

DOI: 10.3724/SP.J.1118.2015.15139

大黄鱼耳石锶标志技术

张辉, 姜亚洲, 袁兴伟, 张翼, 李圣法, 程家骅

中国水产科学研究院 东海水产研究所, 农业部东海与远洋渔业资源开发利用重点实验室, 上海 200090

摘要: 利用六水合氯化锶进行大黄鱼(*Larimichthys crocea*)幼鱼耳石的标记, 探讨了锶元素对大黄鱼幼鱼耳石的元素指纹标记效果, 分析了锶元素标记对大黄鱼幼鱼生长和存活的影响。结果表明: (1) 阶段性倍增饲养水体中锶离子浓度可使标记组个体在特定耳石区段的 Sr/Ca 比值显著提升, 形成与对照组个体和野生个体在该耳石区段 Sr/Ca 比值的显著差异($P < 0.01$), 标记组、对照组和野生个体在该耳石区段的 Sr/Ca 比值分别为 (3.58 ± 1.09) mmol/mol、 (1.73 ± 0.08) mmol/mol 和 (1.09 ± 0.35) mmol/mol。此区段形成的 Sr/Ca 比值峰值可视为标记组个体的耳石锶元素人工标记。(2) 标记组和对对照组大黄鱼幼鱼的生长速率和存活率均无显著性差异($P > 0.05$), 表明此项标记技术对受标个体的生长和存活状况不会产生显著负面影响, 可用作大黄鱼增殖放流鱼苗的规模化标记手段。

关键词: 大黄鱼; 标志放流; 锶; 耳石; 元素分析; 死亡率; 生长

中图分类号: S932

文献标志码: A

文章编号: 1005-8737-(2015)06-1270-08

大黄鱼(*Larimichthys crocea*)隶属鲈形目(Perciformes), 石首鱼科(Sciaenidae), 黄鱼属, 为暖温性海洋洄游鱼类, 广泛分布于北起黄海南部, 南至南海雷州半岛以东的 60 m 以浅的近海水域, 是中国的重要经济鱼类之一。自 20 世纪 70 年代, 受过度捕捞等因素的影响, 大黄鱼资源严重衰退, 现已无法形成渔汛^[1-5]。为有效恢复大黄鱼野生资源群体, 东海区沿海各省相继开展了大黄鱼规模化增殖放流工作。截至目前, 放流数量累计已达数千万尾^[6]。由于大黄鱼幼鱼不适用于挂牌、剪鳍等标志方法, 因此大黄鱼增殖放流效果的定量评估一直受到各界质疑。鉴此, 建立一种适用于小规格大黄鱼增殖苗种的规模化标志技术方法已成当务之急。

基于锶元素的耳石指纹标志技术是鱼类标志放流研究领域中的一项重要技术手段^[7-8]。耳石是沉积在真骨鱼类内耳中的一种矿物结构, 其主要成分是碳酸盐^[9]。在鱼类的生活过程中, 水环境中

的化学元素经过代谢稳定地沉积在耳石上, 而这些元素一旦沉积在耳石中则非常稳定, 难以被异化吸收, 耳石结构这种相对稳定的属性, 为其获得外来信息标志与稳定存储奠定了重要基础^[10-12]。锶元素耳石指纹标志技术, 主要是通过人为提升增殖鱼苗饲养水体中的 Sr^{2+} 浓度, 使锶元素在鱼苗耳石中形成富集, 进而在受标鱼苗特定耳石区段形成可终身携带的耳石指纹标记。

本研究拟通过对比试验, 探究锶元素对大黄鱼幼鱼耳石的标志效果, 分析此项标志技术对受标鱼苗存活和生长的影响, 以期明确利用该项技术开展大黄鱼规模化标志放流以及跟踪监测的可行性和可操作性。

1 材料与方法

1.1 实验设计

标记实验所选取的幼鱼为育苗后 30 d 的幼

收稿日期: 2015-04-08; 修订日期: 2015-06-17.

基金项目: 国家公益性行业(农业)科研专项经费项目(201303047); 中央级公益性科研院所基本科研业务费专项基金项目(2014T09); 宁波市重大科技攻关项目(2013C11014).

