

石斑魚雜交研究回顧

邱沛盛、陳陽德、朱永桐、葉信利

水產試驗所海水繁養殖研究中心

前言

近年來由於全球氣候變遷造成海水暖化及酸化，加之集約式養殖過程中因高密度養殖導致緊迫而對特定疾病的感受性增加，養殖魚類對於上述逆境的耐受性逐漸受到考驗。在石斑魚養殖產業方面，除了致力於養殖環境改善及養殖技術提升外，透過雜交育種的方式培育成長快速、抗病力強及耐逆境的雜交石斑魚被認為是對抗逆境與提升收益的有效方法，此外也能藉由新穎的品種名及美味的肉質在市場行銷層面增加商品的附加價值。

雜交 (hybridization) 是提升養殖魚類品質及產能的有效方法之一。不同物種間的雜交育種，使基因重新組合，遺傳結構多樣化，其雜交種 (hybrids) 可能會獲得來自親代的優勢性狀，例如成長快速、肉質改善、對疾病與不良環境的耐受性增強等 (Nguenga et al., 2000; Bartley et al., 2001; Hulata, 2001)，這些性狀表現有時會優於親本，稱之為雜交優勢。淡水魚類的雜交工作始於 1558 年，Genner 將金魚 (*Carassius auratus*) 及鯉魚 (*Cyprinus carpio*) 雜交，成功獲得雜交種，此為世界上首次的魚類雜交紀錄。海水魚類的雜交研究起步較晚，藤田於 1966 年發表紅鰭東方魷 (*Fugu rubripes*) 雌魚及黃鰭東方魷 (*F. xanthopterus*) 雄魚的雜交及仔魚飼養

試驗，紅鰭東方魷殘食性較強，透過雜交可培育出較溫馴的子代 (張等，2014)。在美國，條紋鱸 (*Morone saxatilis*) 雌魚與白鱸 (*M. chrysops*) 雄魚培育出來的雜交條紋鱸具有生長快速的優勢，抗病力與逆境耐受性也優於親本，成為美國主要的養殖魚種 (Tuncer et al., 1990; Hanfman, 1993)。村田 (2000) 報導條斑星鰈 (*Verasper moseri*) 及圓斑星鰈 (*V. variegatus*) 的正反雜交試驗；李 (2006) 進行牙鯧 (*Paralichthys olivaceus*) 雌魚及圓斑星鰈雄魚的遠緣雜交，並進一步描述胚胎及仔稚魚的發育過程，結果顯示雜交種受精卵能夠正常發育，其受精率、孵化率及存活率接近甚至高於親本。石斑魚為我國重要的經濟養殖魚種，本文整理從 1979—2018 年的石斑雜交研究報告，供相關人員參考，期能對臺灣的石斑魚養殖產業與研究有所助益。

研究回顧

一、傳統人工雜交試驗

1980 年代，曾文陽等人在中國水產月刊及水產養殖 (Aquaculture) 期刊上發表赤點石斑 (*Epinephelus akaara*) 及鑲點石斑 (*E. amblycephalus*) 雜交的初步成果，描述其仔稚魚的培育過程 (曾與潘，1979; Tseng and Poon, 1983)。宋與許 (1987) 以鱸滑石斑 (*E.*

tauvina) 雌魚及赤點石斑雄魚進行雜交，其子代表現出成長快速的雜交優勢，生長速度比赤點石斑快 50% 以上，並有較佳的抗病力。Yeh et al. (1991a, b) 發表點帶石斑 (*E. coioides*) 及瑪拉巴石斑 (*E. malabaricus*) 的雜交繁殖試驗，描述雜交後受精卵發育過程，並比較其與點帶石斑親本之發育速度及測定不同鹽度下的孵化率，結果顯示雜交種石斑在鹽度 25 psu 以上孵化時間較短，孵化率則以鹽度 15–35 psu 較佳。

