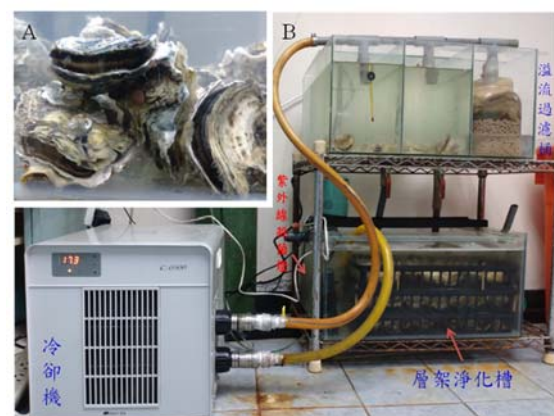


Fig. 1 A simple circulating system for local shelled oyster depuration in our lab. (A) The depurated oyster, (B) a 60-liter circulation tank for depuration can treat 8.5 kg of local shelled oyster per batch.

首先我們比較不同淨化處理時間對帶殼牡蠣衛生安全之影響，結果如 Table 1 所示，淨化前之國產牡蠣，生菌數及腸炎弧菌數，分別為 1.63×10^5 cfu/g 及 >1,100 MPN/g，而大腸桿菌群及沙門氏菌則皆未檢出。生菌數為判斷一般食品是否腐敗的重要指標，根據 108 年衛生福利部食

品藥物管理署修正的冷凍食品之微生物限量，本實驗淨化前之國產牡蠣符合冷凍鮮魚介類之限量（生菌數 $< 3.0 \times 10^6$ cfu/g），但卻不符合生冷凍生食用魚介類之微生物限量（生菌數 $< 1.0 \times 10^5$ cfu/g）。實驗另採樣經淨化處理 24、48、72、96 及 120 hr 之 2–3 顆牡蠣，分析其生菌數分別為 8.5×10^4 、 2.6×10^4 、 3.6×10^4 、 4.3×10^3 及 2.8×10^3 cfu/g (Fig. 2 & Table 1)，腸炎弧菌數則為 210、150、240、28 及 35 MPN/g (Table 1)，顯示淨化處理則有助於降低牡蠣中生菌數及腸炎弧菌含量且具時間效應。然基於水產品加工成本考量，一般牡蠣業者在淨化系統操作上通常不會超過 2–3 天，藉由縮短淨化的時間來提升批次淨化的轉換率，加速產品產出與獲利。另依據 FAO (2008) 針對貝類收穫後的加工指引建議，在適當的系統中淨化處理有助於降低二枚貝類糞大腸桿菌群污染的風險 (Lee *et al.*, 2008)，為此全球已經有多個國家將貝類的淨化程序納入法訂的規範，例如：英國規定貝類淨化時間至少需 42 hr 以上、美國貝類衛生計劃 (NSSP) 規定至少需 44 hr 以上、紐西蘭則規定非經當地權責部門認可，最短淨化時間為 48 hr，然上述淨化的法定時間規範，僅為針對排除大腸桿菌群而設置，對於減少海水貝類海洋弧菌的含量，恐需更嚴格的淨化條件。Lee *et al.* (2008) 的研究支持延長至 5 天的淨化時間能有助於移除貝類體內的有害細菌。Wang *et al.* (2010) 將太平洋牡蠣 (*Crassostrea gigas*) 於 17–19°C 溫度，18–20 psu 鹽度的循環水系統中，以每分鐘 13 L 的流速淨化 14 天，能有效的分別減少牡蠣消化道及鰓中的弧菌數達 3.2 log cfu/g 及 3.0 log cfu/g (Wang *et al.*, 2010)。Ming *et al.* (2018) 將太平洋牡蠣以人工接種約 10^5 的腸炎弧菌，於 70 L 的淨化槽系統中，以 15–35 L/min 的流速，12.5°C 人工海水，淨化 5 天能有效減少牡蠣中 2.39–3.39 log MPN/g 之腸炎弧菌。Larsen *et al.* (2015) 在天然汙染創傷弧菌及腸炎弧菌的大西洋牡蠣中發現，在 35 psu 鹽度、22.5°C 及 36 L/min 流速的海水淨化環境中處理 10 天，可降低牡蠣組織中 1.74 log 之創傷弧菌及 1.18 log 之腸炎弧菌含量。本研究的結果顯示：本批國產牡蠣雖然在淨化前大腸桿菌群及沙門氏菌皆未檢出，並且在淨化 24 hr 後生菌數已降至生食用魚介類之微生物限量標準 ($< 1.0 \times 10^5$ cfu/g)，

然腸炎弧菌含量需在淨化 96 hr 後才降能至 100 MPN/g (食品中微生物標準-生鮮即食水產品之腸炎弧菌限量)。

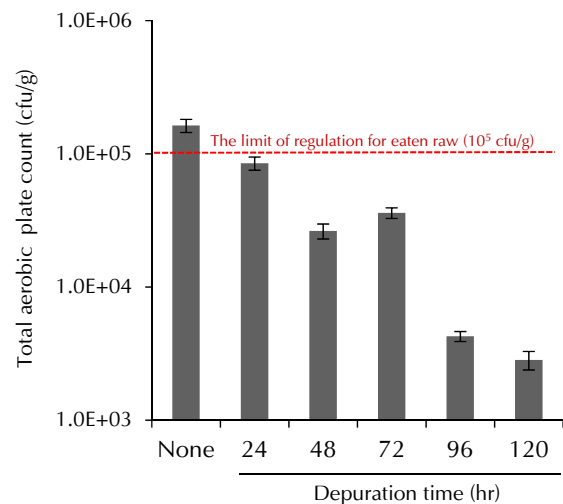


Fig. 2 Effects of the different depuration times (24 to 120 hrs) on the total plate count in local shelled oyster (*Magallana angulata*). According to the Sanitation Standard for the Microorganism in Frozen Foods, the maximum total aerobic plate count of microorganisms shall not exceed 3.0×10^6 cfu/g in frozen fishes and shellfishes and 1.0×10^5 cfu/g in frozen fishes and shellfishes for raw consumption.

探討淨化處理對帶殼牡蠣鮮度之影響，結果顯示，不同淨化處理組之 VBN 介於 4.60–7.58 mg/100g (Table 2)，符合衛生福利部公告之「食品中污染物質及毒素衛生標準」生鮮即食水產品的限量標準 (< 15 mg/100g)，唯在淨化的第 48 hr 採樣，因於淨化期間剔除槽中明顯開殼死亡之牡蠣樣本，擾動水流的影响可能導致第 48 hr 採樣牡蠣 VBN 從第 24 hr 的 4.6 mg/100g 微幅上升至 7.58 mg/100g，而相似的情形也反應在第 72 hr 生菌數及腸炎弧菌數亦有微幅上升的趨勢，並且在淨化第 72 hr 之後菌數持續下降，對此 FAO (2008) 在指引中建議淨化應以批次進/出處理為原則，並避免淨化期間擾動淨化槽體沉積物導致汙染已淨化的貝體。在脂質氧化指標上，淨化前之牡蠣，TBARs 含量為 5.13 ± 0.09 μ g/g，而淨化處理 24–120 hr 之牡蠣其 TBARs 含量介於 3.5–4.4 μ g/g (Table 2)，顯著低於未淨化處理組 ($p < 0.05$)，顯示淨化處理有助於減少牡蠣組織中氧化脂質的含量。

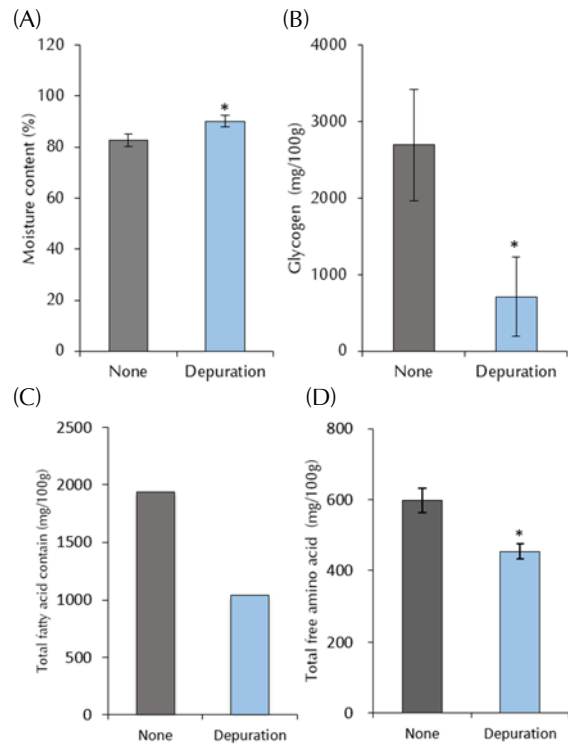
Table 2 Effects of different depuration times on the volatile basic nitrogen (VBN) and thiobarbituric acid value (TBARs) in local shelled oysters

Depuration time (hr)	VBN ^{&} (mg/100g)	TBARs (μg/g)
None	4.81±0.72 ^{ab}	5.13±0.09 ^e
24	4.60±0.0 ^a	3.66±0.06 ^b
48	7.58±1.15 ^d	3.51±0.05 ^a
72	5.69±0.0 ^c	4.36±0.09 ^d
96	5.69±0.0 ^c	4.31±0.06 ^d
120	5.42±0.38 ^{bc}	3.85±0.03 ^c

Note: An ampersand (&) denotes the legal limit outlined in the Ministry of Health and Welfare's Sanitation Standard for Foods to be Eaten Raw, which states that the limit of volatile basic nitrogen level in fish and shellfishes to be eaten raw shall not exceed 15 mg per 100 g. Values are expressed as mean ± standard deviation (n=3) and as wet basis. A different superscript letter denotes a significant difference ($p < 0.05$).

針對長時間淨化牡蠣影響牡蠣的營養成分及風味，Ruano (2012) 研究證實淨化 72 hr 的牡蠣，雖然在品質指數（清肉乾重/殼體積）無顯著差異 ($p < 0.05$)，然而卻減少 20.8% 總脂質量，其中 n3-多元不飽和脂肪酸更劇烈減少 27.3%；Bi *et al.* (2023) 的研究亦指出，太平洋牡蠣在淨化初期時，不同溫度的調降速率會影響牡蠣中肝醣、pH 值、脂肪酸及游離胺基酸含量。因此為了解國產牡蠣在淨化過程是否會影響其品質與風味，將未淨化及淨化 72 hr 的帶殼牡蠣，剝殼取肉後分析其含水量、肝醣、總脂肪酸及游離胺基酸等，結果如 Fig. 3 所示，未淨化組牡蠣中含水量、肝醣、脂肪酸總量及游離胺基酸總量分別為 $82.7 \pm 2.3\%$ 、 $2,694.6 \pm 727$ mg/100g、 $1,940$ mg/100g 及 598.2 ± 34 mg/100g，然淨化 72 hr 之牡蠣則分別為 $90.2 \pm 2.3\%$ 、 713.2 ± 515 mg/100g、 $1,040$ mg/100g 及 453.7 ± 21 mg/100g，顯示淨化處理對牡蠣組織中的含水量顯著增加 8.3% ($p < 0.05$)，然而肝醣量、脂肪酸總量及游離胺基酸總量則分別降低 73.5% ($p < 0.05$)、46.4% 及 24.2% ($p < 0.05$)。Barrento *et al.* (2013) 探討運輸環境對貝類品質的影響，將採收後貝類冰藏 48 hr 再經 22 hr 運輸，其重量損失達 11.8 -

14.2%，但冰藏後先經淨化處理的貝類，再運輸後重量損失為 2.7 - 7.4%，因此推測本試驗之牡蠣於實驗前，可能因運輸過程長時間處於離水環境，導致水分散失，在經過淨化處理則有助於牡蠣組織中含水量回復。

**Fig. 3** Effects of 72-hr depuration on (A) moisture content, (B) glycogen level, (C) total fatty acid level, and (D) total free amino acid level in oysters. The asterisk denotes a significant difference between the depuration and non-depuration groups ($p < 0.05$).

在淨化處理對牡蠣肝醣含量的影響，Bi *et al.* (2023) 由太平洋牡蠣的無水保存實驗中發現，在淨化期間，每小時降溫 1°C 的牡蠣相較於每小時降溫 16°C ，在無水儲存 3 天後，牡蠣的活存率及體內肝醣濃度，分別從 100% 降低至 71% 及 16.3 mg/100g 降低至 7.7 mg/100g，顯示牡蠣淨化時劇烈的溫度變動將顯著影響牡蠣的活存率及肝醣消耗。二枚貝類的體組成的差異大致可歸類為幾個主要因素：(1) 不同貝種之間的生物學特性、飼料營養差異以及不同貝類對過濾和排出不同食源材料的特徵；(2) 貝類品質及數量；(3) 貝類性成熟的狀態以及 (4) 研究中所收集貝類

樣本產地來源的不同 (Ruano *et al.*, 2012)，皆是造成體組成差異的原因，這些差異主要反應在肝醣和脂質的含量上。Bi *et al.* (2021) 指出貝類能量主要以肝醣的形式儲存，當貝類受到外在環境的壓力時，用於提供能量的肝醣，可能快速被消耗 (Anacleto *et al.*, 2015)。Ivanina *et al.* (2013) 的研究顯示在饑餓或劇烈變動環境中，牡蠣為了要適應環境中壓力的變化，會快速分解其肌肉和肝臟的肝醣轉化成血醣以供能量所需。此外，肝醣可在缺氧環境下行無氧分解代謝產生能量，這對牡蠣處於離水或低溫、氧環境中，長時間閉殼可藉由肝醣來維持基礎能量的生理代謝 (Patrick *et al.*, 2006)，大量的肝醣可以在短時間內被快速消耗，並在適當的環境中恢復 (Berthelin *et al.*, 2000)。另外，隨著牡蠣收穫的產季肥滿度的不同，白色組織及閉殼肌中肝醣的含量最高可達牡蠣乾重的 20 – 40%，肝醣是貢獻牡蠣食用時特殊口感與甜味的主要成分 (Liu *et al.*, 2021)，而牡蠣生殖腺發育的週期及排精、排卵前後，也是影響牡蠣組織中肝醣含量變異的關鍵因素 (Li *et al.*, 2006)。研究曾比較葡萄牙牡蠣及熊本牡蠣 (*Crassostrea sikamea*)，發現肝醣含量與牡蠣的風味有關，含量較高的牡蠣其風味常被評估為「甜」或「豐富」 (Murata *et al.*, 2020; Qin *et al.*, 2020)；阿拉斯加養殖的牡蠣 (Oliveira *et al.*, 2006) 和三倍體牡蠣 (Hong *et al.*, 2002) 也都曾被敘明因含有較高的肝醣含量所以可貢獻更好的牡蠣風味。本研究中，未淨化處理的牡蠣肝醣濃度 2,694.6 mg/100g 顯著高於淨化處理後的 713.2mg/100g，降低了 73.5% 肝醣含量 (Fig. 3B)，這可能是因為牡蠣在長時間 (72 hr) 低溫淨化後，牡蠣部分肝醣快速的被消耗掉，與 Barrento *et al.* (2000) 及 Bi *et al.* (2023) 的研究相符。

探討淨化處理對牡蠣脂肪酸組成之影響，結果顯示，牡蠣雖屬低脂水產品，但其不飽和脂肪酸的比例較高，尤其是多元不飽和脂肪酸、DHA 和 EPA (Fuhrmann *et al.*, 2018)。在本實驗中，牡蠣組織中主要的脂肪酸組成包含 Myristic acid (C14:0)、Palmitic acid (C16:1)、Stearic acid (C18:0)、Oleic acid (C18:1)、 α -Linoleic acid (α -C18:3, ω 3)、Arachidic acid (C20:4, ω 6)、Eicosapentaenoic acid

(C20:5, ω 3)、Docosahexaenoic acid (C22:6, ω 3) 等八種 (Table 3)；無論是未淨化或淨化處理之牡蠣樣本，多元不飽和脂肪酸與飽和脂肪酸的比值分別為 0.91 及 1.02，皆高於 FAO 建議攝取理想 Σ PUFA/ Σ SFA 值高於 0.4 的標準 (FAO, 2022)。而淨化組 (72 hr) 牡蠣中單元不飽和脂肪酸含量 (MUFA)、多元不飽和脂肪酸含量 (PUFA) 及飽和脂肪酸含量 (SFA) 分別為 110 mg/100g、470 mg/100g 及 460 mg/100g (Table 3)，相較於未淨化處理組 (220 mg/100g、820 mg/100g 及 900 mg/100g)，分別降低了 50.0%、42.7% 及 48.9%，總脂肪酸含量也降低了 46.4%，顯示淨化過程可能會導致牡蠣組織中總脂肪減少，與 Qiu *et al.* (2020) 研究相似。Huang *et al.* (2014) 指出脂質降解產生游離脂肪酸是造成食材風味轉化的原因之一，而不飽和脂肪酸降解後生成不飽和醛、酮及醇類會是導致水產品魚腥味及油耗味的主要關鍵 (Ding *et al.*, 2020)，先前在不同淨化處理時間對帶殼牡蠣脂質氧化的分析中，我們也發現淨化處理 24 – 120 hr，各組牡蠣組織中脂質氧化產物 (TBARs) 含量皆低於未淨化組，Hammer and Schieberle (2013) 指出氧化的多元不飽和脂肪酸在氣味分子中常被認為是形成魚腥味 (Fishy) 的來源之一，這意謂在本研究中淨化後的牡蠣也可能較沒有魚腥味。Ruano *et al.* (2012) 的研究探討葡萄牙牡蠣、紫殼菜蛤 (*Mytilus edulis*)、歐洲鳥尾蛤 (*Cerastoderma edule*) 及皺紋淺蜆 (*Venerupis pullastra*) 等，在長時間的淨化過程中對這些二枚貝類脂肪酸含量之變化，結果發現淨化過程禁食與總脂肪酸含量下降及各種脂肪酸不同程度的降解呈顯著相關性，並且在 72 hr 淨化實驗期間，禁食的貝類會因飢餓產生能量消耗及腸道中內容物的排空，導致體內脂肪酸大幅下降，實驗中貽貝、鳥尾蛤、淺蜆及牡蠣組織總脂肪酸含量分別減少 10.8、19.8、24.6 及 24.7%，其中又以牡蠣脂肪酸含量下降的幅度最劇。在我們的實驗中同樣以葡萄牙牡蠣進行 72 hr 淨化處理，相較於未淨化處理組，在總脂肪酸含量減少 46% (Fig. 3C)，表示淨化導致牡蠣脂肪酸含量的減少與 Ruano (2012) 的實驗一致；Ruano 也進一步指出，貝類脂肪酸含量在淨化過程減少的程度並非取決於組織中原有