作者简介: 张辉(1983-), 男, 助理研究员, 从事渔业资源与评估研究. E-mail: zhhui269@126.com

通信作者: 程家骅, 研究员. E-mail: ziyuan@sh163.net

鱼。实验地点为浙江省象山县象山湾大黄鱼苗种繁育中心。实验标记持续时间为2014年4月13–19日。实验选取4个900 L的倒六角锥形水泥池,池底锥顶为排水管道,池内装有加热钢管。在4个池中各放入2000尾的大黄鱼幼鱼,养殖用水为经室外天然海水蓄水池沉淀、砂滤池过滤、滤袋过滤后的三级处理海水。养殖水温20.7~23.0℃;盐度27.0~27.5; pH 7.8~8.5。每日换水80%,换水时,在锥底排水口套上网兜,收集统计大黄鱼幼鱼每日的死亡尾数。育苗室屋顶备有遮光黑塑料布以调节光照,光强控制在1000 lx以下,避免阳光直射和夜晚灯光照射。光照持续时间与自然白昼保持一致。每个水泥池内放一个充气石,保持水中氧气充足。饵料主要投喂天然海区捕捞的活桡足类,投喂量为50~100 g/(d·10⁴尾),投喂次数为3~4次/d。根据实验前的海水测定,该苗种繁育中心的海水Sr²⁺质量浓度为6 mg/L。实验主要通过调节海水中的Sr²⁺浓度来完成,选定其中2个水泥池作为标记组,2个为对照组,每次换水后,在标记组中加入一定量的SrCl₂·6H₂O来调节Sr²⁺的浓度,使得海水中的Sr²⁺的质量浓度保持在12 mg/L。

1.2 样品采集

实验样品的采集包括实验前期、实验后期和野生样本3部分:

(1) 实验前,从标记组 and 对照组中分别随机采集大黄鱼幼鱼样品100尾,标记组和对照组分别用M-0和C-0表示。

(2) 实验结束后,收集大黄鱼幼鱼每天死亡数据,并分两次采集大黄鱼幼鱼样品,一次为实验刚刚结束后,在标记组和对照组的4个池中各采集55尾样品,标记组和对照组分别用M-7和C-7表示;一次为实验结束后43 d,在标记组和对照组池中分别采集87尾和73尾样品,标记组和对照组分别用M-50和C-50表示。

(3) 大黄鱼幼鱼野生样本,通过舟山渔场2014年春季东海区底拖网常规调查获得,采样范围为30°30′–31°00′N, 122°30′–123°00′E,采捕获幼鱼共计25尾,野生样本用W表示。

1.3 样品处理

样品处理时,首先测量大黄鱼的标准体长(精确到0.01 mm)和体重(精确到0.01 g),取出耳石,参照张翼等^[19]的方法将耳石包埋、研磨和抛光,制成厚度约为0.5 mm的薄片,用于后续的分析。

1.4 元素分析

元素分析主要在农业部东海与远洋渔业资源开发利用重点实验室进行,水样分析采用Thermo X Series II ICPMS (Thermo Fisher Scientific, Bremen, Germany)进行分析,水样中锶、钙元素的分析参照张翼等^[19]的方法进行分析。该步骤主要用来检测水环境中锶元素的浓度。

耳石元素分析采用激光扫描测量,具体的耳石元素检测方法参照张翼等^[19]的方法进行。

检测限的确定主要参照张翼等^[19]的方法确定LA-ICPMS的元素检测限水平。

1.5 数据处理

大黄鱼幼鱼的生长状况可根据其体长与体重关系来反映其规律,体长与体重关系可用数学表达式来进行拟合,其表达式为^[13]:

$$W=aL^b$$

式中: L 表示大黄鱼幼鱼的体长, W 表示大黄鱼幼鱼的体重, a 为生长条件因子, b 为幂指数系数。

在处理元素分析数据时,先将检测的数据导入ICPMSDataCal软件中,利用NITS610的数据校正仪器的漂移,在分析时,先根据各元素的最低检测限(lowest detection limit)等指标,去除无效元素后再进行数据分析。耳石分析得到的锶元素和钙元素值是以碳酸盐标样MACS-3作为标准获得的。水样和耳石中的锶元素含量均以其浓度与Ca²⁺浓度的比值表示。

2 结果与分析

2.1 Sr/Ca 比值组成分析

本研究中,选取M-7、C-7、M-50、C-50和W的大黄鱼幼鱼耳石进行元素检测,其中标记组和对照组及其所对应的平行组各取15尾,野生样本选取30尾。通过ICP-MS检测分析后发现,经高浓度锶离子标记处理的大黄鱼人工繁育鱼苗耳石

在 M-7 和 M-50 中均形成了明显的锶元素指纹标记, 标记出现在距离标记组耳石核心的 0.65~0.80 mm 处耳石区段, 形成了一波峰。经统计学分析, 该区段标记组与对照组的 Sr/Ca 比值分别为 (3.58 ± 1.09) mmol/mol、 (1.73 ± 0.08) mmol/mol; 野生个体的 Sr/Ca 比值均值为 (1.09 ± 0.35) mmol/mol。通过配