Ch'ng and Senoo (2008) 發表棕點石斑 (*E. fuscoguttatus*) (俗稱虎斑) 及鞍帶石斑 (*E. lanceolatus*) (俗稱龍膽) 雜交試驗結果，其雜交種在國內稱為龍虎斑或珍珠龍膽，另外，點帶石斑與棕點石斑的雜交試驗也有學者投入研究 (Koh et al., 2008)。2009 年中國廣東省大亞灣水產試驗中心分別培育出四種雜交石斑，該計畫以點帶石斑為雌性親魚，進行種間、屬間、亞科間及科間雜交試驗，探討石斑魚遠緣雜交的可行性，選育出青龍斑 (點帶石斑 × 鞍帶石斑)、龍虎斑 (棕點石斑 × 鞍帶石斑) 兩個具有顯著生長優勢的雜交種。

Li (2013) 以褐石斑 (*E. bruneus*) (俗稱油斑) 雌魚與七帶下美鮨 (*Hyporthodus septemfasciatus* Thunberg, 1793; 同種異名: *Epinephelus septemfasciatus*, 舊稱七帶石斑) 雄魚雜交，受精卵卵徑 0.86 ± 0.03 mm，經過 35 小時又 20 分鐘孵化。上述種類主要分布於溫帶水域，因為水溫較低，孵化時間較國內常見的養殖石斑魚長，且子代需飼養於水溫 21.0–22.5°C 環境中 (Doi et al., 1991; Ho et al., 1997; Zou et al., 2003; Leu et al., 2005)。

Yang et al. (2014) 以 HCG (人類絨毛膜性腺激素) 及 LHRH (促性腺激素釋放素) 注射褐石斑雌魚催熟採卵後，與赤點石斑雄魚精液混合，雜交受精卵卵徑 0.86 ± 0.02 mm，在水溫 $26.0 \pm 0.5^\circ\text{C}$ 、鹽度 32 psu 條件下經約 25 小時孵化。Li et al. (2015) 考慮雲紋石斑 (*E. moara*) 及赤點石斑雌魚的性成熟體型，認為赤點石斑成熟年齡較早，在實際管理上較簡便且可操作性較高，因此以赤點石斑做母本，其雜交子代生長速度接近雲紋石斑，外部形態特徵則與赤點石斑相近，在室內養殖可正常越冬，證實正反不同雜交組合仍有經濟價值。

二、水槽內自然雜交

James et al. (1999) 將達性成熟的棕點石斑及清水石斑 (*E. polyphemus*) 親魚蓄養在同一個水槽使其自然交配，於新月 (new moon) 後 3 天產卵，受精率為 96%、孵化率 80%，此篇報告是少數描述石斑魚在水槽中自然雜交的例子。

三、以冷凍保存精液進行雜交試驗

Kiriyakit et al. (2011) 開始以冷凍保存 (cryopreservation) 精液進行鞍帶石斑雄魚與點帶石斑雌魚的雜交研究。冷凍保存技術被廣泛應用於基因保存、配子保存及親魚管理 (Blaxter, 1953; Bart, 2000)，除此之外也能使研究人員在魚類的非生殖季節期間進行人工繁殖，或是進行不同棲地物種的雜交工作。例如鞍帶石斑雄魚的成熟體型相當大，雄魚稀少，即便擁有成熟雄魚，要採集精液時仍需勞師動眾的搬運及麻醉，而透過冷凍保存精液，則可使人工繁殖與雜交工作更為容易 (Kiriyakit et al., 2011)。

Chen et al. (2018) 描述雲紋石斑雌魚及鞍帶石斑雄魚雜交子代的胚胎及仔稚魚發育，雌魚經過 HCG (300 IU/kg) 及 LHRH-A3 (3 μ g/kg) 注射催熟取卵，將其與冷凍保存的鞍帶石斑精液混合受精，獲得的受精卵受精率為 $46.38 \pm 16.27\%$ ，孵化率為 $14.35 \pm 8.02\%$ ，但雜交子代畸形率高達 85—90%，表現不甚理想。