Table 3 Effects of depuration for 72 hrs on fatty acid composition in oyster meat

Fatty acid	Composition of fatty acid (mg/100g)*	
	None	Depuration
Butyric acid (C 4:0)	ND.	ND.
Caproic acid (C 6:0)	ND.	ND.
Caprylic acid (C 8:0)	ND.	ND.
Capric acid (C 10:0)	ND.	ND.
Undecanoic acid (C 11:0)	ND.	ND.
Lauric acid (C 12:0)	ND.	ND.
Tridecanoic acid (C 13:0)	ND.	ND.
Myristic acid (C 14:0)	120	50
Myristic acid (C 14:1)	ND.	ND.
Pentadecanoic acid (C 15:0)	ND.	ND.
cis-10-Pentadecanoic acid (C 15:1)	ND.	ND.
Palmitic acid (C 16:1)	640	330
Palmitoleic acid (C 16:1)	ND.	ND.
Margaric acid (C 17:0)	ND.	ND.
cis-10-Heptadecenoic acid (C 17:1)	ND.	ND.
Stearic acid (C 18:0)	140	80
Oleic acid (C 18:1)	220	110
Linoleic acid (C 18:2) (ω 6)	ND.	20
α -Linoleic acid (α -C 18:3) (ω 3)	110	60
g-Linolenic acid (g-C18:3) (ω 6)	ND.	ND.
Conjugated Linoleic acid (C 18:2 con)	ND.	ND.
Arachidic acid (C 20:0)	ND.	ND.
Gadoleic acid (C 20:1)	ND.	ND.
Eicosadienoic acid (C 20:2) (ω 6)	ND.	ND.
cis-8, 11, 14-Eicosadienoic acid (C 20:3) (ω 6)	ND.	ND.
cis-11, 14, 17-Eicosadienoic acid (C 20:3) (ω 3)	ND.	ND.
Arachidic acid (C 20:4) (ω 6)	90	60
Arachidic acid (C 20:4) (ω 3)	ND.	ND.
Eicosapentaenoic acid (C 20:6) (ω 3)	390	200
Heneicosanoic acid (C 21:0)	ND.	ND.
Behenic acid (C 22:0)	ND.	ND.
Erucic acid (C 22:1)	ND.	ND.
Docosadienoic acid (C 22:2) (ω 6)	ND.	ND.
Docosatetraenoic acid (C 22:4) (ω 6)	ND.	ND.
Docosapentanoic acid (C 22:5) (ω 6)	ND.	ND.
Docosapentanoic acid (C 22:5) (ω 3)	ND.	ND.
Docosahexaenoic acid (C 22:6) (ω 3)	230	130
Tricosanoic acid (C 23:0)	ND.	ND.
Lignoceric acid, (C 24:0)	ND.	ND.
Nervonic acid (C 24:1)	ND.	ND.
Monounsaturated fatty acid (MUFA)	220	110
Polyunsaturated fatty acid (PUFA)	820	470
Saturated fatty acid (SFA)	900	460

*Values expressed as mean (n=3)

Table 4 Effects of depuration for 72 hrs on free amino acid composition in raw or cooked oyster meat

Free amino acid	Contents (mg/100g, wet basis)*			
	Raw		Cooked	
	None	Depuration	None	Depuration
Alanine (Ala)	146.08±9.13 ^c	102.17±5.48 ^b	69.10±4.79 ^a	117.48±4.17 ^b
Glycine (Gly)	153.30±10.35 ^d	107.79±5.39 ^b	133.69±5.41 ^c	72.30±2.41 ^a
Valine (Val)	6.32±0.42 ^c	5.42±0.17 ^c	2.47±0.47 ^a	4.34±0.45 ^b
Leucine (Leu)	6.47±0.59 ^c	6.07±0.25 ^c	2.67±0.36 ^a	4.77±0.48 ^b
Isoleucine (Ile)	4.38±0.15 ^c	4.41±0.03 ^c	1.56±0.05 ^a	2.87±0.03 ^b
Proline (Pro)	116.04±1.20 ^c	85.52±2.49 ^b	45.15±2.91 ^a	90.61±8.94 ^b
Methionine (Met)	5.12±0.03 ^d	4.48±0.25 ^c	2.20±0.06 ^a	3.04±0.16 ^b
Serine (Ser)	7.72±0.69 ^b	11.84±1.35 ^c	2.61±0.26 ^a	13.28±1.52 ^c
Threonine (Thr)	6.54±0.05 ^d	4.76±0.04 ^c	2.72±0.19 ^a	3.83±0.23 ^b
Phenylalanine (Phe)	5.44±0.12 ^c	5.24±0.30 ^c	2.83±0.06 ^a	3.55±0.16 ^b
Aspartic acid (Asp)	13.09±2.25 ^a	27.17±2.78 ^b	14.76±1.58 ^a	23.56±4.59 ^b
Hydroxyproline (Hyp)	2.23±0.15	1.71±0.08	1.04±0.06	2.18±0.39
Cysteine (Cys)	1.68±0.11 ^d	1.41±0.06 ^c	1.04±0.05 ^b	0.76±0.11 ^a
Glutamic acid (Glu)	91.14±8.52 ^b	57.37±4.18 ^a	69.07±3.46 ^a	64.54±8.98 ^a
Asparagine (Asn)	0.79±0.02 ^a	1.22±0.05 ^a	0.85±0.02 ^a	5.18±0.36 ^b
Lysine (Lys)	5.64±0.22 ^b	4.87±0.34 ^{ab}	4.35±0.11 ^a	5.55±0.38 ^b
Glutamine (Glu)	13.66±0.24	12.84±0.48	5.67±0.22	36.88±5.33
Histidine (His)	3.63±0.23 ^{bc}	2.78±0.56 ^b	1.46±0.10 ^a	4.05±0.50 ^c
Tyrosine (Tyr)	7.16±0.56 ^c	5.25±0.13 ^b	3.37±0.16 ^a	4.62±0.10 ^b
Tryptophan (Trp)	1.83±0.01 ^c	1.32±0.03 ^b	1.19±0.04 ^{ab}	1.14±0.08 ^a
Umami amino acid	104.23±10.74	84.54±6.86	83.83±5.02	88.09±13.53
Sweet amino acid	429.68±21.30 ^c	312.08±14.52 ^b	253.27±12.50 ^a	297.50±4.34 ^b
Bitter amino acid	47.66±2.02 ^d	41.25±1.29 ^c	23.15±1.02 ^a	34.69±0.76 ^b
Total free amino acid	598.24±33.91 ^c	453.65±21.46 ^b	367.82±17.85 ^a	464.52±20.86 ^b

*Values expressed as mean ± standard deviation (n=3), wet basis. A different superscript letter denotes a significant difference ($p < 0.05$).

儲存脂質含量的多寡，而是取決於不同物種在周遭環境下維持每日生理所需能量的消耗，這或許可以解釋本實驗的淨化過程中牡蠣體組成脂肪酸大幅下滑的原因。

低脂、高蛋白的牡蠣除了營養豐富外，因其多元化的呈味胺基酸組成賦予風味，又常被稱為「海中的牛奶」（陳等, 2019）。因此為了解淨化過程是否影響牡蠣風味，將未淨化及淨化（72 hr）之牡蠣，分析生鮮及煮熟下，其游離胺基酸組成之差異（Table 4），由於牡蠣的風味係開殼取肉後直接食用或加熱後食用，因此在本實驗中係以濕重為基準。由 Table 4 結果可發現，淨化前、後

生牡蠣中總游離胺基酸、鮮味胺基酸（Glu + Asp, umami amino acid）、甜味胺基酸（Ser + Gly + Ala, sweet amino acid）及苦味胺基酸（His + Arg + Tyr + Val + Met + Ile + Leu + Phe, bitter amino acid）含量分別由 598.2、104.2、429.7 及 47.7 mg/100g 降至 453.7、84.5、312.1 及 41.3 mg/100g，顯示：淨化處理 72 hr 顯著降低生鮮牡蠣中總游離胺基酸（ $p < 0.05$ ）及相關呈味胺基酸含量（ $p < 0.05$ ）；然而在牡蠣蒸煮後，淨化前、後熟牡蠣總游離胺基酸、鮮味胺基酸、甜味胺基酸及苦味胺基酸含量分別為 367.8、83.8、253.3、23.2 mg/100g 及 464.5、88.1、297.5 及 34.7 mg/100g，顯示淨

Table 5 Effect of depuration on free amino acid taste activity value in raw or cooked oyster meat

Free amino acid	Taste threshold (mg/100 mL)*	Taste activity value (TAV)#			
		Raw		Cooked	
		None	Depuration	None	Depuration
Alanine	106.92	1.37	0.96	0.65	1.10
Glycine	187.75	0.82	0.57	0.71	0.39
Valine	351.45	0.02	0.02	0.01	0.01
Leucine	144.32	0.04	0.04	0.02	0.03
Isoleucine	131.2	0.03	0.03	0.01	0.02
Proline	287.75	0.40	0.30	0.16	0.31
Methionine	74.6	0.07	0.06	0.03	0.04
Serine	262.75	0.03	0.05	0.01	0.05
Threonine	416.85	0.02	0.01	0.01	0.01
Phenylalanine	743.4	0.01	0.01	0.00	0.00
Aspartic acid	53.24	0.25	0.51	0.28	0.44
Cysteine	24.22	0.07	0.06	0.04	0.03
Glutamic acid	16.18	5.63	3.55	4.27	3.99
Asparagine	53.24	0.01	0.02	0.02	0.10
Lysine	1169.6	0.00	0.00	0.00	0.00
Histidine	200	0.02	0.01	0.01	0.02
Tyrosine	72.44	0.10	0.07	0.05	0.06
Tryptophan	90.5	0.02	0.01	0.01	0.01

Notes: An asterisk (*) denotes the taste threshold values (mg/100 mL) of free amino acids in water (Jin *et al.*, 2023), a number sign (#) denotes that the moisture content was converted to mg/100g, wet basis when calculating the taste activity value (TAV).

化處理有助於減少加工蒸煮後牡蠣呈味胺基酸的流失 ($p < 0.05$)。Bi *et al.* (2023) 的研究指出，太平洋牡蠣在循環系統中以不同冷卻速率進行淨化研究，結果指出，當淨化時以較緩慢速率進行冷卻時，有助於牡蠣保留較高含量的鮮味胺基酸及甜味胺基酸，顯示溫度的變動的速率是影響淨化後牡蠣呈味胺基酸含量的關鍵因子。由於本研究取得之牡蠣在進入實驗前歷經收穫及低溫冷鏈運輸等環境變動，以致較難掌握牡蠣採收後即時淨化及慢速低溫冷卻等條件，建議未來在考量淨化場域設置地點時，應盡量靠近原牡蠣產地，同時在實施牡蠣淨化處理程序時應以緩速降溫方式進行，以避免呈味胺基酸的流失。Lin *et al.* (2019) 及 Bi *et al.* (2021) 指出游離胺基酸是水產品鮮味主要的來源之一，然而由於人的味覺對不

同的游離胺基酸有不同的敏感度，因此我們參考了 Jin *et al.* (2023) 分析不同游離胺基酸味覺閾值 (taste activity value, TAV) 的研究，當 $TAV > 1$ 時代表成分為貢獻牡蠣味覺的主要因子。在本實驗中，分析牡蠣 17 種游離胺基酸中僅麩胺酸在淨化前、後的生牡蠣或熟牡蠣中 $TAV > 1$ ，顯示麩胺酸為牡蠣主要貢獻鮮味的物質 (Table 5)，而未淨化生牡蠣或淨化後的熟牡蠣，丙胺酸的 $TAV > 1$ ，則為貢獻牡蠣甜味的主要物質。

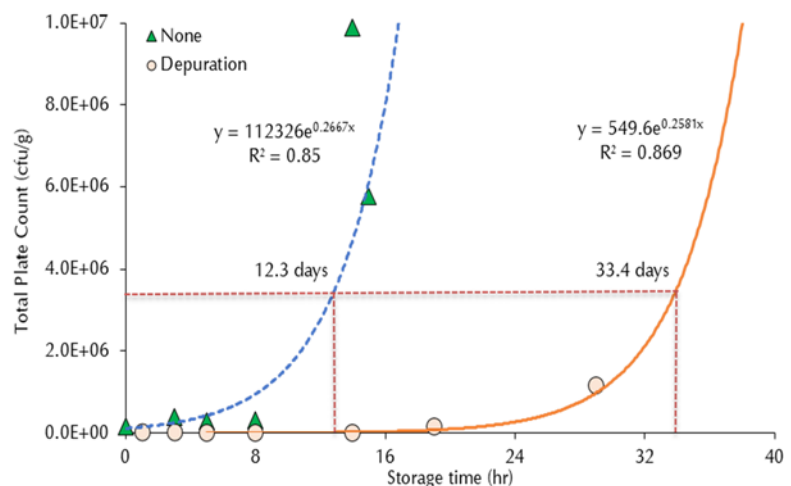
探討淨化處理對殼牡蠣冷藏期間衛生安全及鮮度之影響，分別將未淨化或淨化 72 hr 之帶殼牡蠣，於 4°C 冷藏下分別於儲存第 0、3、5、8、14、15、19 及 29 天採樣分析微生物及鮮度指標。結果如 Table 6 所示，未淨化處理之帶殼牡蠣其生菌數由 1.63×10^5 cfu/g，隨儲藏時間至第

Table 6 Variations in microbial indicators during the specified storage times with depuration (72 hrs) or without depuration

Storage time at 4°C (days)	TPC (cfu/g)		<i>Vibrio parahaemolyticus</i> (MPN/g)		Coliform		Salmonella	
	None	Depuration	None	Depuration	None	Depuration	None	Depuration
0	1.63×10 ⁵	3.60×10 ⁴	>1100	240	ND.	ND.	ND.	ND.
3	3.87×10 ⁵	1.62×10 ⁴	>1101	75	ND.	ND.	ND.	ND.
5	2.93×10 ⁵	4.27×10 ⁴	>1102	210	ND.	ND.	TSI+	ND.
8	3.10×10 ⁵	3.93×10 ⁴	290	210	ND.	ND.	ND.	TSI+
14	9.90×10 ⁶	4.23×10 ⁴	6.1	210	ND.	ND.	TSI+	ND.
15	5.77×10 ⁶	-	20	-	ND.	-	ND.	-
19	-	1.55×10 ⁵	-	11	-	ND.	-	ND.
29	-	1.16×10 ⁶	-	150	-	ND.	-	ND.

Notes: ND: Not detected; TSI+: The representative sample had a positive triple sugar iron agar for salmonella test result, performed according to the Taiwan Food and Drug Administration's testing method No. 1021951187 for salmonella.

Fig. 4 Variations in total plate counts between the depurated and non-depurated oysters during storage at 4°C. According to the Food and Drug Administration, Ministry of Health and Welfare's Sanitation Standard for the Microorganism in Frozen Foods, the total plate count limit for frozen fishes and shellfishes shall not exceed 3.0×10^6 cfu/g. The non-depurated oysters can be stored under refrigeration at 4°C for 12.3 days, the 72-hr depurated oysters can be stored under refrigeration at 4°C for up to 33.4 days.



14 天增為 9.90×10^6 cfu/g，已超過冷凍食品類微生物衛生標準 (TPC < 3×10^6 cfu/g)。然淨化處理之帶殼牡蠣，於 4°C 儲藏至 14 天，其 TPC 由 3.60×10^4 cfu/g 微幅增至 4.23×10^4 cfu/g，第 19 天達 1.5×10^5 cfu/g，第 29 天達 1.16×10^6 cfu/g，都尚符合法規限量標準。進一步以指數回歸計算冷凍食品類微生物限量標準 (TPC < 3×10^6 cfu/g) 之可儲藏天數，在未淨化組與淨化 72 hr 帶殼牡蠣分別約為 12.3 天及 33.4 天 (Fig. 4)，顯示淨化處理不僅能降低牡蠣組織中的微生物含量，還能有效延長 4°C 冷藏下之帶殼牡蠣的架售期。

另比較未淨化或淨化 72 hr 之帶殼牡蠣於 4°C 冷藏期間，其清肉中 VBN 及 TBARs 的含量，

結果如 Fig. 5 所示，於 4°C 冷藏期間，未淨化處理之牡蠣其 VBN 隨著儲存時間而顯著增加 ($p < 0.05$)，從第 0 天 4.81 ± 0.51 mg/100g 增加至第 14 天的 8.39 ± 0.00 mg/100g。然淨化處理組之牡蠣組織，其 VBN 含量至第 8 天內未隨儲藏時間增加而顯著改變，且其值皆顯著低於未淨化組 ($p < 0.05$)。另牡蠣組織中 TBARs 分析結果顯示，淨化處理組皆顯示較低的 TBARs 值亦皆顯著低於未淨化組 ($p < 0.05$)，雖先前微生物指標顯示在冷藏 14 天後，未淨化之國產牡蠣生菌數已超出冷凍食品類微生物衛生標準 (3.0×10^6 cfu/g)，但在實驗 14 天的儲藏期間，無論是未淨化或淨化處理之牡蠣 VBN 含量皆仍低於 15 mg/100g (生

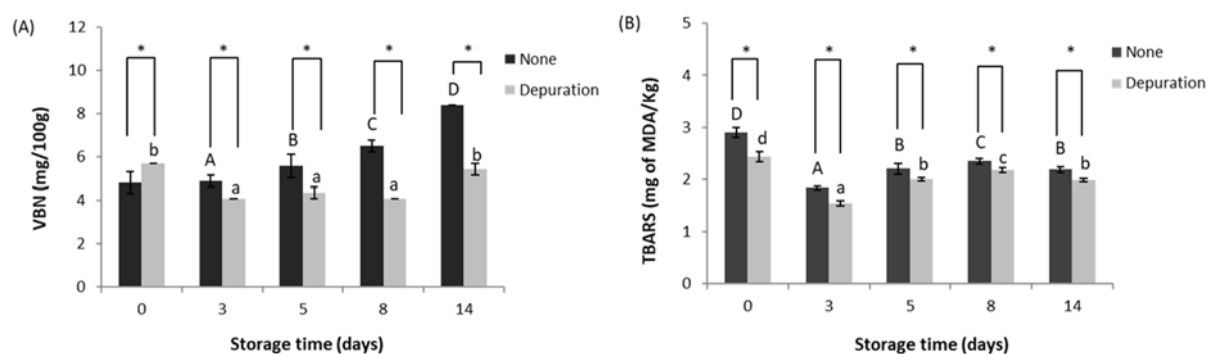


Fig. 5 Variations in oyster freshness during specified storage times at 4°C, including (A) VBN and (B) TBARS. The asterisk denotes a significant difference between the depuration and non-depuration groups ($p<0.05$). The different letter cases indicate significant differences ($p<0.05$) between the storage times.