对样本 t 检验, 标记组与对照组之间、标记组与野生组之间的 Sr/Ca 比值均有着极显著性差异 ($P < 0.01$)。因此, 该区段 Sr/Ca 比值的差异可视作标记组个体的耳石锶元素人工标记。检测结果表明, 锶元素的标志成功率为 100%。各组耳石的 Sr/Ca 比值(以一尾为例)见图 1 和图 2。

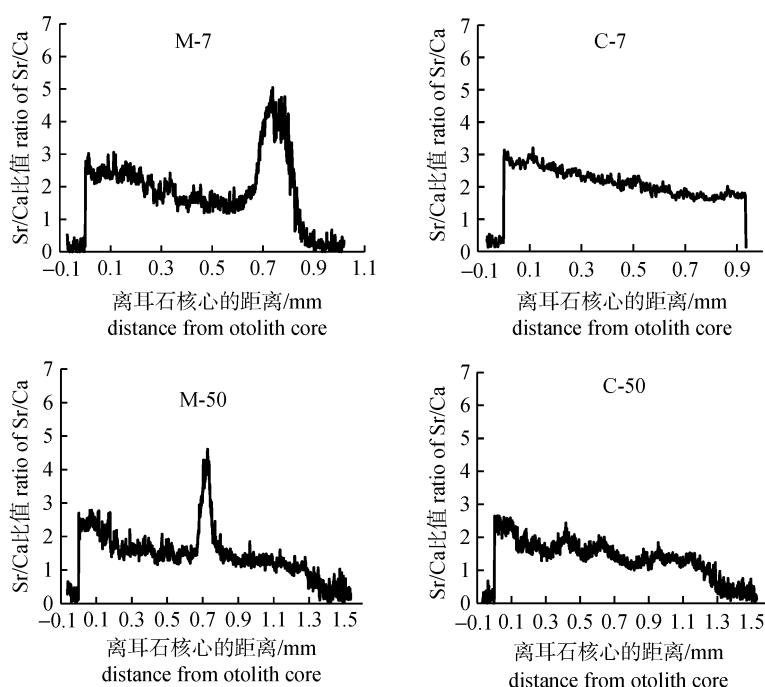


图 1 标记组和对照组大黄鱼锶钙比值

Fig. 1 Ratio of Sr/Ca in marked groups and controls of *Larimichthys crocea*

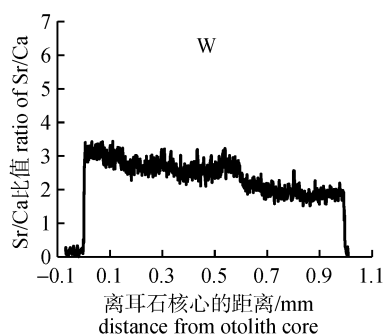


图 2 野生大黄鱼的锶钙比值

Fig. 2 The ratio of Sr/Ca in wild *Larimichthys crocea*

2.2 标记组和对照组的死亡率

锶存在于不同的天然水体中, 其中以海水中的锶含量为最高。为了确定锶元素对大黄鱼幼鱼死亡是否有影响, 在本研究中, 通过标记实验确

定标记组与对照组中大黄鱼幼鱼累计每天死亡尾数的平均值和标准差(图 3), 利用配对样本 t 检验对标记组和对照组累积死亡率进行差异性检验, 结果表明, 标记组和对照组的大黄鱼幼鱼累计死亡率差异不显著 ($P > 0.05$), 说明锶标志对大黄鱼幼鱼死亡的影响很小。

2.3 标记组和对照组的体征状况

体长与体重及其相互之间的关系是表征渔业生物种类体征状况的重要参数指标。在本研究中, M-7 大黄鱼幼鱼的平均体长和平均体重分别为 (19.43 ± 2.67) mm、 (0.11 ± 0.05) g, C-7 大黄鱼幼鱼的平均体长和平均体重分别为 (19.64 ± 1.99) mm、 (0.12 ± 0.04) g; M-50 大黄鱼幼鱼的平均体长和平均体重分别为 (44.76 ± 4.15) mm、 (1.82 ± 0.55) g, C-50