四、研發現況

回顧 1979—2018 年的研究報告，顯示出石斑魚雜交是可行的，甚至不同屬之間也可雜交，然而並非每一種雜交組合都能產生雜交優勢，部分子代仍然存在高死亡率、高畸形率等問題，在產量上還不能滿足產業需求，生產較為穩定並成功產業化的迄今僅有龍虎斑 (圖 1)，至於其他種類石斑的雜交工作，還有許多難題待克服。

關於親魚的重要參數

親魚培育、催熟、精液及卵粒取得為進行石斑雜交工作的第一步，需要了解雌雄親

魚的種別、成熟體型 (重)、注射催熟激素種類與劑量、精液取得及人工授精操作方法才能在後續的實驗中獲得理想的成果，關於親魚的重要參數詳如表 1，以下重點概述：

一、親魚種別

種別確認有助於吾人確定雜交工作的目的及欲獲得的經濟性狀，例如：鞍帶石斑成長快速，棕點石斑抗逆境強及肉質細嫩，將上述兩種石斑魚進行雜交，就是希望培育出抗逆境強又成長快速的子代；另褐石斑為溫帶種類，對低溫耐受性較高，將褐石斑雌魚與鞍帶石斑雄魚雜交，即期望子代能具備耐寒又成長快速的雜交優勢。

許多報告提及用來雜交之親魚體重，Koh et al. (2010) 用來雜交的點帶石斑雌魚體重為 7.5 kg，鞍帶石斑雄魚為 35 kg，而 Kiriya et al. (2011) 則使用 67 kg 的鞍帶石斑雄魚，兩者皆成功育出雜交子代，體重資訊可做為吾人日後選擇何種體型的石斑魚作為雜交親魚時的重要參考。較小的赤點石斑雄魚成熟體型在 0.78 kg 時即可採集到精液 (Yang et al., 2014)，雌魚則是 0.54 kg 經注射