鮮即食水產品之標準)。顯示冷藏環境下之國產帶殼牡蠣應以生菌數做為評估衛生安全之指標，而淨化處理則有助於提升帶殼牡蠣之鮮度品質，並降低氧化脂質的含量。

結 論

本篇研究利用 60 L 的小型淨化系統，成功確效淨化後牡蠣不僅可降低病原性微生物的污染，更提高了收穫後牡蠣的衛生安全，雖然淨化處理恐會影響生牡蠣的風味，但有助於減少蒸煮後熟牡蠣呈味胺基酸的流失，建議未來仍可發展收穫後的營養強化技術來改善帶殼牡蠣的風味品質。另一方面，由於淨化後牡蠣品質的提升也讓未淨化牡蠣 12.3 天的冷藏保存期限得以延長至 33.4 天，增加產品的架售期。另，在生鮮即食國產牡蠣的產品開發上，由於不同產地來源、收穫季節、存活率、牡蠣大小、淨化條件及包裝型態等，皆會影響收穫後或淨化後牡蠣的衛生安全及品質，因此建議設立批次淨化管理的條件，確實做好每一批淨化牡蠣出貨前的品質管控，方能確保國產牡蠣產業的永續發展。

謝 辭

本研究承蒙南市區漁會提供實驗所需單體牡蠣、本所海水養殖研究中心同仁協助採樣、水產養殖組協助牡蠣淨化系統之設置與潔淨海水之支援、國立臺灣海洋大學張正明老師指導研究設計，使工作得以順利推動，在此一併致謝。

參考文獻

- 侯明君, 陳莉臻, 蕭泉源 (2008) 臭氧處理對牡蠣肉化學組成及其衛生品質之影響. 宜蘭大學生物資源學刊, 4: 01-13.
- 陳岳川, 陳律祺, 陳銓汶, 龔淑仁, 鍾金水, 冼宜樂, 謝恆毅 (2019) 澎湖牡蠣養殖之概況. 水試專訓, 67: 45-49.
- 嘉義縣政府 (2016) 嘉義縣濱海觀光漁筏未來發展之初步構想. 嘉義縣政府 105 年度縣政人才培訓躍升計畫, 8 pp.
- 衛生福利部 (1999) 冰類衛生標準. 衛署食字第 88027006 號.
- 衛生福利部 (1992) 一般食品類衛生標準. 衛署食字第 8143635 號.
- 衛生福利部 (2013) 冷凍食品類衛生標準. 衛福部授食字第 1021350146 號.
- 衛生福利部 (2017) 食品微生物之檢驗方法-腸炎弧菌之檢驗. 衛授食字第 1061900803 號.
- 衛生福利部 (2021) 食品微生物之檢驗方法-大腸桿菌之檢驗. 衛授食字第 110190155 號.
- 衛生福利部 (2013) 食品微生物之檢驗方法-沙門氏桿菌之檢驗. 衛授食字第 1021951187 號.
- 衛生福利部 (2021) 修正水產品中揮發性鹽基態氮之檢驗方法. 衛授食字第 1101902415 號.
- 衛生福利部 (2013) 食品微生物之檢驗方法-生菌數之檢驗. 衛授食字第 1021950329 號.
- 衛生福利部 (2013) 食品中脂肪酸之檢驗方法. 衛授食字第 1021950978 號.
- Anacleto, P., A. L. Maulvault, M. L. Nunes, M. L. Carvalho, R. Rosa, and A. Marques (2015) Effects of depuration on metal levels and health status of bivalve mollusks. Food Control, 47: 493-501.
- Bagenda, D. K., S. Nishikawa, H. Kita, Y. Inai, S. Erai, M. Kato and H. Kasai (2018) Impact of feeding on oyster depuration efficacy under conditions of high

- salinity and low temperature. *Aquaculture*, 500: 135-140.
- Barrento, S., I. Lupatsch, I. Keay and S. Shields (2013) Protocol on Best Practice Handling and Transportation of Live Mussels. Technical Report supported by Project No. 243452, FP7-SME Mussels Alive, 59 pp.
- Battistini, R., C. Masotti, V. Listorti, E. Suffredini, C. Maurella, A. Garcia-Vozmediano, E. Costa, F. Iacona, M. Orlandi, C. Ercolini and L. Serracca (2021) Norovirus persistence in oyster to prolonged commercial purification. *Pathogens*, 10(8): 944.
- Berthelin, C., K. Kellner and M. Mathieu (2000) Storage metabolism in the Pacific oyster (*Crassostrea gigas*) in relation to summer mortalities and reproductive cycle (west coast of France). *Comp. Biochem. Physiol. B, Biochem. Mol. Biol.*, 125: 359-369.
- Bi, S., C. Xue, Y. Wen, X. Du, Q. Xue, Z. Li and H. Liu (2023) Effects of cooling rates during depuration on the quality of Pacific oysters (*Crassostrea gigas*) at anhydrous preservation stage. *Food Chem. X.*, 17: 100606.
- Bi, S., L. Chen, Z. Sun, Y. Wen, Q. Xue, C. Xue, Z. Li, C. Sun, Z. Wei and H. Liu (2021) Investigating influence of aquaculture seawater with different salinities on non-volatile taste-active compounds in Pacific oyster (*Crassostrea gigas*). *J. of Food Meas. Charact.*, 15: 2078-2087.
- Birkeland, S., A. M. B. Rørå, T. Skåra and B. Bjerkeng (2004) Effects of cold smoking procedures and raw material characteristics on product yield and quality parameters of cold smoked Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) fillets. *Food Res. Int.*, 37(3): 273-286.
- Campbell, V. M., A. Chouljenko and S. G. Hall (2022) Depuration of live oysters to reduce *Vibrio parahaemolyticus* and *Vibrio vulnificus*: A review of ecology and processing parameters. *Compr. Rev. Food Sci. Food Saf.*, 21: 3480-3506.
- Center for Disease Control and Prevention (2013) *Vibrio parahaemolyticus* illnesses associated with consumption of shellfish, United States, 2013. Available from: <https://www.cdc.gov/vibrio/investigations/vibriop-09-13/index.html>
- Chen, C., H. Yu and Q. Li (2021) Integrated proteomic and transcriptomic analysis of gonads reveal disruption of germ cell proliferation and division, and energy storage in glycogen in sterile triploid pacific oysters (*Crassostrea gigas*). *Cells*, 10(10): 2668.
- Chen, L., H. Shi, X. Zhang, C. Xue, C. Nie, F. Yang, Y. Shao, Y. Xue, H. Zhang and Z. Li (2022) The effect of depuration salinity on the survival, nutritional composition, biochemical responses and proteome of Pacific oyster (*Crassostrea gigas*) during anhydrous living-preservation. *Food Control*, 138: 108977.
- Chinnadurai, S., K. Elavarasan, V. Geethalakshmi, V. Kripa and K. S. Mohamed (2021) Evaluation of static and flow-through depuration system on depuration of naturally contaminated farmed edible oyster *Crassostrea madrasensis* (preston, 1916). *Aquaculture*, 545: 737141.
- Davidson V. J., A. Ravel, T. N. Nguyen, A. Fazil, J. M. Ruzante (2011) Food-specific attribution of selected gastrointestinal illnesses: estimates from a Canadian expert elicitation survey. *Foodborne Pathog. Dis.*, 8: 983-995.
- DePaola, A., L. H. Hopkins, J. T. Peeler, B. Wentz and R. M. McPhearson (1990) Incidence of *Vibrio parahaemolyticus* in U.S. coastal waters and oysters. *Appl. Environ. Microbiol.*, 56(8): 2299-302.
- Ding, A., M. Zhu, X. Qian, L. Shi, H. Huang, G. Xiong, J. Wang and L. Wang (2020) Effect of fatty acids on the flavor formation of fish sauce. *LWT*, 134: 110259.
- Drake, S. L., A. DePaola and L. A. Jaykus (2007) An overview of *Vibrio vulnificus* and *Vibrio parahaemolyticus*. *Compr. Rev. Food Sci. Food Saf.*, 6: 120-144.
- Espinoza, L. A. (2013) Development of safe and ready to eat frozen oyster products using microwave steam-venting technology. Doctoral Dissertations, Louisiana State Univ. Agric. Mech. Coll., 1339.
- European Commission (2004) Commission Regulation of the European parliament and of the council of 29 April 2004 laying down specific hygiene rules for food of animal origin, 853/2004/EC. Official J., L 139, 30.4.2004.
- European Commission (2004) Commission regulation of the European parliament and of the council of 29 April 2004 laying down specific rule for organization of official controls on products of animal origin intended for human consumption, 854/2004/EC. Official J., L 139, 30.4.2004.
- European Food Safety Authority (2021) The European Union One Health 2019 Zoonoses Report. EFSA J., 19 (2): e06406.
- European Food Safety Authority (2006) Analysis of the European baseline survey of norovirus in oysters EFSA J. 17: e05762.
- Food and Agriculture Organization of the United Nations (2022) The State of World Fisheries and Aquaculture 2022. Towards Blue. Transformation.

- Rome. Available from: <https://www.fao.org/3/cc0461en/cc0461en.pdf>.
- Fuhrmann, M., L. Delisle, B. Petton, C. Corporeau and F. Pernet (2018) Metabolism of the Pacific oyster, *Crassostrea gigas*, is influenced by salinity and modulates survival to the Ostreid herpesvirus OsHV-1. *Biol. Open*, 7(2): bio028134.
- Han, B. C., W. C. Jeng, Y. N. Tsai and M. S. Jeng (1992) Depuration of copper and zinc by green oyster and blue mussels of Taiwan. *Environ. Pollut.*, 82: 93-97.
- Hassard, F., J. H. Sharp, H. Taft, L. LeVay, J. P. Harris, J. E. McDonald, K. Tuson, J. Wilson, D. L. Jones and S. K. Malham (2017) Critical review on the public health impact of norovirus contamination in shellfish and the environment: a UK perspective. *Food Environ. Virol.*, 9(2): 1-19.
- Havelaar, A. H., A. V. Galindo, D. Kurowicka and R. M. Cooke (2008) Attribution of foodborne pathogens using structured expert elicitation. *Foodborne Pathog. Dis.*, 5: 649-659.
- Hine, L. W. (1986) Lewis Hine: photographs of child labor in the new South (Kemp, Jr. ed.). Univ. Miss. Press. Jackson, MS 108 pp.
- Hong, L., W. Xiaoxue, Z. Bin and T. Haiqing (2002) Comparison of taste components between triploid and diploid oyster. *J. Ocean Univ. China*, 1(1): 55-58.
- Huang, Y., H. Li, T. Huang, F. Li and J. Sun (2014) Lipolysis and lipid oxidation during processing of Chinese traditional smoke-cured bacon. *Food Chem.*, 149: 31-39.
- Hunt, K., B. Doré, S. Keaveney, A. Rupnik and F. Butler (2023) A quantitative exposure assessment model for norovirus in oyster harvested from a classified production area. *Microb. Risk Anal.*, 23: 100247.
- Ivanina, A. V., G. H. Dickinson, O. B. Matoo, R. Bagwe, A. Dickinson, E. Beniash and I. M. Sokolova (2013) Interactive effects of elevated temperature and CO₂ levels on energy metabolism and biomineralization of marine bivalves *Crassostrea virginica* and *Mercenaria mercenaria*. *Comp. Biochem. Physiol. Part A, Mol. Integr. Physiol.*, 166(1): 101-111.
- Jiménez-Martín E., J. Ruiz, T. Pérez-Palacios, A. Silva and T. Antequera (2012) Gas chromatography-mass spectrometry method for the determination of free amino acids as their dimethyl-tert-butylsilyl (TBDMS) derivatives in animal source food. *J. Agric. Food Chem.*, 60(10): 2456-63.
- Jin W, X. Fan, C. Jiang, Y. Liu, K. Zhu, X. Miao and P. Jiang (2023) Characterization of non-volatile and volatile flavor profiles of *Coregonus peled* meat cooked by different methods. *Food Chem. X*, 17: 100584.
- Laffon, B., T. Rábade, E. Pásaro and J. Méndez (2006) Monitoring of the impact of Prestige oil spill on *Mytilus galloprovincialis* from Galician coast. *Environ. Int.*, 32: 342-348.
- Larsen, A., F. Rikard, W. Walton and C. Arias (2015) Temperature effect on high salinity depuration of *Vibrio vulnificus* and *Vibrio parahaemolyticus* from the Eastern oyster (*Crassostrea virginica*). *Int. J. Food Microbiol.*, 192: 66.
- Lee, R., A. Lovatelli and L. Ababouch (2008) Bivalve depuration: Fundamental and practical aspects. FAO Fisheries Technical PAPER 511. Available from: <https://www.fao.org/documents/card/ft/c/91ea7200-8fdb-55ce-857b-a5816e157609>
- Li, Q., W. Liu, K. Shirasu, W. Chen and S. Jiang (2006) Reproductive cycle and biochemical composition of the Zhe oyster *Crassostrea plicatula* Gmelin in an eastern coastal bay of China. *Aquaculture*, 261(2): 752-759.
- Lin, H., X. Qin, C. Zhang, Y. Huang, J. Gao, L. Liu, B. Luo and F. Yang (2019) Comparative analysis of nutritional components and flavor characteristics of cultivated oyster from different coastal areas of China. *South China Fish. Sci.*, 15: 110-120.
- Liu, S., H. Xu, S. Jian, Q. Xue and Z. Lin (2021) Molecular basis of taste and micronutrient content in Kumamoto Oysters (*Crassostrea sikamea*) and Portuguese Oysters (*Crassostrea angulata*) From Xiangshan Bay. *Front. Physiol.*, 12: 713736.
- McMenemy, P., A. Kleczkowski and N. G. H. Taylor (2023) Modeling norovirus dynamics within oysters emphasizes potential food safety issues associated with current testing & depuration protocols. *Food Microbiol.*, 116: 104363.
- Mead, P., L. Slutsker, V. Dietz, L. McCaig, J. Bresee, C. Shapiro, P. Griffin and R. Tauxe (1999) Food-related illness and death in the United States. *Emerg. Infect. Dis.*, 5(5): 607-625.
- Ming, Z., Y. C. Su, C. M. DeWitt and J. Waite-Cusic (2018) Impact of feeding status on the efficacy of depuration for decontaminating *Vibrio parahaemolyticus* in Pacific oysters (*Crassostrea gigas*). *J. Aquat. Food Prod. Technol.*, 27(5): 627-634.
- Murata, Y., K. Touhata and R. Miwa (2020) Correlation of extractive components and body index with

- taste in oyster *Crassostrea gigas* brands. Fish. Sci., 86: 561–572.
- Oliveira, A. C. M., B. Himelbloom, C. A. Crapo, C. Vorholt, Q. Fong and R. RaLonade (2006) Quality of Alaskan Maricultured Oysters (*Crassostrea gigas*): A One-Year Survey. Food Sci., 71(9): 532-543.
- Onada, O. A. and O. S. Ogunola (2016) Ecological consequences of oyster culture. J. Fish. Livest. Prod., 4: 4.
- Patrick, S., N. Faury and P. Goulletquer (2006) Seasonal changes in carbohydrate metabolism and its relationship with summer mortality of Pacific oyster *Crassostrea gigas* (Thunberg) in Marennes-Oléron bay (France). Aquaculture, 252 (2-4): 328-338.
- Pouillot, R., M. Smith, J. M. V. Doren, A. Catford, J. Holtzman, K. R. Calci, R. Edwards, G. Goblick, C. Roberts, J. Stobo, J. White, J. Woods, A. DePaola, E. Buenaventura and W. Burkhardt (2021) Risk assessment of norovirus illness from consumption of raw oysters in the United States and Canada. Risk Anal., 42(2): 344-369.
- Qin, Y., X. Li, Z. Noor, J. Li, Z. Zhou, H. Ma, S. Xiao, R. Mo, Y. Zhang and Z. Yu (2020) A comparative analysis of the growth, survival and reproduction of *Crassostrea hongkongensis*, *Crassostrea ariakensis*, and their diploid and triploid hybrids. Aquaculture, 520: 734946.
- Qiu, J., Y. Ji, Y. Fang, M. Zhao, S. Wang, Q. Ai and A. Li (2020) Response of fatty acids and lipid metabolism enzymes during accumulation, depuration and esterification of diarrhetic shellfish toxins in mussels (*Mytilus galloprovincialis*). Ecotoxicol. Environ. Saf., 206: 111223.
- Ruano, F., P. Ramos, M. Quaresma, N. M. Bandarra and I. P. Fonseca (2012) Evolution of fatty acid profile and Condition Index in mollusc bivalves submitted to different depuration periods. Rev. Port. Ciênc. Vet., 107(581-582): 75-84.
- Sead, K., A. Ismail, H. B. Omar and M. Kusnan (2004) Heavy metal depuration in flat tree oysters *Isognomon alatus* under field and laboratory conditions. Toxicol. Environ. Chem., 86(1): 171-179.
- Tsai, H. S., Y. T. Hsiao, Y. M. Weng and J. M. Liu (2023) Sustainable utilization technology for improving the freshness of oysters-development of alkaline electrolysis seawater depuration system. Sustainability, 15: 785.
- U.S. Food and Drug Administration (2018) The danger of eating contaminated raw oysters. FDA. Available from: <https://www.fda.gov/food/health-educators/danger-eating-contaminated-raw-oysters>.
- Wang, D., S. Yu, W. Chen, D. Zhang and X. Shi (2010) Enumeration of *Vibrio parahaemolyticus* in oyster tissues following artificial contamination and depuration. Lett. Appl. Microbiol., 51(1): 104-1.