大黄鱼幼鱼的平均体长和平均体重分别为(43.26±4.71) mm、(1.62±0.53) g。

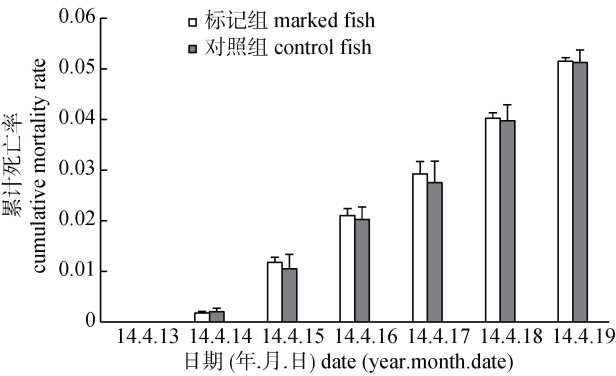


图 3 大黄鱼幼鱼标记组和对照组累积死亡率

Fig. 3 Cumulative mortality rate of *Larimichthys crocea* larvae in marked fish and the controls

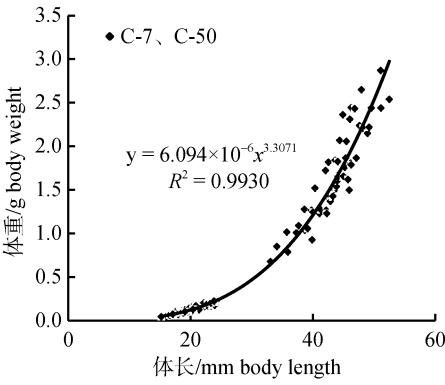
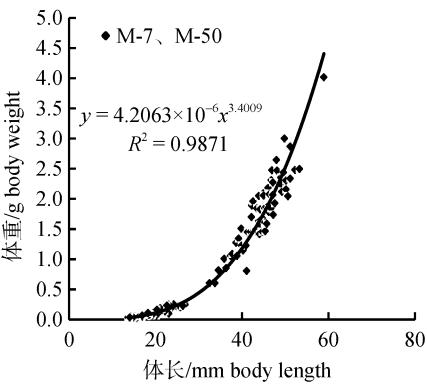


图 4 大黄鱼幼鱼体长-体重关系

Fig. 4 Relationship of length-weight in *Larimichthys crocea* larvae

表 1 大黄鱼标记组与对照组体长-体重关系的参数值
Tab. 1 Parameter values of length-weight relationship in marked *Larimichthys crocea* and the controls

属性 property	样本量 sample in number	<i>a</i>	<i>b</i>	<i>R</i> ²
标记组 marked fish	187	4.2063×10 ⁻⁶	3.4009	0.9871
对照组 control fish	165	6.0940×10 ⁻⁶	3.3071	0.9930

为了进一步比较标记和未标记大黄鱼体长与体重的差异,利用协方差分析对两者进行差异性检验。其中 lg*W* 为因变量,群体属性为固定因素,lg*L* 为协变量。结果表明,标记组和对照组的大黄鱼幼鱼体长-体重关系差异不显著($P>0.05$),说明锶元素标记对大黄鱼幼鱼生长的影响不大。

通过对标记前 M-0 和 C-0 的大黄鱼幼鱼样品体长与体重分别进行独立两样本 *t* 检验,检验结果发现,在样本方差非齐性的情况下,其显著性水平均大于 0.05。在标记实验完成后,再次对 M-7、C-7、M-50、C-50 的大黄鱼幼鱼样品体长和体重进行独立两样本 *t* 检验,检验结果发现,在样本方差非齐性的情况下,其显著性水平也均大于 0.05。

图 4 为 M-7 与 M-50、C-7 与 C-50 大黄鱼幼鱼体长-体重关系,其参数 *a*、*b* 和相关系数 R^2 采用最小二乘法进行估算(表 1)。幂指数 *b* 值可以用来判断鱼类是否处于等速生长,从拟合的结果可以看出,标记组和对照组的大黄鱼幼鱼 *b* 值均不等于 3,虽属于异速生长,但相差不大。

3 讨论

3.1 锶标记的适用性和稳定性

科学区分放流群体和自然群体是准确评估增殖放流效果的基础,同时也是困扰增殖放流效果评价的主要难题,因此,选择一种操作简单的、稳定易检的、成本低廉的标记方法对于增殖放流效果的评估是非常有必要的。目前,国内外采用的标志方法主要以挂牌标志法、体外标志法、体内标志法和生物遥测法几种,这些方法多只适合于规格较大的鱼类个体,且这些方法工作量大、死亡率高、标签易脱落、不适合规模化标志^[14-15]。大黄鱼作为中国衰退的经济鱼种之一,被率先作