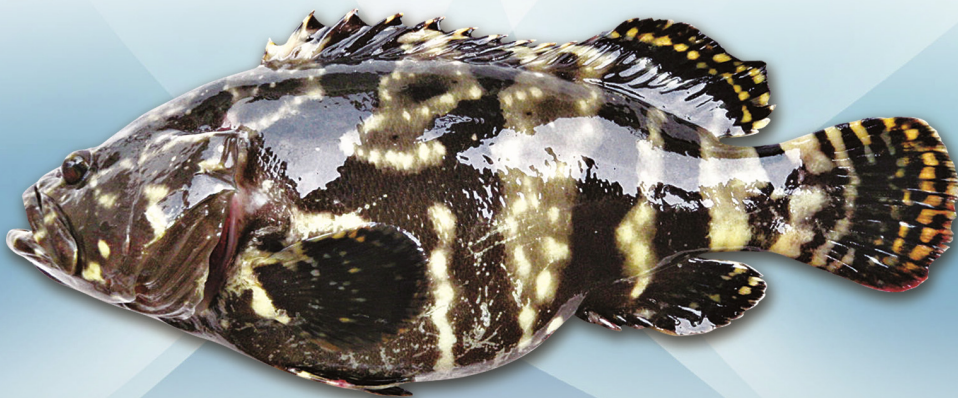


圖 1 棕點石斑及鞍帶石斑雜交種，俗稱龍虎斑、珍珠龍膽

表 1 雜交石斑魚雌雄親魚重要資訊

雌 魚	雄 魚	雌魚體重 (kg)	雄魚體重 (kg)	親魚培育水溫 (°C)	雌魚催熟激素種類	催 熟 劑 量	雄 魚 精 液 來 源	受精時間 (分鐘)	參考文獻
<i>E. coioides</i>	<i>E. lanceolatus</i>	7.5	35.0	26.2-28.4	HCG	500 IU/kg	現場採集	1	Koh et al., 2010
		6.34	67.7±10.0	-	LHRH	10-20 µg/kg	冷凍保存	3	Kiriyakit et al., 2011
<i>E. coioides</i>	<i>E. akaara</i>	-	-	-	LHRH-A2, HCG	1.5 µg/kg 100 IU/kg	現場採集	-	LiuFu et al., 2007
<i>E. coioides</i>	<i>E. malabaricus</i>	5-6.4	1.5-2.4	-	HCG	500-1000 IU/kg	現場採集	-	Yeh et al., 1991a
		4.2-10	1.1-3.2	-	HCG	430-1116 IU/kg	現場採集	-	Yeh et al., 1991b
<i>E. fuscoguttatus</i>	<i>E. lanceolatus</i>	8.2	-	-	HCG	500 IU/kg	現場採集	-	Ch'ng and Senoo, 2008
<i>E. fuscoguttatus</i>	<i>E. polyphkadion</i>	12	5	-	-	-	自然釋放	-	James et al., 1999
<i>E. marginatus</i>	<i>E. aeneus</i>	7.1	0.35	-	-	-	-	3	Glamuzina et al., 1999
<i>E. costae</i>	<i>E. marginatus</i>	4.2	0.24-0.31	25-25.58	-	-	現場採集	3	Glamuzina et al., 2001
<i>E. moara</i>	<i>E. lanceolatus</i>	3.3	-	-	LHRH-A3, HCG	3 µg/kg 300 IU/kg	冷凍保存	-	Chen et al., 2018
		15.7-19.4	20.4±1.1	-	HCG	-	冷凍保存	-	Murata et al., 2017
<i>E. bruneus</i>	<i>Hyporthodus septemfasciatus</i> *	-	-	-	LHRH-A2, HCG	-	現場採集	10	Li, 2013
<i>E. bruneus</i>	<i>E. akaara</i>	10.3±3.4	0.78±0.9	-	HCG, LHRH	-	現場採集	-	Yang et al., 2014
		10.9	0.8	-	HCG, LHRH	-	現場採集	10	Li et al., 2013
<i>E. akaara</i>	<i>E. moara</i>	0.54	24.10	-	HCG, LHRH	-	現場採集	10	Li et al., 2015
<i>E. amblycephalus</i>	<i>E. akaara</i>	2-3	-	27-28	HCG	1,000 IU/kg	現場採集	-	Tseng and Poon, 1983

* 同種異名：*Epinephelus septemfasciatus*；-：未發表

催熟，再經人工擠卵 (Li et al., 2015)，可惜這篇報告並未提及注射時間與劑量。

二、雌性親魚催熟

石斑雜交工作不同於自然產卵或者人工催熟再放入塢池中交配產卵，而是必須利用人工擠精擠卵再以特定比例混合，特別是雌魚需要反覆檢查卵粒成熟狀態以決定是否進行催熟 (圖 2)，在現場工作中多半憑藉經驗決定是否注射催熟，缺乏科學化又快速的方法。因此，未來仍需朝向量化、標準化、再現性高的方式來做催熟時機的快速判斷。用來注射雌性石斑魚的激素通常為 HCG 及 LHRH，其劑量因魚隻體重、種別而有不同，範圍分別為 100－1,116 IU/kg 及 1.5－20 µg/kg。



圖 2 藉由生殖腺採樣檢查親魚卵粒成熟度

三、雄性親魚精液取得及人工授精

精液的取得可分為現場採集及使用冷凍保存精液，大部分的研究多採用現場採取雄魚精液，但近年採取冷凍保存精液進行雜交的報告也逐漸增加 (Kiriyakit et al., 2011; Murata et al., 2017; Tian et al., 2017; Chen et al., 2018)。人工授精方面，又可分為乾導法及濕導法，乾導法先將精液與卵粒混合 3－5