Effects of Depuration on Food Hygiene, Flavor, and Fresh-keeping in Local Fresh Whole-shelled Oysters (*Magallana angulata*)

Yi-Feng Kao^{1*}, Cheng-Ying Ho¹, Li-Ti Zhang², Yen-Wei Chang¹, Chi-Zing Chou¹,
Chun-Ta Yeh¹ and Ming-Chih Fang²

¹Seafood Technology Division, Fisheries Research Institute

²Department of Food Science, National Taiwan Ocean University

ABSTRACT

The local oyster farming industry in Taiwan is located along the coastal waters of Changhua, Yunlin, Chiayi, and Tainan. The oysters here are plump thanks to the nutrients, salts, and abundant microalgae growth. However, frequent contamination from human activities also directly or indirectly triggers food hygiene concerns. To improve the quality and safety of local oysters for consumption, a 60-liter small depuration system consisting of an ultraviolet light system, a cooling system, and a circulating filter tank was installed in-house to purify the oysters. The effects of depuration on oyster hygiene, flavor, and fresh-keeping of the were investigated. The results showed that total plate count (TPC) and microbial count of *Vibrio parahaemolyticus* in the control (non-depuration) group was 1.63×10^5 cfu/g and >1100 MPN/g, respectively, both the coliform and Salmonella levels were negative. A 96-hr depuration treatment promoted local oysters' to meet the legal hygiene standard of raw seafood for human consumption (TPC $<1.0 \times 10^5$ cfu/g and *Vibrio parahaemolyticus* <100 MPN/g). In the flavor analysis, the glycogen, total fatty acids, and total free amino acids of the oysters had decreased by 73.5% ($p < 0.05$), 46.4%, and 24.2% ($p < 0.05$), respectively after 72-hr depuration. Moreover, the levels of umami and sweet and bitter amino acids on the raw oyster from the depuration group decreased by 18.9%, 27.4%, and 13.4%, respectively. However, the depuration significantly improved the loss of amino acids ($p < 0.05$) from oyster cooking. Comparing the hygiene and safety of the non-depurated and depurated oysters under refrigeration, the oysters met the legal standard for edible seafood for 12.3 and 33.4 days, respectively. Depuration treatment marked an improved oyster quality for raw consumption, better flavor retention in the cooked oysters, as well as extended refrigerated shelf life, thus increasing the sales revenue of locally produced oysters.

Key words: local oyster, depuration, food hygiene and safety, flavor, fresh-keeping

*Correspondence: 199 Hou-lh Road, Keelung 202, Taiwan. TEL: (02)2462-2101 ext. 2837 ; FAX: (02)2462-3306; E-mail: yfkao@mail.tfrin.gov.tw

臺灣文蛤主產區養殖戶對產業問題點的觀點分析

楊清閔

農業部水產試驗所沿近海漁業生物研究中心

摘 要

臺灣水產養殖面積最大的文蛤產業，惟受到極端氣候等複合因素影響，文蛤產量起伏不定，甚至發生大量死亡現象，讓養殖戶陷入經營困境。為探討近年文蛤養殖產業所面臨的問題點，並掌握不同產區間養殖戶所重視問題項目與需求的差異性，本研究採用現地訪問與問卷的調查方式，針對不同產區文蛤養殖戶，進行對產業問題點的重要性排序。結果除獲知各文蛤主產區養殖戶對產業問題項目的重要性排序之外，現今各縣市的文蛤養殖戶所面臨 3 大最重要共同問題項目為：極端氣候、異貝入侵與水質惡化。其次較多養殖戶重視項目為：引排水系統、空氣污染與蛤苗品質。其中極端氣候中又以夏季高溫及強降雨最令文蛤養殖戶憂心。本研究直接且貼近產業的調查結果，將可提供產官學研界尋求提早因應文蛤養殖風險與提高育成率的思考方向，強化產業面對風險的韌性，以文蛤養殖戶實際需求面向，探求解決產業困境的參考依據。

關鍵詞：文蛤、文蛤養殖、產業困境、問卷調查、漁民觀點分析

前 言

臺灣文蛤 (*Meretrix taiwanica*) 於 2023 年被正名 (Hsiao and Chuang, 2023) 確認為臺灣本土種，2022 年臺灣文蛤的總產量約 54,112 mt，產值約達 46 億元，養殖上游的臺灣文蛤人工種苗於同年生產約 78 億粒，產值約達 2 億元，是我國水產養殖的十大物種之一。臺灣文蛤的魚塢養殖模式是國際上獨一無二的，其他國家養殖類似文蛤的雙殼貝都以潮間帶養殖為主 (周, 2017)，我國於 1980 年代由水產試驗所臺西分所進行文蛤的種貝催熟、採卵、授精、孵化、育苗等試驗，成功開發文蛤人工繁殖技術，並推廣至民間業者 (楊與丁, 1984; 劉等, 2001; 周, 2017)，由於臺灣文蛤人工育苗技術的突破與成熟，人工種苗能夠量產並取代天然海苗，讓臺灣西海岸魚塢養殖臺灣文蛤的面積迅速增加，2022 年養殖面積達 9,095 ha，是全臺灣水產養殖面積最大的物種。主產地面積與產量佔全國比例依序為雲林 (面積佔 37%、產量佔 58%)、臺南 (面積佔 36%、產量 24%)、彰化 (18%、14%)、嘉義 (10%、3%) (Table 1)。我國的文蛤消

費習慣仍以生鮮 (活體) 流通及國內消費為主，由於保鮮與包裝技術仍在逐步提升當中，生鮮的活體文蛤較少外銷至國外。臺灣文蛤養殖的產業鏈涉及文蛤育苗、中間育成、魚塢整池相關、飼料、常用添加菌與石灰等耗材、工作用魚苗、成蛤養成、採收工作、文蛤販運商、商品加工與流通等等，亦是我國養殖面積最大物種，相關周邊產業繁多，是臺灣極為重要的經濟貝類養殖產業。

臺灣文蛤養殖主產區為彰化縣、雲林縣、嘉義縣、臺南市等四縣市為主，但臺灣文蛤養殖主產區的特徵並不相同 (Table 2)，包括養殖密度、魚塢池土底質、池水鹽度及使用地下水 (伏流水) 的可否等等。彰化縣魚塢大多為沙質底為主，質地鬆且排水性佳，臺南市魚塢則以沙壤土底為主，質地較黏 (李等, 2019)，較重要的區分是養殖池水的鹽度與地下水使用，依文蛤養殖戶說明，大致可將文蛤養殖分為南、北二區。嘉義布袋以南區域的「南區」，因地下水的品質較不適合文蛤養殖，養殖池水的鹽度超過 33 psu，往南至臺南市的文蛤池其池水鹽度更高，南區的文蛤於夏天會長大但冬天的成長較慢；嘉義布袋 (不含布袋) 以北的「北區」，地下水較清澈可用，養殖戶易於調整池水鹽度於 20 - 25 psu 間，並增加文蛤養殖的密度，故北區放養文蛤的密度可達 1,500,000 inds/ha。由於

*通訊作者 / 高雄市前鎮區漁港北三路 6 號；TEL: (07) 821-8103 ext. 222; E-mail: cmyang@mail.tfrin.gov.tw

Table 1 Cultivation area, output, and output value in major hard clam cultivation counties/cities across Taiwan in 2022

Cultivation county/city	Cultivation area (ha)	Output (mt)	Output value (Billion NTD)	Cultivation area ratio (%)	Output ratio (%)	Output value ratio (%)
Tainan	3,282	13,143	2.0	36	24	44
Changhua	1,600	7,489	0.5	18	14	11
Yunlin	3,345	31,655	1.8	37	58	39
Chiayi	868	1,821	0.3	10	3	6
All	9,095	54,112	4.6			

Table 2 Characteristics of major hard clam cultivation counties/cities in Taiwan

	Changhua	Yunlin	Chiayi	Tainan	Source
Fry stocking density (Million inds/ha)	1.6-2.0 1.35 1.63	1.3-1.5 1.16 1.22	1.0-1.2 1.16 1.16	0.5-0.8 0.9 0.92	1. Chen <i>et al.</i> (2019) 2. Chang (2019) 3. Huang (2019)
Culture survival rate	1. 40-90% 2. 33%	1. 60-80% 2. 50%	1. 75-95% 2. 47%	1. 75-100% 2. 56%	1. Qin (2018) 2. Huang (2019)
Output per hectare 1. (Thousand tkg/ha) 2. (kg/ha)	1. 25-40 2. 12,880	1. 20-30 2. 14,638	1. 15-20 2. 17611	1. 15 2. 8976	1. Qin (2018); Chen <i>et al.</i> (2019) 2. Huang (2019)
Pond salinity (psu)	15-25	15-25	30	30-40; 30-50	1. Qin and Liu (2019) 2. Deng <i>et al.</i> (2019)
Culture period (months)	13	12	11	10	Huang (2019)
Clam seedlings size (inds/kg)	1,440 (864 inds/tkg)	1,475 (885 inds/tkg)	1,217 (730 inds/tkg)	1,243 (746 inds/tkg)	Huang (2019)
Mud and sand substrates	Sandy bottom, good drainage, loose texture	Sandy bottom, sand mixed with mud	Sand mixed with mud; Sandy loam bottom not used	Sandy loam bottom, sticky texture	1. Qin and Liu (2019) 2. Lee <i>et al.</i> (2019); 3. clam farmers
Groundwater	Use groundwater to adjust salinity	Use groundwater to adjust salinity	southwards of Budai, Chiayi to Tainan	Not used	Clam farmers

北區的養殖文蛤適應較低鹽度池水，需慎防梅雨季及夏季的颱風與強降雨造成池水鹽度過低而影響文蛤生長 (何與周, 2017)。此外，北區的養殖文蛤夏天較不成長，冬天則會成長較快，夏天天氣熱易死亡，北區的高密度養殖文蛤池中較常看見水車設備。

然而，近年來文蛤養殖面積不斷地增加，但產量卻未見增加 (Table 3)，2016 年年初的霸王級寒流、5 月的高溫炎熱，以及 9 月的莫蘭蒂颱風與強降雨的天候事件，加上養殖環境惡化或疾病感染的養殖管理因素，讓 2016 年的產量急降，許多文蛤養殖戶也反應 2016 年後，文蛤養殖經常出現成長緩慢及大量死亡情形，育成率下降，已威脅我國文蛤養殖產業的穩定生產。臺灣文蛤養殖產業面

臨著許多問題，劉等 (2001) 提及文蛤種苗生產面臨問題為繁殖業者僅重視生產，卻疏於品質管控，以及浮游苗所需微細藻類無法穩定供應；文蛤養殖面臨問題為季節性或偶發性大量死亡，養殖至某一階段後，成長緩滯，甚或有零星死亡之情形，以及養殖至接近上市階段，成長變緩且殼肉變少。黃等 (2004) 文蛤大量死亡原因：1. 水質不穩定；2. 氣溫較高；3. 投餌不當。遭遇非季節性嚴重死亡，有隨水道之水流方向蔓延擴散的趨勢，即不慎注入有文蛤死亡池之排水引發，或是投餌過量與工作魚病變 (何與周, 2017)。另有推測是大環境已有變化，養殖環境中溫度與鹽度反覆變化，水質與底質惡化，文蛤種苗基因弱化、疾病、環境污染等 (周與葉, 2013; 周, 2017)。楊等 (2018) 提及夏季

的高溫脅迫導致貝類大量死亡。夏季連續性高溫事件，容易導致陸上養殖魚塢的池水發生水質變化，進而導致魚類死亡 (Ahmed *et al.*, 2019) 例如彰化縣芳苑鄉公所 (2017) 以主旨「轉知有關近期臺灣西南沿海養殖文蛤死亡率偏高情事」公函，說明養殖文蛤大量死亡原因，包括 1. 夏季水溫過高、池水溶氧量不足。2. 投餌量過多，導致殘餌沉積池底造成底質惡化。3. 池水有機物增高，引致細菌大量繁殖。判定結果為水質重度污染及池底有機物過多造成細菌大量繁殖感染文蛤而發生大量死亡。陳 (2022) 於 2022 年深入臺灣養殖文蛤產區的雲林縣現場，文蛤養殖戶將近年文蛤大量死亡歸因為人工苗、水質差、異貝入侵、極端氣候等四大原因。莊 (2013) 提及之文蛤產業出現嚴重的供銷問題，黃 (2013) 提及文蛤養殖經營困難處，第一污染事件層出、第二養殖成本提高、第三環境氣候變化、第四資金不足、第五利被剝削。歐陽 (2023) 對雲彰地區文蛤養殖產業提及業者主要以「外來貝類附著」及「收成率不佳或減少」之問題佔比最高，其次為「養殖環境汙染」與「養殖管理技術需再提升」等等問題。楊 (2024) 走訪彰雲嘉南文蛤養殖主產區調查，文蛤養殖戶反映計有 20 個問題點，包括環境面的極端氣候與水質；技術面的蛤苗品質、異貝入侵、技術取得不易；產銷面的市場萎縮與盤商收購；以及政策面的引排水未分離與綠電搶地等項目。由而可知，複合性因素已衝擊到國產文蛤養殖產業的穩定生產。

臺灣文蛤養殖是我國極重要的經濟貝類產業，現在不僅產量未提升，新聞媒體亦常報導文蛤斃死情形，暴雨造成水質鹽度和溫度瞬間變化，極端氣候的高溫及底土劣化等複合因素，導致文蛤養殖的育成率降低，養殖戶陷入經營的困境。文蛤養殖產業所面臨到的問題，除了有產業共同面臨的困境外，隨各地方產區的環境特性與養殖特徵不同，文蛤養殖戶各別產區對產業問題項目的觀點亦有相異之處，以往研究成果僅探討產業總體所面臨的問題點，並未能掌握不同產區間養殖戶所重視的問題點與需求性。故本研究為能獲得不同文蛤養殖產區所面臨問題點的差異性，利用問卷調查方式，針對養殖戶進行對產業問題點的重要性排序，可得出不同文蛤養殖產區現今所面臨問題點的權重值及排序。所得結果期能符合不同產區養殖戶的需求性，尋求提早因應養殖風險與

提高育成率的方法，強化文蛤養殖產業面對風險的韌性，並能夠提供產官學研對文蛤養殖戶實際需求的瞭解，探求解決產業困境的參考依據。

Table 3 Hard clam cultivation area, output, and output value in 2015 to 2022 in Taiwan

Year	Cultivation area (ha)	Output (thousand mt)	Output value (billion NTD)
2015	7,302	64	4.5
2016	7,171	38	3.0
2017	8,104	52	5.0
2018	8,641	49	4.2
2019	8,736	50	4.4
2020	9,166	52	4.2
2021	8,984	53	4.0
2022	9,095	54	4.6

材料與方法

本研究在界定文蛤養殖戶面對產業問題點時，採用楊 (2024) 走訪彰雲嘉南文蛤養殖主產區調查結果，將文蛤養殖戶反映之 20 個問題點，製作養殖戶反映面臨產業問題點之說明頁 (Table 4)，並將產業問題點的關鍵字建立「文蛤養殖產業面臨的困境與問題」幾何平均數與排序次序重心權重法 (SMARTER-ROC) 問卷。研究方法參考楊 (2023)「臺灣牡蠣主產區養殖戶所面臨困境與問題點之研究」一文，受測文蛤養殖戶先閱讀產業問題點之說明頁後，詢問是否有沒記錄到的問題項目，或者欲增加的問題項目，受測養殖戶在勾選問卷時仍可一邊參考說明頁，一邊詢問研究人員再進行答題。幾何平均數問卷之各因子重要性的評估分數 9 分為非常重要、5 分為普通、1 分為非常不重要，以及不知道等選項，由受測者對選項進行評分。黃等 (2004) 認為幾何平均數作為決策群體篩選評估準則的依據，以收統計上不偏的效果，避免極端值的影響，如此可使準則的選取效果更佳。張 (1998) 指出，幾何平均數比較可以代表決策群體中大部分專家、主管的意見，可以篩選出較具客觀性與公平性的準則。因此以幾何平均數代表決策群體對評價因子的共識，不需經多次反覆問卷，減少受訪專家不耐多次問卷的干擾，一般認為重要

性程度大於 70%可視為重要，而本研究將群體門檻值設定為 7.5 分以上為重視因子，5.5 分以下為不重要，用以更能明顯顯示與比較文蛤養殖不同產區對問題點的差異性。

在檢視受測問卷時可發現許多因子被評分為 9 分，此時並無法顯示出受測者心中最重要的因子，且為避免忽略養殖戶的意見，故在幾何平均數問卷結束後，進行排序次序重心權重法的提問，此法仍經由 Edwards and Barron (1994)改良簡易多屬性評等技術(SMART) (Edwards, 1977)並提出一套新的給定權重的方法，利用排序的資訊來推導權重值。在於排序在前與排序在後的屬性其權重值的差異拉得較大，也就是更加強調排序在前的屬性。依據簡 (2005)，排序次序重心權重法決定權重的關鍵只在於權重的順序及屬性的個數。若所有屬性排序為 $R_1, R_2, \dots, R_n$ ，相對之權重依序為 $w_1, w_2, \dots, w_n$ ，且滿足 $1 > w_1 \geq w_2 \geq \dots \geq w_n > 0$ ，則排序次序重心權重法的權重為式如下：

$$w_i = \frac{1}{n} \sum_{k=i}^n \frac{1}{k}$$

本研究對受測養殖戶進行排序次序重心權重法 (SMARTER-ROC) 問卷時，請受測者選出問題點中至關重要的項目 5 項並進行排序 (rank:1, 2, 3, 4, 5) 給予權重值 (weight: 0.4567, 0.2567, 0.1567, 0.09, 0.04)。

統整各產區受測者總合並進行權重比值計算，則可得出各產區受測者對議題問題點項目的重要性排序。問題點項目於二項問卷中，幾何平均數群體門檻值超過 7.5 分且重要性排序問卷在前 5 名者視為養殖戶共同認為產業面臨最大的問題點，而為避免忽略養殖戶的意見，問題點項目於二項問卷中達上述任一條件，亦註記在不同問卷時突顯重要性。此外，本研究以楊 (2024) 於 2023 年 5 - 9 月間進行的文蛤養殖產地訪查為基礎，於 2024 年 1 - 3 月再次進行產地訪查並同時進行問卷調查，受測者以臺灣文蛤養殖主產區的養殖產銷班班長或意見代表為主，共計彰化縣 11 人，雲林縣 13 人，嘉義縣 9 人，臺南市 14 人。

Table 4 Key industry concerns of hard clam farmers in major cultivation counties/cities across Taiwan

Keywords of the problems	Hard clam farmers' narratives
Aquaculture environment	
A1. Extreme weather (drought, heavy rainfall, high temperature, typhoon)	1. Fish farmers still follow the 24 solar terms for farming despite the mix-up of the seasons. 2. The weather changes rapidly and repeatedly, like high temperatures and heavy rainfall in summer, warm winters, and severe occasional cold snaps. 3. Typhoons and heavy rainfall bring in too much precipitation, which changes the salinity of the pond water, or causes dikes to collapse and increase the pond water's turbidity. 4. The severe cold snap of 2016 resulted in disappearing small fish and shrimp in the area, working milkfish freezing to death, and shifting environmental patterns that affected the water quality and reduced the breeding rate.
A2. Substrate degradation	1. Excessive baiting leads to organic matter deposition in the bottom of the pond, as well as Vibrio breeding and hypoxia in the water. 2. Hydrogen sulfide caused by pond bottom aging and deterioration is harmful to clams. 3. Incomplete pond preparation and sterilization.