为规模化增殖放流的对象, 由于其放流的规格较小、数量较大, 采用常规的标记方法很难以进行规模化标记以及科学准确的增殖效果评估。鱼类耳石是一种典型的生命矿物载体, 其标记法包括化学标记法和热标记法, 为小型鱼类大规模标记的理想手段^[16-17]。本研究采用了耳石标记法中的化学标记法, 其方法是通过改变放流大黄鱼幼鱼养殖水体锶元素浓度, 使得大黄鱼幼鱼耳石上某段时期的锶元素浓度与正常值存在明显的差异。从本研究的研究结果中可以看出标记组与对照组之间、标记组与野生个体组之间在距离耳石核心 0.65~0.80 mm 处的锶钙比值有极其显著的差异, 且从 M-7 和 M-50 的结果发现, 在距离耳石核心 0.65~0.80 mm 处形成的峰值差异不会随着时间的变化而改变。从标记的原理和分析的结果可以发现, 通过锶元素进行标记的方法是一种操作简单、可靠而又稳定的小规格放流苗种的规模化标记方法, 且这种方法无论从标记药物成本还是鱼苗成活率上都极大地降低了标记综合成本。

3.2 锶标记对于大黄鱼幼鱼生长死亡的影响

本研究拟通过锶元素标记, 确定锶元素对于大黄鱼幼鱼的影响, 为增殖放流效果评价提供科学的理论依据。一般而言, 并不认为锶元素对生物是有害的。有关锶的毒性, 从毒性效应的快慢, 可分为急性毒性效应和慢性毒性效应, 有关锶的慢性毒性效应的研究目前较少, Pyle 等^[18]研究表明, 锶的浓度与孵化率有显著的相关性, 但与幼鱼的死亡率没有关联。张翼等^[19]研究表明, 在锶浓度为海水锶浓度的 1~3 倍时, 养殖 55 d 后, 大黄鱼幼鱼的存活率很高。从锶的急性毒性效应来讲, 在淡水中, 目前还没发现锶的 96 h 半致死浓度的鱼种的资料, 在海水中, 对条纹鲈(*Morone saxatilis*)^[20]、2 种海水鲱^[21]和鲈(*Pleuronectes splatessa*)^[22]的研究表明海水鱼对锶的敏感性较小, 在这些研究中提到 48 h 或 96 h 的半致死浓度值均超过了 92.8 mg/L, 这大约为海水中锶浓度的十几倍。本研究对大黄鱼幼鱼放流前进行的锶元素标志添加量为 6 mg/L, 远远低于锶的半致死剂浓度, 而且根据本研究的标记组与对照组大黄鱼

幼鱼死亡尾数研究的结果表明, 加入 6 mg/L 的锶的标记组与对照组死亡尾数差异并不显著。因此, 从大黄鱼幼鱼死亡率的角度来看, 用低浓度的锶标记大黄鱼幼鱼是可行的。

锶存在于大自然的所有生物中, 人体所有的组织都含有锶, 但它是否为生物体所必需的元素还有待证实。从许多研究中可以证明锶元素对一些生物体的生长发育有着促进作用。蔺艳等^[23-25]研究发现高锶矿泉水在锶浓度不超过 8 mg/L 时对细胞增殖有益, 其中锶浓度为 4 mg/L 的效果最突出, 主要以延长其增殖周期为主。刘存岐等^[26]研究认为低浓度的锶对于中国对虾和糠虾的成活与变态有着明显的促进作用。Bidwell 等^[27]和 Hanlon 等^[28]研究表明加州海兔(*Aplysia californica*)和几种头足类生物在不含锶的海水中孵化和培育后, 发育会产生缺陷以及游泳异常。宋洪建^[29]在研究的大麻哈鱼(*Oncorhynchus keta*)中发现, 当锶浓度为 10 mg/L 时, 大麻哈鱼稚鱼的各项生长指标均最高, 随着锶浓度的增加, 各项生长指标均逐渐降低, 较高的锶浓度还可能对其生长有抑制作用。可以发现, 每种生物对于锶元素的浓度的需求都有一个最适值, 过高或过低均不利于其生长。本研究的研究对象为大黄鱼幼鱼, 由于实验条件和时间问题, 并没有通过不同浓度的锶对大黄鱼的各项生长指标进行检查, 本研究只是反映加入 6 mg/L 的锶的标记组是否对大黄鱼幼鱼生长状况有抑制作用, 通过结果, 发现加入 6 mg/L 的锶的标记组与对照组体长与体重以及相互之间的关系均不显著, 即加入 6 mg/L 的锶的海水对于大黄鱼幼鱼的生长并没有影响。

渔业资源增殖放流的主要目的是为了恢复渔业资源产量, 实现资源的可持续化。本研究中将锶元素作为一种人工标记物来区分大黄鱼放流群体和自然群体, 相对于传统的标记方法而言无异于是一种新的方法。作为一种新的方法, 首先考虑的是这种方法对于被标记的大黄鱼鱼种是否有伤害, 这在本研究中已证实。其次还应当注意到锶元素在大黄鱼主要器官和肌肉中的残留量是否对人体有害, 虽然人体所有组织都含有一定的锶

元素,但锶元素过量会对人体带来哪些危害还不清楚,因此,从水产品安全角度来看,后续工作应采取对标记完后的大黄鱼主要器官和肌肉进行锶元素浓度检测。

参考文献:

- [1] Zhao C Y, Chen Y F, Hong G C, et al. Investigation and regionalization of fishery resources in the East China Sea region[M]. Shanghai: East China Normal University Press, 2006. [赵传纲, 陈永法, 洪港船, 等. 东海区渔业资源调查和区划[M]. 上海: 华东师范大学出版社, 2006.]
- [2] Ye J Q. Resource and biological characteristics of large yellow croaker (*Larimichthys crocea*) in Guanjingyang[D]. Shanghai: Shanghai Ocean University, 2012. [叶金清. 官井洋大黄鱼的资源和生物学特征[D]. 上海: 上海海洋大学, 2012.]
- [3] Hu Y M. The historical and present status of large yellow croaker germplasm in East Sea[J]. Journal of Shaoxing University, 2006, 26(7): 49–53. [胡银茂. 东海海区大黄鱼种质资源的历史演变和现状分析[J]. 绍兴文理学院学报, 2006, 26(7): 49–53.]
- [4] Xu K D, Liu Z F. The current stock of large yellow croaker *Pseudosciaena crocea* in the East China Sea with respects of its stock decline[J]. Journal of Dalian Fisheries University, 2007, 22(5): 392–396. [徐开达, 刘子藩. 东海区大黄鱼渔业资源及资源衰退原因分析[J]. 大连水产学院学报, 2007, 22(5): 392–396.]
- [5] Ye J Q, Xu Z L, Chen J J, et al. Resources status of large yellow croaker in Guanjinyang using von Bertalanffy growth equation and fishing mortality parameters[J]. Journal of Fisheries of China, 2012, 36(2): 238–246. [叶金清, 徐兆礼, 陈佳杰, 等. 基于生长和死亡参数变化的官井洋大黄鱼资源现状分析[J]. 水产学报, 2012, 36(2): 238–246.]
- [6] Zhang Q H, Cheng J H, Xu H X, et al. Fishery resources and its sustainable utilization in the East China Sea region[M]. Shanghai: Fudan University Press, 2007. [张秋华, 程家骅, 徐汉祥, 等. 东海区渔业资源及其可持续利用[M]. 上海: 复旦大学出版社, 2007.]
- [7] Pollard M J, Kingsford M J, Battaglene S C. Chemical marking of juvenile snapper, *Pagrus auratus* (Sparidae), by incorporation of strontium into dorsal spines[J]. Fish Bull, 1999, 97(1): 118–131.
- [8] Schroder S L, Volk E C, Hagen P. Marking salmonids with strontium chloride at various life history stages[Z]. NPAFC Technical Report, 2001(3): 9–10.
- [9] Fu Z D, Xie T M, Song Z B. Studies on elemental fingerprints in otolith of fish[J]. Chinese Journal of Applied and Environmental Biology, 2007, 13(2): 278–283. [付自东, 谢天明, 宋昭彬. 鱼类耳石元素指纹研究进展[J]. 应用与环境生物学报, 2007, 13(2): 278–283.]
- [10] Campana S E. Chemistry and composition of fish otoliths: pathways, mechanisms and applications[J]. Mar Ecol Prog Ser, 1999, 188: 263–297.
- [11] Mugiya Y. Studies on otolith reading in fish[J]. Nippon Suisan Gakkaishi, 1994, 60: 7–11.
- [12] Morris J A, Rulifson R A, Toburen L H. Life history strategies of striped bass, *Morone saxatilis*, populations inferred from otolith microchemistry[J]. Fish Res, 2003, 62(1): 53–63.
- [13] Zhan B Y. Fish Stock Assessment[M]. Beijing: China Agriculture Press, 1995. [詹秉义. 渔业资源评估[M]. 北京: 中国农业出版社, 1995.]
- [14] Pan X W, Yang L L, Ji W W, et al. Advances in technology of enhancement and releasing[J]. Jiangsu Agricultural Sciences, 2010(4): 263–240. [潘绪伟, 杨林林, 纪炜炜, 等. 增殖放流技术研究进展[J]. 江苏农业科学, 2010(4): 263–240.]
- [15] Chen J T, Dai X J. Current status of fish tagging technology[J]. Journal of Shanghai Fisheries University, 2005, 14(4): 451–456. [陈锦淘, 戴小杰. 鱼类标志放流技术的研究现状[J]. 上海水产大学学报, 2005, 14(4): 451–456.]
- [16] Wang Z K, Zhao T, Lin X T, et al. Effects of alizarin complexone (ALC) on otolith marking, growth, and survival of *Tanichthys albonubes*[J]. Chinese Journal of Ecology, 2015, 34(1): 189–194. [王正鲲, 赵天, 林小涛, 等. 茜素络合物对唐鱼耳石标记效果以及生长和存活率的影响[J]. 生态学杂志, 2015, 34(1): 189–194.]
- [17] He C L, Fu Z D, Yan T M, et al. Otolith marking of larval *Schizothorax davidi* with fluorescent substances[J]. Sichuan Journal of Zoology, 2008, 27(3): 331–334. [何春林, 付自东, 严太明, 等. 用荧光物质浸泡标记重口裂腹鱼仔鱼耳石[J]. 四川动物, 2008, 27(3): 331–334.]
- [18] Pyle G G, Swanson S M, Lehmkuhl D M. Toxicity of uranium mine receiving waters to early life stage fathead minnows (*Pimephales promelas*) in the laboratory[J]. Environ Pollut, 2002, 116(2): 243–255.
- [19] Zhang Y, Li Y X, Xu X M, et al. Effects of environmental factors on otolith Sr incorporation in juvenile *Larimichthys crocea*[J]. Marine Fisheries, 2013, 35(3): 278–288. [张翼, 黎雨轩, 徐献明, 等. 环境因子对大黄鱼耳石锶元素富积的影响[J]. 海洋渔业, 2013, 35(3): 278–288.]
- [20] Dwyer F J, Burch S A, Ingersoll C G, et al. Toxicity of trace element and salinity mixtures to striped bass (*Morone saxatilis*) and *Daphnia magna*[J]. Environ Toxicol Chem, 1992,