Table 4 Continued

Key words of the problem	Brief description of the problem
A3. Serious air pollution	1. Industrial areas, factories and incinerators are located near the aquaculture areas, e.g., the Sixth Naphtha Cracking Plant, Taichung Thermal Power Plant, and Changhua Coastal Industrial Park emit air pollutants and black smoke. 2. Air pollution particles, pollutants, and dust entering the pond with rainwater causes the pond environment to turn bad, affecting the water quality and causing clam death.
A4. Deteriorating water quality	1. There are too many industrial areas, factories and incinerators. 2. There is wastewater discharge from livestock farms in the vicinity of the aquaculture area. 3. High water temperature and oxygen depletion in summer, poor algal production, or algal-toxicosis in winter. 4. Excessive nutrients in the bottom of the pond increases the levels of <i>Vibrio</i> and hydrogen sulfide.
Aspects of farming technologies	
B1. Quality of clam fry	1. Long-term farming may cause inbreeding and genetic narrowing concerns. 2. The existing clam fry has an unsatisfactory heat and salt tolerance. 3. Seasonal mix-up or early nursery rearing may weaken the clam fry.
B2. Slow clam growth	1. There are risks of prolonged culture period. 2. The hard clam growth rate is slower than ever. 3. The bait is insufficient due to the high culture density.
B3. Pond and fish farm management issues	1. The pondside management, disinfection, and pest removal measures are inadequate. 2. Pond inspections, water and algae observations, and emergency response measures. 3. Intelligent aquaculture is a complementary system that requires human intervention.
B4. Exotic shell species invasion	1. A lot of snails and filamentous algae invade the pond through fry or seawater. 2. It is difficult to remove exotic shellfish and peacock clams after they have entered the pond to compete with the clams.
B5. Excessive farming density	1. The density of clam farming in Changhua and Yunlin is too high, making it difficult to take care of the clams. 2. There is a need to increase the culture density because of the low profit and high labor cost. 3. Higher risks.
B6. Lack of research results and access to technology by fish farmers	1. There are many disaster relief subsidies but few research results, and it is not easy for fish farmers to access the technology, so they do not perceive that they have gained technical help from governmental organizations. 2. There is a need to educate the farmers about the proper use of photosynthetic bacteria, probiotics, <i>Bacillus subtilis</i>, and so on. 3. New shellfish species suitable for Taiwan's climate may be developed. 4. The Fisheries Research Institute's guidance measures need to be conveyed and exchanged on site with the farmers. 5. The farmers do not know what they need specifically.

Table 4 Continued

Key words of the problem	Brief description of the problem
Aspects of production and selling	
C1. Shrinking market, reduced demand	1. Stagnant sales, reduced market demand. 2. There seems to be an overproduction of clams as well as a sales-production imbalance, so clam wholesalers are reluctant to buy clams and farmers have to sell them at low prices or at a loss. 3. Young people dislike eating clams as it is troublesome to remove the sand.
C2. Low acquisition prices by wholesalers	1. The wholesalers are either lowering the price of clams or unwilling to buy clams. 2. The market is monopolized by a group of wholesalers. 3. It is very labor-intensive and inconvenient for full-time clam farmers to do their own production and marketing. 4. The consumers are affected by increased production and marketing costs due to the higher number of wholesalers and the declining sales channels.
C3. Production and marketing challenges	1. The procedures are complicated. The price remains the same but the intangible procedures and costs have increased, and farmers do not earn profits. 2. The farmers have to pay for their own production and marketing expenses and pay to undergo annual inspections and tests.
C4. High operating costs	1. Higher wages, increased cost of seedlings, rising cost of necessary materials, and higher cost of medicines and probiotics. 2. Regular harvesting increases labor costs, and the pond water needs to be changed, thus increasing the business risks. 3. Higher land lease rates due to competition from the green energy industry.
C5. Limited processing options	1. The most common way of clam consumption is eating them alive. 2. Although vacuum packaging and refrigeration extend the shelf life, the sales and distribution channels remain limited. 3. Processing options and clam preservation methods have not yet matured and require guidance.
Aspects of government policies	
D1. Labor and workforce shortage	1. An aging workforce. 2. Young people are leaving the farms due to shifting ecological and social landscapes. 3. Insufficient and expensive labor.
D2. Difficulty in receiving disaster subsidies	1. The natural disaster relief subsidies are too little. The procedure involves multiple inspections and surveys, and it is troublesome and difficult to provide evidence afterward. 2. The slow death of clams makes it difficult to identify the cause, and it is not cost-effective to maintain the clams in their original state. 3. The government should adopt a more realistic to analyze the clam conditions and engage with discussions with the farmers.
D3. Poor drainage systems and public water facilities	1. Lack of a proper drainage system as well as deteriorating public waterway facilities. 2. Lack of a high-quality water source. 3. The facilities cannot cater to the clam ponds because of their individual characteristics, and there is no localized aquaculture area.

Table 4 Continued

Key words of the problem	Brief description of the problem
D4. Land taken up by green power industry	1. Higher land rental rates as well as declining farming areas caused by competition from the green energy industry. 2. The solar energy systems cannot be installed at the aquaculture areas. 3. The contracting parties to the cooperation between the green power and the fishery industries are the fish farmers and private companies, so there is no official guarantee. The fish farmers are skeptical about the sustainability of the green power industry and its policies. 4. Successful cases of fishery and electricity symbiosis reported in the news may be fake and cannot be trusted. 5. The water may be polluted by the discharge from solar panel washing in fishery and electricity symbiosis projects.
D5. Complicated farm registration and administration	1. The registration procedure for aquaculture is troublesome. 2. It is complicated and troublesome to register the land use changes, inheritance, etc.

結 果

一、彰化縣

彰化縣的文蛤養殖主要分布伸港鄉至大城鄉等沿海鄉鎮，其中以芳苑鄉的漢寶、王功、永興養殖漁業生產區為主要養殖區域。依訪查得知，彰化縣的文蛤養殖密度為全國最高，約每公頃文蛤池放養 160 萬粒，高密度文蛤養殖常伴隨需要投入大量飼料進行餵食。而其魚塢土質屬於較鬆散的沙質底，排水性較高。此外，使用地下水調整養殖池鹽度，故其養殖池水的鹽度相較其他縣市低，彰化養殖戶偏好池水調整至 15 – 20 psu 左右，認為可利於文蛤攝食與成長。

依調查結果 (Fig. 1) 可知，彰化縣文蛤養殖戶共同認為產業面臨最大的問題點 4 項，以幾何平均數及該產區重要性排序表示，分別為 (A1) 極端氣候 (8.6, 1)、(A3) 空氣污染 (8.0, 2)、(A4) 水質惡化 (7.9, 5)、(B4) 異貝入侵 (7.7, 4)。另有 2 項問題點，(D3) 引排水系統 (8.5, 9) 及 (B1) 蛤苗品質 (6.9, 3) 在不同問卷時突顯重要性。共計 6 項為彰化縣文蛤養殖戶最關心的問題點。在 (A1) 極端氣候方面，由於夏季持續高溫易影響文蛤攝食、潛沙與生命力，其中的少數死亡則影響盤商收成意願，而雨水過多或強降雨易造成水質

鹽度和溫度瞬間變化，尤其彰化縣文蛤養殖為高密度且池水鹽度低，當強降雨發生且養殖戶應變不及時，文蛤易出現大量遲發性的開口死亡，或是池水泛濫與堤崩而混池。寒流則是影響文蛤池中的工作魚虱目魚的凍死，文蛤雖較不受影響，但易造成水質迅速惡化。在 (A3) 空氣污染方面，彰化縣文蛤養殖戶認為週邊魚塢受到工業區與焚化爐所排出的空污粒子影響大，包括彰濱、芳苑工業區與火力發電廠，鄰近雲林麥寮鄉工業區與六輕，加上縣內已具有 9 座焚化爐為全國最多，近期欲再增設 2 座而引發地方抗議。養殖戶認為空污影響陽光正常曬池及造成池水缺氧，雨後落塵易讓池水漂浮黑色灰渣，黑色灰渣入池導致水質惡化，大量斃死情形不斷發生。此外，新聞媒體記者周 (2024) 於 2024 年 3 月 27 報導「雲林空氣品質全臺最糟，環保局：降雨天數少、低風速所致」，張 (2024) 於 2024 年 3 月 20 日報導「瑞士空氣品質報告臺灣彰化最差，環部：已加強治理」。可說明近期的彰化與雲林的空氣品質確實不佳。在 (A4) 水質惡化方面，除空氣污染、工業廢水、畜牧用廢水均影響到水質惡化之外，夏天高溫與池中缺氧，造成藻類死亡，或是養殖戶投餌過多讓池底有機質累積，導致水質惡化，均易造成文蛤大量斃死。因此需每日巡池看水色，養殖戶採用添加益菌與石灰消毒的頻率也較南部

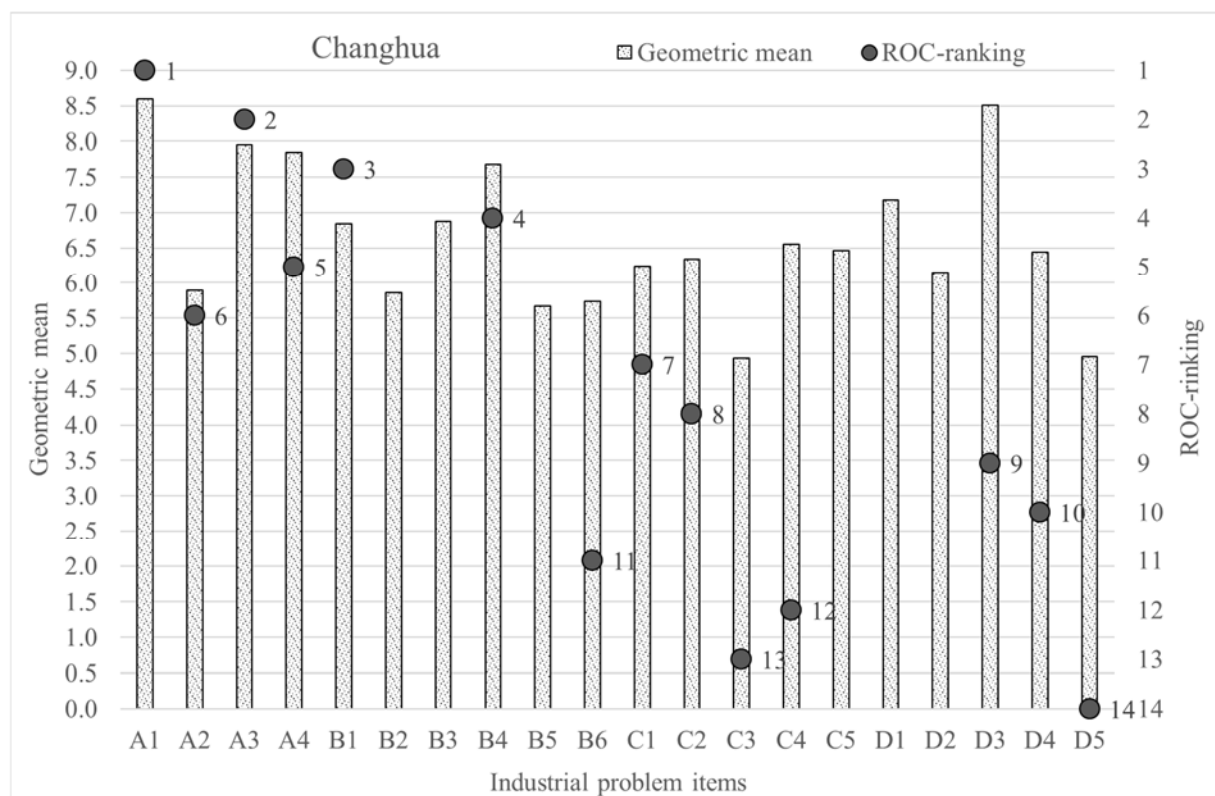


Fig. 1 Geometric means and ROC-rankings of industry problems perceived by hard clam farmers in Changhua (A1. Extreme weather, A2. Substrate degradation, A3. Serious air pollution, A4. Deteriorating water quality, B1. Quality of clam fry, B2. Slow clam growth, B3. Pond and fish farm management issues, B4. Exotic shell species invasion, B5. Excessive farming density, B6. Lack of research results, C1. Shrinking market, C2. Low acquisition prices by wholesalers, C3. Production and marketing challenges, C4. High operating costs, C5. Limited processing options; D1. Labor and workforce shortage, D2. Difficulty in receiving disaster subsidies, D3. Poor drainage systems, D4. Land taken up by green power industry, D5. Complicated registration).

文蛤池高。在 (B4) 異貝入侵方面，主要是俗稱「站桌子」的似殼菜蛤 (*Mytilopsis sallei*) 和孔雀蛤 (*Perna viridis*) 二種害貝，似殼菜蛤對文蛤育苗池為害最深，5–6 月間浮游幼生隨海水入侵後變態為附著苗，掉落池底後生出足絲纏繞數個文蛤，影響成長甚至死亡，收穫文蛤苗發現該害貝時，分開耗費大量人力成本，且會被拒絕購買 (周與葉, 2006)。孔雀蛤因進食力強易與文蛤爭食，造成其成長率下滑與增加飼料成本，在文蛤池成長的孔雀蛤殼長僅 2–3 cm 左右不具有食用價值 (董與方, 2020)。此外，為避免忽略養殖戶的意見，另有 (D3) 引排水系統及 (B1) 蛤苗品質項目顯示重要，在 (D3) 引排水系統方面，臺灣的文蛤養殖區域的進排水系統大都不甚完善 (陳等, 2019)，例如彰化縣芳苑鄉的養殖區進排水路因護岸土堤老舊塌陷，常遇雨便淹水，影響文蛤收成。

而養殖戶常用排水溝管線抽海水，水質不穩定而造成文蛤育成率不佳，或是文蛤池的進排水系統並未分離，若不慎引進鄰池有死蛤的廢水，則會導致區域性死蛤擴散的趨勢。(B1) 蛤苗品質方面，由於彰化縣屬於高密度養殖，文蛤苗佔成本比較其他縣市高，購買文蛤苗成本約佔總成本 30% 以上 (黃, 2019)。養殖戶常認為文蛤苗品質關係著育成率高低，強健的種苗能夠讓育成率較高，但對文蛤種苗有近親繁殖與基因窄化的疑慮，以及現在氣候與節氣的混亂，讓最佳繁育種苗的時期錯亂，而可能導致現在的文蛤苗耐熱、耐鹽性不佳。另一方面，彰化縣養殖戶認為所列問題點項目中，(C3) 產銷履歷難及 (D5) 養殖登記與行政複雜此 2 項並不重要，表示並未受到這二項因子影響。

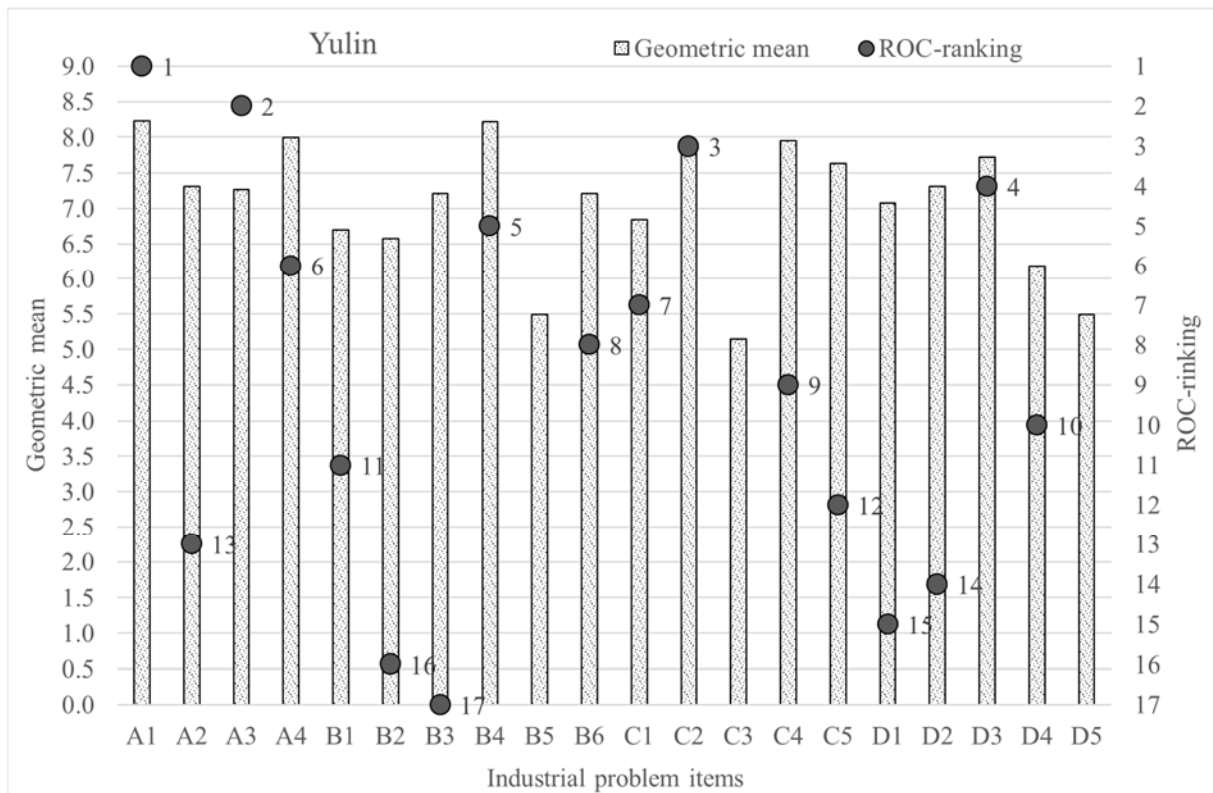


Fig. 2 Geometric means and ROC-rankings of industry problems perceived by hard clam farmers in Yunlin (A1. Extreme weather, A2. Substrate degradation, A3. Serious air pollution, A4. Deteriorating water quality, B1. Quality of clam fry, B2. Slow clam growth, B3. Pond and fish farm management issues, B4. Exotic shell species invasion, B5. Excessive farming density, B6. Lack of research results, C1. Shrinking market, C2. Low acquisition prices by wholesalers, C3. Production and marketing challenges, C4. High operating costs, C5. Limited processing options; D1. Labor and workforce shortage, D2. Difficulty in receiving disaster subsidies, D3. Poor drainage systems, D4. Land taken by green power industry, D5. Complicated registration).

二、雲林縣

雲林縣的文蛤養殖主要分布從麥寮鄉、臺西鄉、四湖鄉到口湖鄉等沿海鄉鎮，其中以臺西鄉及口湖鄉的下崙、台子、下湖口、新港北等地區為主要養殖區域。雲林縣文蛤產量及養殖面積為全國最大，文蛤養殖池鹽度在 15 – 25 psu 左右，與彰化同為高密度文蛤養殖區，約每公頃文蛤池放養 120 – 150 萬粒以上。養殖用文蛤苗的繁殖集中於下崙養殖漁業生產區，幾乎全國文蛤苗由雲林縣所供應，也因此文蛤養殖自然發展出分工養殖模式，由文蛤繁殖場租用文蛤種貝（約 35 inds/tkg）進行受精與孵化，至育苗場放養 1 – 2 月的文蛤黑砂苗（2,400 – 3,300 inds/tkg），或 3 – 6 月的 3 分苗（800 – 1,000 inds/tkg），養成到 500 inds/tkg，再出

售至大蛤養殖場，至 40 – 50 inds/tkg 體型後銷售到市場。

依調查結果 (Fig. 2) 可知，雲林縣文蛤養殖戶共同認為產業面臨最大的問題點 4 項，以幾何平均數及該產區重要性排序表示，分別為：(A1) 極端氣候 (8.2, 1)、(B4) 異貝入侵 (8.2, 5)、(C2) 盤商收購價低 (7.9, 3) 及 (D3) 引排水系統 (7.7, 4)；另有 4 項問題點：(A4) 水質惡化 (8.0, 6)、(A3) 空氣污染 (7.3, 2)、(C4) 經營成本高 (8.0, 9)、(C5) 加工選項少 (7.6, 12) 在不同問卷時突顯重要性。共計 8 項為雲林縣文蛤養殖戶最關心的問題點，其中 (A1) 極端氣候、(A3) 空氣污染、(A4) 水質惡化、(B4) 異貝入侵、(D3) 引排水系統，共 5 項與彰化縣文蛤養殖的問題點相同而不再贅述，可參考前述說明，雲林縣與彰化縣均屬於文蛤高密

度養殖且可用淡水調節池水鹽度，在養殖特徵上較相似。在其他重要問題點方面，(C2) 盤商收購價低，不僅雲林縣文蛤養殖戶，各縣市許多養殖戶認為文蛤收購的盤商自組群組，會聯合壟斷市場及壓低收購價格，或不願收購的情形。莊 (2013) 提及之文蛤產業出現嚴重的供銷問題。黃等 (2018) 提及文蛤於生產者端有 99.69% 產量銷售給販運商，販運商對於文蛤之需求量與價格有強勢的決定權，文蛤養殖經營屬於「小農經營方式」，產地起運前需要有集貨的必要，所以販運商在運銷途徑掌握主導權。而生產者不懂市場供需而議價空間縮小，販運商有控制價格的能力。張 (2021) 提及文蛤是以家庭式的小規模生產，且產品多由販運商收購，再經層層通路到消費者，使得養殖生產者未能獲得滿意的利潤，影響年輕族群加入貝類養殖產業之意願，不利產業的永續發展。在 (C4) 經營成本高方面，近年來通貨膨脹堆高了文蛤養殖戶的經營成本，包括種苗、資材、勞力、消毒與用菌、土地租金因光電與風電能源產業進駐沿海地區而上漲，養殖戶會以昔日情形相比較，在文蛤育成率未提升且易死亡的情形下，深感文蛤養殖經營成本提高且獲利不佳。此外，雖政府推行智能養殖或節能設備，但一般養殖戶並不會去購買自身不熟悉的設備，需不斷推廣及強調益處，並經養殖戶實測，才有辦法施行，其重要考量仍在於成本。在 (C5) 加工選項少方面，由於雲林縣文蛤產量最大，養殖戶對文蛤銷售與通路較為憂心，而我國的文蛤消費習慣仍以生鮮（活體）流通及國內消費為主，為能減少文蛤養殖風險與增加銷售管道，認為文蛤利用加工技術，可開發即食與健康食品，以及延長保存期限，不僅可開拓外國市場，亦可提升生產量能並逆轉市場需求量減少的情形，但現在的文蛤加工選項過少且養殖戶個體的能力有限。另一方面，雲林縣養殖戶認為所列問題點項目中，以 (C3) 產銷履歷難、(D5) 養殖登記與行政複雜、(B5) 養殖密度過高，此 3 項並非重要問題點。

三、嘉義縣

嘉義縣的文蛤養殖主要可分為二部分，嘉義北邊東石鄉的三家與塭港，以及嘉義南邊之布袋

的好美、東好美、新塭、新岑等區域，地下水的採用界線即以嘉義布袋以南區域的文蛤養殖不採用。嘉義縣文蛤養殖的面積與產量在 4 縣市中為最少。但依黃 (2019) 指出，臺灣平均文蛤產量 13,891 kg/ha，嘉義地區產量最高為 17,611 kg/ha，臺南地區最低為 8,976 kg/ha，與放養初期之總放養量有關。同報告中也顯示嘉義的種苗成本佔總成本 42.8%，為 4 縣市中最高。

依調查結果 (Fig. 3) 可知，嘉義縣文蛤養殖戶共同認為產業面臨最大的問題點 4 項，以幾何平均數及該產區重要性排序表示，分別為 (A1) 極端氣候 (8.2, 1)、(B1) 蛤苗品質 (7.7, 5)、(A2) 底質劣化 (7.6, 4)、(B4) 異貝入侵 (7.6, 2)；另有 2 項問題點，(D3) 引排水系統 (7.8, 8)、(A4) 水質惡化 (7.3, 3) 在不同問卷時突顯重要性。共計 6 項為嘉義縣文蛤養殖戶最關心的問題點，其中 (A1) 極端氣候、(B1) 蛤苗品質、(B4) 異貝入侵、(D3) 引排水系統、(A4) 水質惡化等問題點與前述彰化與雲林的養殖戶觀點類似而不再贅述，可參考前述說明。而在 (A2) 底質劣化方面，高密度養殖及混養過量易造成投餌量與污染物增加，養殖環境將會快速惡化，且由於文蛤習於潛入沙中棲息，池底的狀況會直接影響文蛤成長，底土管理是否妥善與養殖成敗息息相關 (鄧等, 2019)。池底有機物質沉積，天氣熱容易讓細菌滋生快速，包括弧菌的有害菌種大量發生，水中溶氧降低，隨著養殖時間增加，池底底質將逐漸惡化，包括死亡藻類、擬糞和殘餌等有機質的累積，導致高耗氧及發展成還原態。厭氧分解的產物如氨、硫化氫、甲烷及有機酸，均危害養殖生物，尤其是與底土相依的底棲生物如蝦、蟹及貝類等受到的影響最為直接 (周與葉, 2017)。近年收成文蛤池時，採用分批收成，因翻動底土，恐致使底土的有機物質分散，增加養殖風險。降低水中硫化氫濃度的方式有增加池水溶氧量、撒含鐵較多的紅色土壤、以及添加石灰提高底質 pH 值降低酸化等方式 (何與周, 2017; 李等, 2019)。鄧等 (2019) 提及避免硫化氫濃度增高，有 3 種方法，包括適量投餌避免殘餌，充分曝氣增加溶氧量，以及定期換水。另一方面，嘉義縣養殖戶認為所列問題點項目中，(D5) 養殖登記與行政複雜此 1 項並非重要問題點。

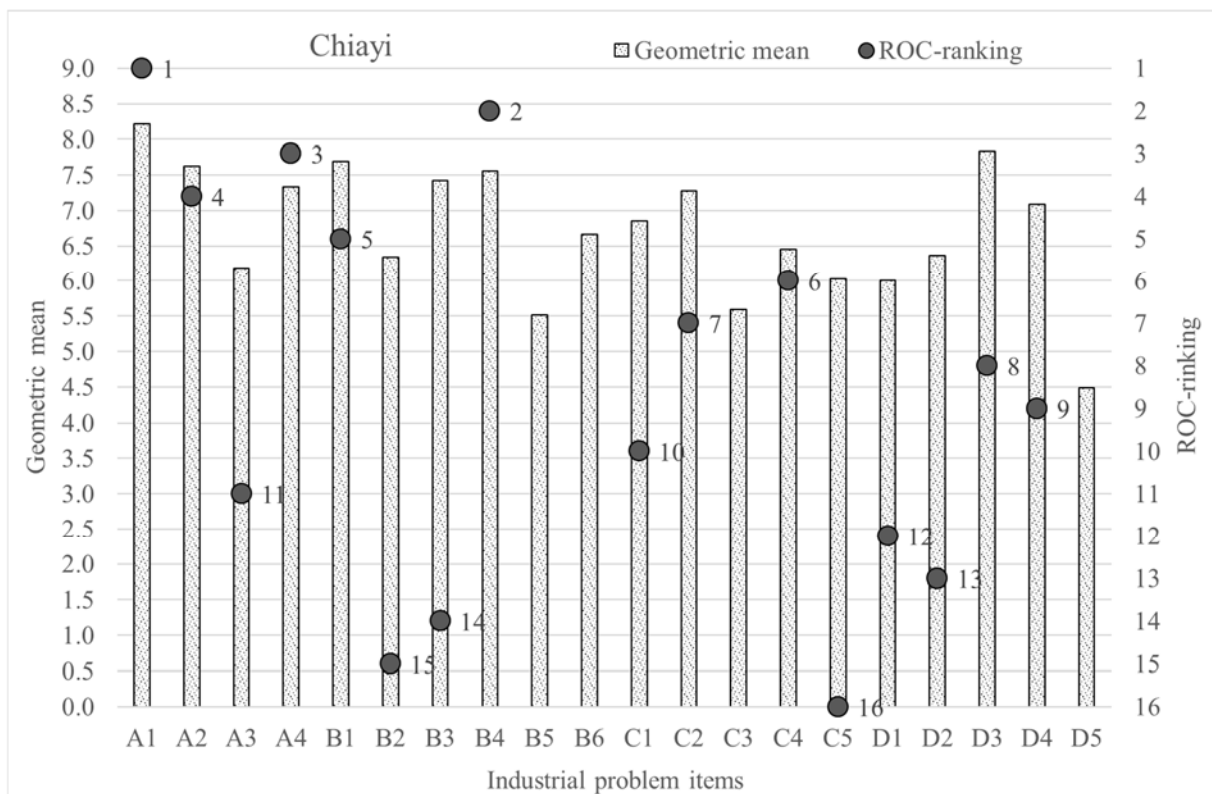


Fig. 3 Geometric means and ROC-rankings of industry problems perceived by hard clam farmers in Chiayi (A1. Extreme weather, A2. Substrate degradation, A3. Serious air pollution, A4. Deteriorating water quality, B1. Quality of clam fry, B2. Slow clam growth, B3. Pond and fish farm management issues, B4. Exotic shell species invasion, B5. Excessive farming density, B6. Lack of research results, C1. Shrinking market, C2. Low acquisition prices by wholesalers, C3. Production and marketing challenges, C4. High operating costs, C5. Limited processing options; D1. Labor and workforce shortage, D2. Difficulty in receiving disaster subsidies, D3. Poor drainage systems, D4. Land taken by green power industry, D5. Complicated registration).

四、臺南市

依臺南市政府主計處 (2023) 公布「臺南市水產養殖狀況」資料，2022 年臺南市文蛤養殖面積 3,282 公頃占全國文蛤養殖面積 36% (僅次雲林縣)，文蛤養殖分佈於七股區 (61%)、北門區 (27%)、安南區 (7%) 及將軍區 (5%)。臺南市文蛤養殖產值達 20 億元為全國第一，亦是臺南市水產養殖種類產值最高 (占臺南市 24.68%)，已超越虱目魚 19.96 億元 (占臺南市 24.58%)，文蛤近 3 年產值大幅上升，而虱目魚產值大幅下降的隔年文蛤產值有明顯上升。經詢問養殖戶得知文蛤養殖的技術門檻與成本低於魚隻養殖，節省飼料與電費，收購價格穩定，原虱目魚養殖戶近年紛紛轉做。臺南市魚塢以沙壤土底為主，質地較黏 (李等, 2019)，由於無法使用地下水調整池水鹽度，文蛤

養殖池鹽度高於其他縣市，每公頃文蛤池放養 50-80 萬粒以上，屬於較低密度的養殖方式，臺南市文蛤池使用水車及投放餌料的頻度較其他縣市低。

依調查結果 (Fig. 4) 可知，臺南市文蛤養殖戶共同認為產業面臨最大的問題點僅 2 項，以幾何平均數及該產區重要性排序表示，分別為 (A1) 極端氣候 (8.2, 1)、(D4) 綠電產業搶地 (7.5, 2)；另有 3 項問題點，(A4) 水質惡化 (7.4, 4)、(C1) 市場萎縮 (6.9, 5)、(D3) 引排水系統 (7.1, 3)，在不同問卷時突顯重要性。共計 5 項為臺南市文蛤養殖戶最關心的問題點，其中 (A1) 極端氣候、(A4) 水質惡化、(D3) 引排水系統等項目與前述縣市養殖戶觀點類似而不再贅述，可參考前述說明。(C1) 市場萎縮方面，主要是養殖戶有感文蛤的需求量日漸衰退，盤商採收時不像以往一次收成而採分

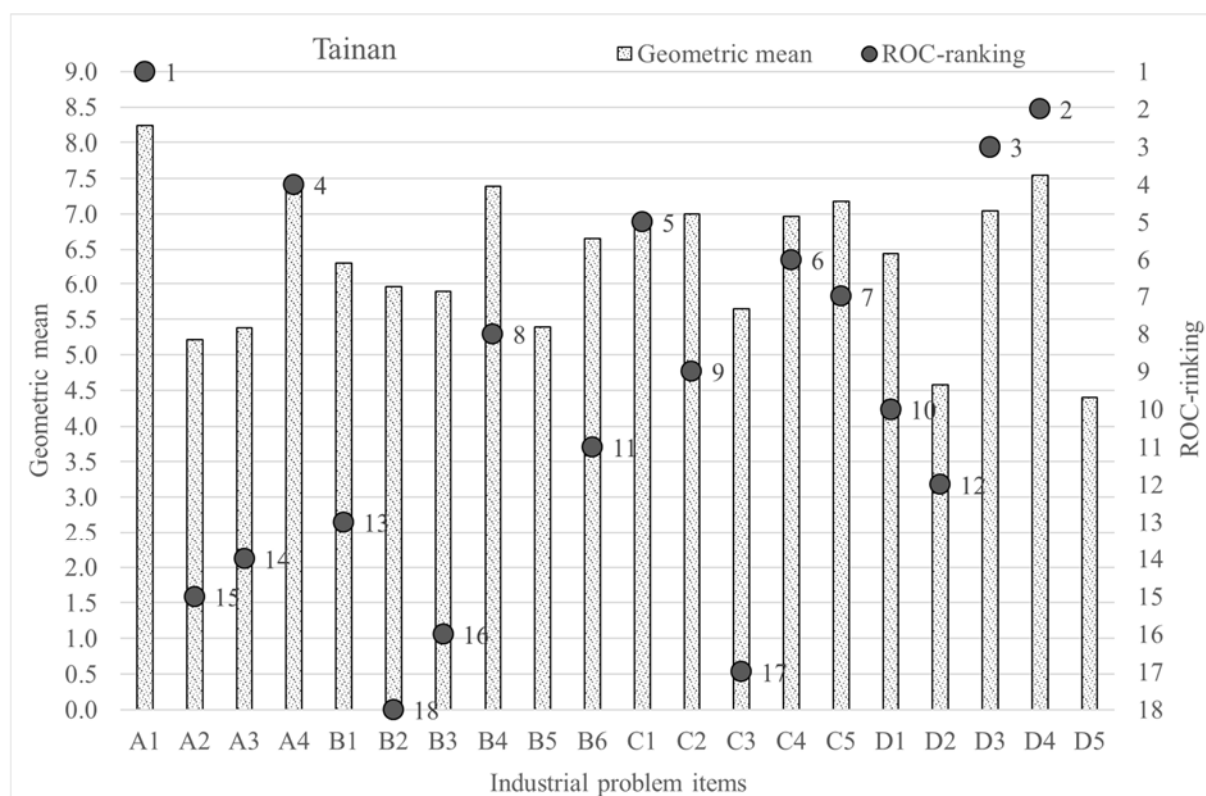


Fig. 4 Geometric means and ROC-rankings of industry problems perceived by hard clam farmers in Tainan (A1. Extreme weather, A2. Substrate degradation, A3. Serious air pollution, A4. Deteriorating water quality, B1. Quality of clam fry, B2. Slow clam growth, B3. Pond and fish farm management issues, B4. Exotic shell species invasion, B5. Excessive farming density, B6. Lack of research results, C1. Shrinking market, C2. Low acquisition prices by wholesalers, C3. Production and marketing challenges, C4. High operating costs, C5. Limited processing options; D1. Labor and workforce shortage, D2. Difficulty in receiving disaster subsidies, D3. Poor drainage systems, D4. Land taken by green power industry, D5. Complicated registration).