- 11(4): 513–520.
- [21] Pillard D A, DuFresne D L, Caudle D D, et al. Predicting the toxicity of major ions in seawater to mysid shrimp (*Mysidopsis bahia*), sheepshead minnow (*Cyprinodon variegatus*), and inland silverside minnow (*Menidia beryllina*)[J]. *Environ Toxicol Chem*, 2000, 19(1): 183–191.
- [22] Randy H F. Aquarium chemistry: strontium and the reef aquarium[EB/OL]. *Advanced Aquarist's On-line Magazine*, 2003, <http://www.adcancedaquarist.com/2003/11/chemistry>.
- [23] Lin Y, Zhang Y Q, Pan Q W, et al. Effects of strontium mineral water on proliferation and function of human umbilical vein endothelial cells[J]. *Chinese Journal of Food Hygiene*, 2013, 25(2): 136–139. [蔺艳, 张莹茜, 盘强文, 等. 锶矿泉水对人血管内皮细胞的增殖和功能的影响[J]. *中国食品卫生杂志*, 2013, 25(2): 136–139.]
- [24] Lin Y, Pan Q W, Feng Z Q, et al. Effects of different concentration of strontium mineral water on proliferation and function of human hrpatocytes[J]. *Journal of Luzhou Medical College*, 2013, 36(1): 23–26. [蔺艳, 盘强文, 冯志强, 等. 不同浓度的高锶矿泉水对人肝细胞增殖及功能的影响[J]. *泸州医学院学报*, 2013, 36(1): 23–26.]
- [25] Lin Y, Pan Q W, Feng Z Q, et al. Effects of strontium mineral water on the proliferation and adenosine-triphosphatase activity of human renal tubular epithelial cells[J]. *Chinese Journal of Tissue Engineering Research*, 2012, 16(15): 2801–2804. [蔺艳, 盘强文, 冯志强, 等. 锶矿泉水对人肾小管上皮细胞增殖及 ATP 酶活性的影响[J]. *中国组织工程研究*, 2012, 16(15): 2801–2804.]
- [26] Liu C Q, Wang A L, Wang W N, et al. The effects of Cu^{2+} , Mn^{2+} and Sr^{2+} in seawater on the survival and metamorphosis of *Penaeus chinensis* mysis[J]. *Acta Scientiarum Naturalium Universitatis Sunyatseni*, 2000, 39(s1): 132–134. [刘存岐, 王安利, 王维娜, 等. 海水中 Cu^{2+} , Mn^{2+} 和 Sr^{2+} 对中国对虾糠虾幼体成活率与变态率的影响[J]. *中山大学学报: 自然科学版*, 2000, 39(s1): 132–134.]
- [27] Bidwell J P, Paige J A, Kuzirian A M. Effects of strontium on the embryonic development of *Aplysia californica*[J]. *Biol Bull*, 1986, 170(1): 75–90.
- [28] Hanlon R T, Bidwell J P, Tait R. Strontium is required for statolith development and thus normal swimming behavior of hatchling cephalopods[J]. *J Exp Biol*, 1989, 141: 187–195.
- [29] Song H J. Allometric growth of chum salmon larvae and effects of strontium on physiological indices of their juveniles[D]. Harbin: Northeast Agricultural University, 2013. [宋洪建. 大麻哈鱼仔鱼异速生长和锶对其稚鱼生理指标的影响[D]. 哈尔滨: 东北农业大学, 2013.]