批多次採收。市場上的文蛤價格 1 斤約 120 元，在池邊收購價僅 1 斤 50 元左右，市場上的消費者在同價格之下，寧可購買其他飽足感較高的替代品，文蛤市場價高而降低其購買意願。許多臺南市養殖戶關心 (D4) 綠電產業搶地，尤其是七股區與北門區養殖戶，對綠電產業搶地的情形分成二派，反對方認為綠電能源產業近幾年進駐臺灣沿海偏鄉，對養殖戶最直接的影響就是提高養殖用土地的租金，例如 1 公頃地 1 年租金於臺南七股原為約 2.5 萬元，近年則提高至 5 - 6 萬元，而放養文蛤條件較好的彰化與雲林養殖用地更可高達 30 萬元。但臺南市文蛤養殖戶大部分並非是地主，因綠電產業進駐造成的土地租金高漲，許多養殖戶在考慮成本後退出養殖或減少養殖面積。陳 (2022) 即指出漁電共生政策促成地主收回漁塭用

地改租給光電業者，形成「排擠效應」，導致租地養殖戶無地可養。另一方面，贊成方則認為現在投入文蛤養殖的戶數過多，養殖不佳的土地或無心經營的養殖戶可趁勢退出。此外，因綠電政策所帶來的「綠色衝突」(green conflict) 在臺灣沿海漁村確實造成很大的衝擊。洪 (2022) 著書中即以臺南七股的太陽光電政策為例，詳細介紹漁電共生對養殖漁業帶來的各種衝突，並提及漁民擔憂生計與污染，地主擔憂政策停滯的利益損害、能源公司擔憂地方抗爭帶來的不確定性。陳 (2022) 則以雲林文蛤養殖為例，指出現今的綠電業者進駐方式，日後可能產生排擠效應、連帶效應、轉作效應等三種發展導向，進而引發與政策預期相反的結果，綠色能源不但無法幫助沿海漁村的轉型，甚至引導養殖業者棄養轉而種電。

討 論

由臺灣文蛤主產區之彰雲嘉南養殖戶對產業問題點的排序，推導養殖戶的綜合重視問題點，文蛤養殖產業對養殖戶面臨最大的三大共同產業問題項目依序為 (A1) 極端氣候、(B4) 異貝入侵、(A4) 水質惡化等 3 項；此外，(D3) 引排水系統、(A3) 空氣污染、(B1) 蛤苗品質亦是養殖戶較為重視的問題項目。本研究所得的結果與前述文獻回顧中提及養殖戶問題點相符合，尤其與近 3 年研究中提到養殖戶遭遇問題項目大部分相同，陳 (2022) 提及文蛤養殖戶將近年文蛤大量死亡歸因為人工苗、水質差、異貝入侵、極端氣候等四大原因。李 (2022)，提及雲林文蛤養殖戶認為氣候異常、養殖環境不佳、疾病及外來種貽貝危害是最重要的養殖風險影響因素。歐陽 (2023) 提及業者重視外來貝類附著、收成率不佳或減少、養殖環境汙染、養殖管理技術需再提升等問題。而本研究不僅以問卷獲得文蛤養殖戶表達產業問題點 20 個項目並加以對問題項目重要性進行排序，能更精準地確認文蛤養殖戶的產業問題點的重視程度。再者，本研究受測養殖戶均能認同羅列的問題點已充分反映大部分臺灣文蛤主產區養殖戶對產業問題點的觀點。

文蛤養殖戶共同面臨最大問題項目，首要為 (A1) 極端氣候，包括乾旱、強降雨、高溫、颱風、寒流、日夜溫差大等，由於極端氣候發生頻度漸多，對文蛤養殖戶實具深刻痛感，主產區養殖戶皆將此項目重要性排序第 1。極端氣候當中又以高溫及強降雨最令養殖戶憂心，尤其 2016 年受高溫與連續大雨，文蛤存活率普遍只有 20 - 30% (秦, 2018)。劉等 (2001) 提及高溫和溫鹽度的驟變 (如夏季大雨) 易使文蛤緊迫，造成文蛤緊迫、拒食，進而影響到文蛤的殼肉比下降。鄧 (2017) 研究結果指出，夏季大量死亡原因可能是文蛤已感染病原性弧菌後，養殖環境溫度出現劇烈變化造成緊迫，若養殖池水質及土質惡化，即會引致疾病發生，出現零星死亡後又逢夏季豪雨與溫差，便會逐漸蔓延。依李等 (2019) 實驗指出，水溫 36℃ 以上，文蛤出現適應不良而無法正常潛沙，水溫高於 40℃ 則開始死亡。同報告指出夏季高水溫期應提高池水水位，避免池底水溫及土溫過高影響文蛤活

存 (何與周, 2017)，以及造成水流，進水須等白天漲潮時期，一次不能進太多海水，避免溫鹽變化過大。周 (2017) 指出水溫高的因應，有必要增加水車數量或運轉時間，使池水與空氣充分接觸溶入氧氣，以提供微生物分解有機物所需的氧氣。此外，接近夏季高溫多雨的環境下，會顯著降低文蛤免疫能力 (Chen *et al.*, 2011)。鹽度遽變下，高溫環境會降低文蛤面對鹽度變化時的滲透壓調節能力 (何, 2009; Chen *et al.*, 2011; 陳, 2019)。李等 (2019) 對強降雨的因應，指出文蛤池水不能長期低於 15 psu。在梅雨及颱風季節時應提防豪雨造成池水鹽度瞬間過低 (減少 5 - 10 psu) 而影響文蛤生長及活存。為改善強降雨的影響，可於池中設置數個塑膠桶收集池中上層雨水後排出以降低池水淡化速度，或於池子四角落埋入多隻橫管，平常做豎井的功能，大雨時打入海水，提高底層水的鹽度。泰與劉 (2019) 指出若氣象局預測下大雨前，每公頃可撒 100 kg 熟石灰 (10 ppm)，增加 pH 及緩衝能力。豪雨季節調適因應措施建議為：1. 豪雨來臨前調高水位，以防止鹽度變化；2. 準備上層排水設施，減少淡水進入養殖池；3. 強降雨時停止水車避免擾動池水沖淡鹽度；4. 進水時先以鹽度計檢測，防止鹽度遽降；5. 暴雨前要維修檢查供電設施及增氧機；6. 大雨來臨或過後，魚塭應適量撒沸石粉、石灰或碳酸鈣，提高 pH 值及緩衝能力以穩定水質，尤其午後雷陣雨，造成池水上下層溫差，水產生物容易產生疾病問題；7. 文蛤池可以抽取淺層地下水補充鹽度，例如：俗稱束井的沙層抽排水系統，以降低暴雨所造成影響 (彰化縣芳苑鄉公所, 2017)。

其次為 (B4) 異貝入侵，主要以似殼菜蛤與孔雀蛤二種害貝入池後移除困難。李等 (2019) 對異貝入侵的因應，指出整池時須徹底曬池及清除池壁附著生物，再以茶粕浸泡，進水時加入二氧化氯以防止貝類幼生期隨同海水流入池中，養殖過程中放養黃錫鯛、黑鯛等攝食附著生物。周與葉 (2006) 提及在育苗期間只能以沙層過濾的方式引進海水以杜絕其浮游幼生進入池中。附著於池壁者可將水位降低後以瓦斯噴燈燒死之。另外混養時可放養白蝦，具有生物防治效果。周與葉 (2019) 提及文蛤池常見的有害生物及其防治，對入侵貝類之防治方法，有對海水處理及工作魚的挑選進

行說明。而政府政策近年推動養殖漁機具補助中，補助漁民購置沙濾桶，應可因應文蛤養殖產業異貝入侵的部分問題。

而在 (A4) 水質惡化方面，影響文蛤池水質的因素頗多，例如空污、工業與畜牧廢水、氣候、環境、疾病、底質、藻相、投餵過量、養殖密度等，與其他問題點的關連性高，因此養殖戶需確認並做好魚塭管理。謝等 (2020) 提到底土品質早已被認為是影響水質和水產生物產業的因素之一 (Hussenot and Feuillet-Girard, 1988; Munsiri *et al.*, 1996)。鄧等 (2019) 提及養殖管理需注重進排換水之水質與水量，以維持良好養殖環境，必要時可增加供氧設備增加水中溶氧，養殖環境不良時可大量排換水，或使用低濃度的強氧化劑，如過氧化氫，去除有機物，再施用沸石粉，改善底質環境。夏季高溫期，文蛤池須留意底土有機質之蓄積，避免過多殘餌及控制池水 pH，另配合光合菌的使用可有效降低底土硫化物的含量 (李等, 2019)。一般而言，採用乳酸菌可促進文蛤成長，枯草菌可改善水質，光合菌則可改善底土質。政府補助漁民購置具變頻節能效益的增氧機設備之外，亦可投入研發具改善水質的效果的相關添加菌種。泰與劉 (2019) 建議政府就整個文蛤養殖區規劃提供乾淨的水源，雲林縣下崙區目前已可提供乾淨水源，值得後續養殖區規畫參考。再者，李 (2022) 養殖生產經濟與風險管理分析—以虱目魚及文蛤為例，養殖戶普遍認為參加養殖技術輔導、使用益生菌、混養魚蝦及使用池底改良劑等是益本比較高的風險管理策略。由於影響文蛤池水質因素眾多不一，養殖戶肉眼很難查覺與清楚描述，若能即時有專業人員進行現場勘查並採樣化驗，因應可能突來的大量死亡情形發生，故與時俱進的研究成果，化為簡單實用的方法，並能與現場養殖戶進行密切連繫，是專業人員重要的課題之一。

結 論

本研究提供一個簡單且直接貼近產業的調查分析方式，呈現臺灣文蛤主產區養殖戶對產業問題點的觀點，經由文蛤養殖戶們表達問題關鍵字可獲得 20 個項目，問題點相互間關連性高，可提供正視我國文蛤養殖戶於不同地區間問題點特徵

與面臨問題點的重要性排序，可深入解析各產區文蛤養殖戶對產業困境的看法與建議，思考解決各產區因地適宜的解方策略。尤其現今因應氣候變遷的調適策略日顯重要，本研究之研究人員進入文蛤養殖產業現場，除了盤點我國文蛤養殖業面臨的問題點，亦同時盤點研究計畫中應加強的地方，例如本所於近年進行文蛤的試驗計畫，包括文蛤品系育種以增加耐受性，分段養殖以提高存活率及避開風險，益生菌用以提升免疫力，設計魚塭管理法提高育成率，試驗生物防治法防止異貝入侵，並同時進行環境與養殖密度監測，而研究的成果與效果並非一夕可成，而是在諸多的試驗下累積出小成果。本研究分析文蛤各產區重視的問題點，期能提供產官學研界瞭解文蛤養殖戶的實際需求，提供解決產業困境的參考依據，強化並運用公私協力，因應在地特性與需求，並將政府的量能投入讓漁民有感的服務項目，建構出更具韌性與永續性的生產體系。

謝 辭

本研究係 113 年度農業部水產試驗所主管一般科技計畫項下「因應氣候變遷調適策略之水產研究計畫的探討 (113 農科-6.1.2-水-15)」之部分成果。本研究感謝彰雲嘉南各區漁會的協助，以及各產區文蛤相關產銷班與協會，及所有養殖戶協助與記錄。

參考文獻

- 何哲豪 (2009) 不同溫度及鹽度下文蛤 (*Meretrix lusoria*) 的滲透壓調節和免疫反應之研究。國立嘉義大學水生生物科學系研究所 碩士論文, 78 pp.
- 何雲達, 周昱翰 (2017) 文蛤養殖。水產試驗所技術手冊10, 行政院農業委員會水產試驗所, 53 pp.
- 李一忠 (2022) 養殖生產經濟與風險管理分析-以虱目魚及文蛤為例。國立高雄科技大學水圈學院水產科技產業博士班 博士論文, 124 pp.
- 李安進, 陳淑美, 劉秉忠, 林正輝, 秦宗顯 (2019) 文蛤之養殖。文蛤科學化養殖 (秦宗顯, 劉秉忠主編), 水產試驗所特刊, 26: 19-38.
- 周昱翰 (2017) 文蛤的養殖與管理。科學發展, 535: 14-17.
- 周麗蘭 (2024) 雲林空氣品質全臺最糟 環保局:降雨天數少、低風速所致。中時新聞網, 2024年3月27日。

- 取自 <https://www.chinatimes.com/realtimenews/20240327003132-260405?chdtv>
- 周昱翰, 葉信利 (2006) 『站桌子』入侵文蛤池之危害與防治. 水試專訊, 16: 35.
- 周昱翰, 葉信利 (2019) 文蛤養殖池的有害生物及防治. 水試專訊, 66: 35-39.
- 周昱翰, 葉信利 (2013) 文蛤養殖池的底土管理. 水試專訊, 43: 17-19.
- 洪綾君 (2022) 能源轉型政策的分析與評估：以臺南七股的太陽光電政策為例. 韋伯文化, 224 pp.
- 秦宗顯, 劉秉忠 (2019) 文蛤科學化養殖, 水產試驗所特刊, 26: 83-87.
- 秦宗顯 (2018) 臺灣文蛤養殖產業現況. 財團法人農業科技研究院產業發展中心.
- 張有恆 (1998) 運輸計畫評估與決策-模糊理論之探討與應用. 華泰, 610 pp.
- 張雄風 (2024) 瑞士空氣品質報告臺灣彰化最差 環部：已加強治理. 中央通訊社, 2024年3月20日. 取自 <https://www.cna.com.tw/news/ahel/202403200366.aspx>
- 張騏晨 (2021) 臺灣文蛤養殖生產與通路效益之經濟分析. 國立高雄科技大學水圈學院水產科技產業博士班 博士論文, 134 pp.
- 張禮蓉 (2019) 臺灣文蛤養殖產業經濟分析. 國立臺灣海洋大學水產養殖學系 碩士論文, 66 pp.
- 莊慶達 (2013) 我國漁業產業經營與行銷之研究-我國大宗養殖水產品運銷通路及本益調查研究. 行政院農委會漁業署科技計畫報告.
- 陳亭穎 (2022) 能源轉型與文蛤養殖：雲林麥寮設置綠能發電設施之爭議. 國立清華大學社會研究所碩士論文, 105 pp.
- 陳淑美 (2019) 文蛤生理學. 文蛤科學化養殖 (秦宗顯, 劉秉忠主編), 水產試驗所特刊, 26: 5-14.
- 陳威克, 張峻齊, 余峰維, 許晉榮 (2019) 臺灣文蛤養殖產業與綠能共構問卷調查分析. 水試專訊, 68: 44-49.
- 黃欣瑜 (2013) 雲林縣文蛤養殖生產技術效率分析. 國立台灣大學農業經濟學研究所 碩士論文, 85 pp.
- 黃振庭 (2019) 文蛤養殖成本分析. 文蛤科學化養殖 (秦宗顯, 劉秉忠主編), 水產試驗所特刊, 26: 67-74.
- 黃國平, 林振國, 許慶祥 (2004) 模糊理論與層級分析法之結合與應用. 第一屆臺灣作業研究學會學術研討會暨2004年科技與管理學術研討會論文集, 489-502.
- 黃麗月, 黃福銘, 郭仁杰, 丁雲源 (2004) 文蛤成長遲緩與大量死亡原因探討及因應對策. 水試專訊, 6: 6-9.
- 黃振庭, 陳玉家, 劉秉忠, 林正輝, 蕭堯仁, 陳詩璋, 莊慶達 (2018) 臺灣文蛤養殖生產經濟及運銷經濟分析. 海大漁推, 48: 67-82.
- 楊清閔 (2023) 臺灣牡蠣主產區養殖戶所面臨困境與問題點之研究. 水產研究, 31(2): 45-62.
- 楊清閔 (2024) 臺灣文蛤養殖產業面臨問題點之產地訪查. 水試專訊, 86: 13-19.
- 楊源禧, 丁雲源 (1984) 文蛤人工繁殖之研究. 臺灣省水產試驗所試驗報告, 36: 99-111.
- 楊儉, 魏偉, 唐保軍 (2018) 溫度脅迫對文蛤耗氧率和排氮率的影響. 漁業資訊與戰略, 33(4): 279-283.
- 董哲煌, 方引平 (2020) 產養殖危機重重！外來貝類入侵文蛤池 死亡率節節飆升. 農傳媒, 2020年5月23日, 取自 <https://www.agriharvest.tw/archives/37534>.
- 彰化縣芳苑鄉公所 (2017) 轉知有關近期臺灣西南沿海養殖文蛤死亡率偏高情事. 2017年6月12日. 取自 https://town.chcg.gov.tw/fangyuan/04bulletin/bulletin02_con.aspx?bull_id=250001
- 臺南市政府主計處 (2023) 臺南市水產養殖狀況. 取自 [file:///C:/Users/user/Downloads/%E5%B0%88%E9%A1%8C%E5%88%86%E6%9E%90-%E8%87%BA%E5%8D%97%E5%B8%82%E6%B0%B4%E7%94%A2%E9%A4%8A%E6%AE%96%E7%8B%80%E6%B3%81%20\(3\).pdf](file:///C:/Users/user/Downloads/%E5%B0%88%E9%A1%8C%E5%88%86%E6%9E%90-%E8%87%BA%E5%8D%97%E5%B8%82%E6%B0%B4%E7%94%A2%E9%A4%8A%E6%AE%96%E7%8B%80%E6%B3%81%20(3).pdf).
- 劉富光, 何雲達, 郭仁杰, 廖一久 (2001) 優質文蛤的養殖技術. 農政與農情, 114: 91-96.
- 歐陽鐘 (2023) 雲彰地區文蛤養殖產業面臨問題分析與水處理研究. 國立高雄科技大學碩士水產養殖系 碩士論文, 80 pp.
- 鄧晶瑩 (2017) 治病先治環境-貝類的疾病防治與健康管理. 科學發展月刊, 535: 26-29.
- 鄧晶瑩, 朱惠真, 盧彥伶, 周昱翰 (2019) 養殖文蛤之疾病. 文蛤科學化養殖 (秦宗顯, 劉秉忠主編), 水產試驗所特刊, 26: 53-70.
- 謝淑秋, 王俊堯, 林志訓, 黃致中, 葉信利 (2020) 底土硫化物對養殖文蛤的影響. 水試專訊, 69: 55-56.
- 簡禎富 (2005) 簡易多屬性評等技術與多屬性評估模式：決策分析與管理. 雙葉書廊, 177-219.
- Ahmed, N., S. Thompson and M. Glaser (2019) Global aquaculture productivity, environmental sustainability, and climate change adaptability. Environ. Manage., 63: 159-172.
- Chen, S. M., C. H. Ho and A. C. Lee (2011) The immune responses of hard clam, *Meretrix lusoria* under acute temperature and salinity stress. 9th Asian Fish. Aquacul. Forum, Shanghai, China, Asian Fisheries Society.
- Edwards, W (1977) How to use multiattribute utility measurement for social decision making. IEEE T. Syst. Man Cyb., SMC-7: 326-340.
- Edwards, W. and F. H. Barron (1994) SMARTS and