Strontium marking on otolith of *Larimichthys crocea*

ZHANG Hui, JIANG Yazhou, YUAN Xingwei, ZHANG Yi, LI Shengfa, CHENG Jiahua

East China Sea Fisheries Research Institute, Chinese Academy of Fishery Sciences; Key Laboratory of East China Sea and Oceanic Fishery Resources Exploitation, Ministry of Agriculture, Shanghai 200090, China

Abstract: Enhancement and release of *Larimichthys crocea* has become more and more important because of continual decline in its resources. The traditional method of marking was not suitable for the larvae of *Larimichthys crocea*. In order to effectively evaluate its effect of the enhancement, it has been a top priority to build a scale method of marking which is suitable for the larvae of *Larimichthys crocea*. The paper studied the effects of hexahydrate strontium chloride on otolith marking, growth and survival of *Larimichthys crocea*, aiming to improve the applicability of this marking technique in tracing *Larimichthys crocea* for a better evaluating of its effect of the enhancement. The experiment selected 4 groups' the larvae of *Larimichthys crocea* that were hatchery-reared, each group had 2000 larvae of *Larimichthys crocea*. Two groups were immersed by hexahydrate strontium chloride, and others were used as control groups. Before the experiment, we respectively selected 50 larvae in 4 groups to compare their difference of body length and body weight. During the experiment, we recorded the number of deaths per day so that we compared their difference of survival rate. After they were experimented 7 d and 50 d, we randomly selected 15 larvae in 4 groups, respectively. We compared their difference of growth by biological determination, and we used laser ablation inductively coupled plasma mass spectrometry (LA-ICP-MS) to analyze the otolith of strontium distribution features. The results showed that fish exposed to increased levels of strontium had higher strontium-calcium ratio in the given part of the otolith relative to those of control and wild fish. The higher strontium-calcium ratio in the given part of the otolith was located by 0.65 to 0.80 mm far away from the core area of the otolith. The strontium-calcium ratios in the given part of the otolith for the marked, control and wild fish were (3.58 ± 1.09) mmol/mol, (1.73 ± 0.08) mmol/mol, and (1.09 ± 0.35) mmol/mol, respectively. They had extremely significant difference ($P < 0.01$). The higher otolith strontium-calcium ratio could be used as elemental fingerprint in identifying marked fish. In addition, there were no significant difference in survival rate among marked and control fishes by the statistical test ($P > 0.05$), indicating that immersion in water enriched in strontium did not negatively affect the survival rate of marked fish. In terms of growth, after experimented for 7 d, the average of body length and body weight of marking group and control group were (19.43 ± 2.67) mm and (0.11 ± 0.05) g, and (19.64 ± 1.99) mm and (0.12 ± 0.04) g, respectively. After experimented for 50 d the average of body length and body weight of marking group and control group were (44.76 ± 4.15) mm, (1.82 ± 0.55) g, and (43.26 ± 4.71) mm, (1.62 ± 0.53) g, respectively. The body length, body weight and their relationship were tested according to statistical methods. We found that there were no significant difference ($P > 0.05$), implying that strontium did not negatively affect the growth of marked fish. Our results suggested that immersion in water enriched with strontium could be an effective means of marking hatchery-reared *Larimichthys crocea* for stock enhancement. The means could provide solid fundament for the evaluation about scientific and reasonable enhancement and release.

Key words: *Larimichthys crocea*; tagged releasing; strontium; otolith; elemental analysis; mortality rate; growth

Corresponding author: CHENG Jiahua. E-mail: ziyuan@sh163.net