- SMARTER: Improved simple methods for multiattribute utility measurement. *Organ. Behav. Hum. Dec.*, 60: 306-325.
- Hsiao, S. T. and S. C. Chuang (2023) *Meretrix taiwanica* (Bivalvia: Veneridae), a previously misidentified new species in Taiwan. *Molluscan Res.*, 43(1): 12-21.
- Hussenot, J. and M. Feuillet-Girard (1988) Crevettes et sédiment. Le sédiment des marais salés aquacoles de la côte Atlantique. Recherche de paramètres indicateurs de la qualité des fonds. *Aqua Revue.*, 17: 25-29.
- Munsiri, P., C. E. Boyd, D. Teichert-Coddington and B. F. Hajek (1996) Texture and chemical composition of soils from shrimp ponds near Choluteca, Honduras. *Aquacul. Int.*, 4: 157-168.

Hard Clam Farmers' Opinions About Aquaculture Industry Problems Across Major Cultivation Areas in Taiwan

Ching-Min Yang

Coastal and Offshore Fishery Research Center, Fisheries Research Institute

ABSTRACT

The hard clam industry, which has the largest aquaculture area in Taiwan, has experienced fluctuating yields and even mass mortality events due to a combination of factors, including extreme weather, leading to operational difficulties for farmers. To explore the problems faced by the hard clam farming industry in recent years, and to understand the differences in the needs of and issues emphasized by hard clam farmers in different cultivation areas, this study utilized the investigational methods of field interviews and questionnaires to rank the importance of the industry challenges faced by the farmers in different cultivation areas. The results not only presented the ranking of the industry challenges by importance, but also identified the three leading common challenges faced by the farmers in different counties and cities: extreme weather (A1), invasion of exotic shellfish (B4), and deterioration of water quality (A4). The next three material challenges for farmers were: drainage system (D3), air pollution (A3), and quality of clam fry (B1). Extreme climate, high temperatures, and heavy rainfall in summer were the most concerning for the farmers. The results of this study directly align with the aquaculture industry and provide the industry, government, academia, and researchers with a reference basis for addressing the risks in clam aquaculture and improving the yield rate, thereby strengthening the industry's resilience against risks and solving industry problems by addressing the actual needs of the farmers.

Key words: hard clam, hard clam farmers, industrial problems, questionnaire survey, analysis of farmers' opinion

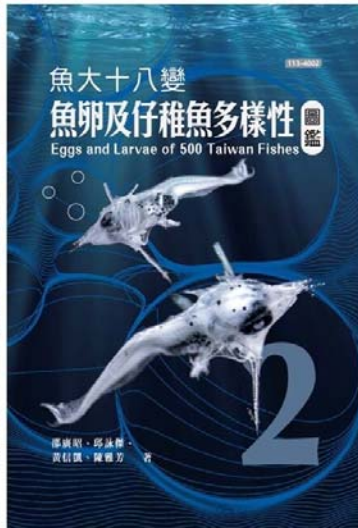
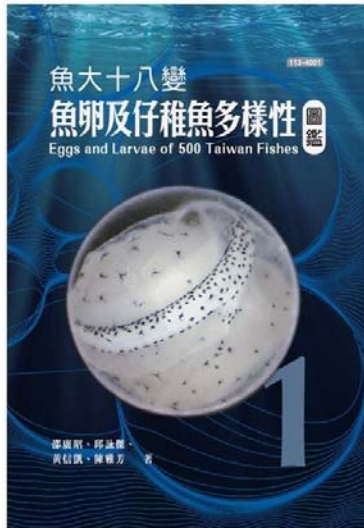
*Correspondence: No. 6, Yugang N. 3rd Rd., Cianjhen District, Kaohsiung 80672, Taiwan. TEL: (07) 8218103; E-mail: cmyang@mail.tfrin.gov.tw

～書 評～

全球首套經 DNA 驗證的魚類早期生活史圖鑑 《魚大十八變：魚卵及仔稚魚多樣性》

嚴宏洋 研究員 (退休)

中央研究院細胞與個體生物學研究所



魚大十八變：魚卵及仔稚魚多樣性 (共 2 冊)

作者：邵廣昭、邱詠傑、黃信凱、陳雅芳

出版機關 / 國家海洋研究院

出版日期 / 2024-11

主題分類 / 自然保育

施政分類 / 海洋科研

ISBN / 9786267522240

GPN / 1011301182

頁數 / 415 (第 1 冊); 399 (第 2 冊)

裝訂 / 精裝

定價 / NT\$ 1,600

傳統上魚類的分類工作，主要是根據成魚個體的體色、外形體型、和形質計數，例如：背鰭、胸鰭、腹鰭、尾鰭的硬棘、軟棘條的數目，和諸多骨骼構造等特徵，去作為分類的依據。但是對魚受精卵（胚胎）、仔稚魚，上述的形態、形質特徵的鑑定方法，都是無效的。因為魚卵、仔稚魚會歷經一段變態的過程，在形態、形質上與成魚是大相逕庭的。因而要如何鑑定魚卵、仔稚魚的種類，是件相當棘手的挑戰。即令如此，研究者們長久以來，就曾試圖用各種方法去提供鑑定魚卵、仔稚魚種類的方法。

美國國家海洋漁業局 (National Marine Fisheries Service) 在 1983 年 8 月 15 - 18 日，在加州拉霍亞 (La Jolla, California)，召開了一個名為「魚類個體發生學與系統分類學」(Ontogeny and Systematics of Fishes) 的國際研討會，共有 86 篇論文發表。會後由美國魚類學者與兩棲爬蟲學者學會 (American Society of Ichthyologists and Herpetologists, ASIH) 發行特刊 1 號 (Special Publication Number 1)，以名為 Ontogeny and Systematics of Fishes 的專書在 1984 年發行 (Moser, 1984)。共有 44 目及 19 種魚類的魚卵、仔稚魚被討論。在這本專書的第二部份有 12 篇論文，分別討論了如何鑑定魚卵、仔稚魚、如何繪製線條圖、魚體透明及骨骼染色的方法、X-光照射鑑定骨骼方法、組織切片方法、掃描式電子顯微鏡方法、發育骨骼學、耳石鑑定法、標本保存方法與典藏。這是截至 1984 年魚類研究學界最好的鑑定魚卵、仔稚魚，最週全的參考書輯。

後續有不少的研究者曾努力去編撰仔稚魚發育的鑑定圖鑑，例如：Leis and Rennis (1984)、Leis and Carson-Ewart (2000)。但主要仍是以前以仔稚魚的形態、形質計數與成魚的特徵相對比，因而就像過去的工作一樣，能鑑定到屬的層次，就已經是很困難了。

時間來到 21 世紀，因為 DNA 條碼 (DNA barcoding) 技術的使用，使得魚類在卵、仔稚魚分類的研究，有了新的進展。2002 年時中央研究院邵廣昭研究員帶領的團隊，使用粒線體 DNA (mtDNA) 定序的方法，鑑定出 8 種魚卵的種別 (Shao *et al.*, 2002)，這應該是全世界首次的創舉。後續 DNA barcoding 被廣泛的應用於物種的種緣關係的判定 (Hebert *et al.*, 2002, 2003)。為了釐清 DNA barcoding 在物種鑑別上的實用價

值，邵廣昭研究員的團隊將 100 尾仔稚魚標本輪流送給分佈於臺灣五所研究機構，由研究者們從形態特徵，進行鑑定到科、屬、種的層次。當標本收回後，這些標本再經過 DNA barcoding 定序比對形態特徵鑑定的正確率。結果發現：形態的辨識正確率，分別是科的層級 71.3 – 87.9% (平均值 80.1%)、屬的層級 2.9 – 34.1% (平均值 41.1%)、種的層級 2.9 – 34.1% (平均值 13.5%)。這項具有創意的實驗，顯示傳統用形態、形質方法去鑑定仔稚魚種類的準確率偏低，但也同時確認了 DNA barcoding 方法，在鑑定仔稚魚種類的實用性 (Ko *et al.*, 2013)。

歷經了過去二十多年的研究，邵廣昭的團隊在 2024 年整理出共包涵了 29 目 121 科 505 種魚類的魚卵、仔稚魚的 DNA 生命條碼資料和圖片，以兩本書的形式印行了《魚大十八變：魚卵及仔稚魚多樣性圖鑑》(Eggs and larvae of 500 Taiwan Fishes) 專書，以提供學界參考使用 (邵等, 2024)。

這套圖鑑由兩冊組成。第 1 冊有五章，主要是解釋如何使用這套圖鑑。第一章是導論，簡要的說明了為何會匯集蒐集到的資料，去編撰這套書的緣由。雖然書名的英文名稱是 500 Taiwan Fishes，但事實上這套書是收錄了 505 種魚卵及仔稚魚的分類資料。這些魚種被挑選入圖鑑，主要是根據四項原則：(1) 必須能以 DNA 鑑定到物種層級；(2) 魚卵或仔魚照片解析度最佳者；(3) 以有仔魚照片優於只有魚卵照片的；(4) 儘可能涵蓋愈多數目不同的高分類群，從目、科到屬，優於同科或同屬的不同種，以便讀者能夠更瞭解魚卵或仔魚的不同形態，以及臺灣海域現存最多樣化之不同類群的魚類早期生活史形態。

第二章簡單的對魚類早期生活史從卵的形態及孵化後仔魚的發育的四個階段：卵黃囊期 (yolk sac)、脊索彎曲前期 (preflexion)、脊索彎曲期 (flexion)、脊索彎曲後期 (postflexion) 及稚魚 (juvenile) 給予定義。

第三章則是描述了邵廣昭的團隊所採用的魚卵及仔稚魚調查及採集方法。主要是有四項步驟：(1) 野外採集方式常需因地制宜；(2) 魚卵及仔稚魚樣本採集後的固定、運輸及撈出；(3) 浮游性魚類標本攜帶回實驗室後的處理流程；(4) 魚卵及仔稚魚樣本保存及分類。

第四章為讀者們提供了這套圖鑑，是透過哪些步驟進行魚卵及仔稚魚的鑑定方法：(1) 魚卵的形態學鑑定方法；(2) 仔稚魚的形態學鑑定方法；(3) 利用分子生物實驗方法，對魚卵及仔稚魚的鑑定。這一部份雖然只有短短的三頁的篇幅，但卻是確定本圖鑑魚種最主要的依據。

第五章則是很簡要的解釋為何要對魚卵及仔稚魚進行基礎研究和有何應用價值。在這一章中作者們認為進行卵和仔稚魚調查，有三個主要考量觀點：(1) 針對單一目標物種利用中上層魚卵的分佈和豐度來估計成魚產卵群的生物量；(2) 對目標物種的仔魚進行研究，以估計其產卵所產生的當年繁殖成功率，並希望了解其變動的潛在因素；(3) 用來總體評估魚類資源，因為仔稚魚的補充和漁業資源現況或恢復力有關。

這套圖鑑對每一科 (Family) 的魚種先有一頁的概述。包含有科名、簡介 (分佈水域、臺灣產有幾屬、幾種)、仔稚魚線條圖、仔稚魚形態特徵。而對每一種魚的圖鑑，則包含有中、英文科名、簡介、產卵模式、仔稚魚線條圖和仔魚特徵 (如後圖左)。對各別魚種的介紹則包含了目名、科名、學名、成魚照片、仔魚形態特徵、QR code (掃描後可以直接連結到國海院環境 DNA 搜尋平台，獲取有關該種魚的詳細資料和 DNA 序列資料)、仔稚魚照片、卵徑、仔稚魚體長、採捕到的月份、採集的海域等資料 (如後圖右)。

從這套圖鑑豐富的內容來看，邵廣昭的團隊在過去二十多年所投入的功夫和心力，是很令人敬佩的。國家海洋院肯撥出預算支援，使得這套圖鑑得以問世，是很有遠見的，應該要給予鼓掌的。這套書也是全世界魚類學界的首創，十足的顯現了臺灣研究的實力，是不容小覷的。

這套兩本的圖鑑，對懂得中文的研究者們會是很有用的參考書籍。但我個人要向出版單位的國家海洋研究院提出兩項建議：(1) 希望未來能印行英文版，以供其他國家的研究者們能共享這些資料。再者，目前掃描 QR code 後所連結的網頁，只有中文版。希望配合英文版的圖鑑發行時，網頁也能有英文的資料顯示。這會是有利於國際學者們的使用，也藉此彰顯臺灣的研究實力；(2) 從推廣鄉土教育的觀點而言，希望這兩本書的內容，也能同步掛在國家海洋研究院的網站上，供大眾們蒐尋資料時的參考使用。例如：

由邵廣昭教授主編的「臺灣常見經濟水產動植物圖鑑」(邵, 2015), 除了有紙本發行外, 全部內容也掛在農業部漁業署的網站 (<https://www.fa.gov.tw/book/fishlibrary/files/assets/basic-html/page-l.html#>), 而資料顯示平均每個月有上千次的點擊閱讀。這就是將資料在網上公開後, 就能達到知識共享的目的。



參考文獻

- 邵廣昭 (2015) 臺灣常見經濟性水產動植物圖鑑. 行政院農業委員會漁業署, 498 pp.
- 邵廣昭, 邱詠傑, 黃信凱, 陳雅芳 (2024) 魚大十八變：魚卵及仔稚魚多樣性. 國家海洋研究院 (兩冊). 第1冊, 415 pp; 第2冊, 399 pp.
- Hebert, P. D. N., S. Ratnasingham and J. R. deWaard (2003). Proceedings Royal Society London B (Supplement), 270: S96-S99.
- Hebert, P. D. N., A. Cywinska, S. L. Ball and J. R. deWaard (2002) Biological identifications through DNA barcodes. Proceedings Royal Society London B, 270: 313-321.
- Ko, H. L., Y. T. Wang, T. S. Chiu, M. A. Lee, M. Y. Leu, K. G. Chang, W. Y. Chen, and K. T. Shao (2013) Evaluating the Accuracy of Morphological Identification of Larval Fishes by Applying DNA Barcoding. PLoS ONE, 8(1): e53451. doi:10.1371/journal.pone.0053451
- Leis, J. M. and D. S. Rennis (1984). The larvae of Indo-Pacific coral reef fishes. University of Hawaii Press. Honolulu, Hawaii, USA, 269 pp.
- Leis, J. M. and B. M. Carson-Ewart (2000). The larvae of Indo-Pacific coastal fishes. An identification guide to marine larvae. Brill, Leiden, Netherlands, 850 pp.
- Moser, H. G. (1984). Ontogeny and systematics of fishes. American Society of Ichthyologists and Herpetologists, Special Publication Number 1, Allen Press, Lawrence, Kansas, USA, 760 pp.
- Shao, K. T. (2015) A guide book of common economic aquatic animals and plants in Taiwan. Fishery Agency, Ministry of Agriculture, Taiwan, 498 pp. (in Chinese).
- Shao, K. T., K. C. Chen and J. H. Wu (2002) Identification of marine fish eggs in Taiwan using light microscope, scanning electron microscope and mtDNA sequencing. Marine and Freshwater Research, 53: 355-365.

水產研究 第32卷 第2期

出 版 者：農業部水產試驗所

發 行 人：張錦宜

總 編 輯：葉信明

地 址：基隆市中正區 20246 和一路 199 號

電 話：(02) 2462-2101

傳 真：(02) 2462-9388

網 址：<https://www.tfrin.gov.tw>

創刊日期：民國 82 年 6 月

出版日期：民國 113 年 12 月

刊 別：半年刊

ISSN 1018-7324 GPN 2008200207