分鐘後再加入海水活化精子，使精卵結合，再透過洗卵、沉澱分離獲得雜交受精卵；濕導法則先用海水活化精子再與卵粒混合，其混合時間範圍在 1—10 分鐘 (Glamuzina et al., 1999; Koh et al., 2010; Li et al., 2013; Li et al., 2015)，混合後再以乾淨海水洗卵 (圖 3)，繼續後續觀察發育情形。



圖 3 精卵混合後的洗卵工作，目的為洗去剩餘的精液與雜質

關於雜交子代的重要參數

回顧過去的文獻，有關石斑魚雜交研究多半聚焦於雜交子代的初期發育、形態學描述、生長、畸形及活存率，藉由以上參數與親代之間的比較，評估雜交子代的發展潛力與雜交優勢，關於雜交子代的重要參數詳如表 2，以下重點概述：

一、溫度、鹽度及受精卵卵徑

石斑魚雜交種培育的溫度多半隨著親種的生存環境而定，水溫範圍在 21.0—29.8℃，鹽度範圍在 22—43 psu，受精卵卵徑大致與親本相同，大部分在 0.80—1.20 mm，但赤點石斑的卵徑較小 (0.70—0.77 mm)

表 2 雜交石斑子代的培育環境及初期發育相關資訊

雜交種(♀×♂)	水溫(℃)	鹽度(psu)	卵徑(mm)	孵化時間(時:分)	受精率(%)	孵化率(%)	畸形率(%)	剛孵化仔魚體全長(mm)	參考文獻
<i>E. coioides</i> × <i>E. lanceolatus</i>	28.0-29.0	30	0.836±0.10	17:30	91.0	33.6	-	1.53±0.01	Koh et al., 2010
	-	-	-	-	78.5	82.2	-	-	Huang et al., 2014
	28-28.5	30	-	19:20	76.67±4.10	51.33±4.91	47.0±2.65	2.0±0.2	Kiriya et al., 2011
<i>E. coioides</i> × <i>E. fuscoguttatus</i>	-	-	0.83±0.02	17:30-19:00	-	-	-	-	Koh et al., 2008
<i>E. coioides</i> × <i>E. akaara</i>	26.9-27.5	29.1-29.5	0.893	23:10	32.5-92.5	42.5-92.5	4.5-70.5	1.81±0.02	LiuFu et al., 2007
<i>E. coioides</i> × <i>E. malabaricus</i>	28	34	-	20:40	-	-	-	1.60	Yeh et al., 1991a
<i>E. fuscoguttatus</i> × <i>E. lanceolatus</i>	28.5	30	0.84±0.03	18:00	86.8	87.2	-	2.00±0.30	Ch'ng and Senoo, 2008
<i>E. costae</i> × <i>E. marginatus</i>	25-25.58	38	-	27:00	50.0	95	-	1.80±0.09	Glamuzina et al., 2001
<i>E. marginatus</i> × <i>E. aeneus</i>	24.1-24.8	38	0.855	28:00	70	95	-	-	Glamuzina et al., 1999
<i>E. moara</i> × <i>E. lanceolatus</i>	23-24	34	0.877±0.031	32:45	46.38±16.27	14.35±8.02	85-90	1.95±0.06	Chen et al., 2018
<i>E. bruneus</i> × <i>E. lanceolatus</i>	26.1-29.6	-			95.3	8.8	26.8±18.0	2.62±0.076	Murata et al., 2017
<i>E. bruneus</i> × <i>Hyporthodus septemfasciatus</i> *	21-22.5	29	0.86±0.03	35:20	-	92.1±0.21	2.83±1.35	1.63±0.09	Li, 2013
<i>E. bruneus</i> × <i>E. akaara</i>	26±0.5	32	0.858±0.02	25:15	87.3	91.6	9.5	1.72±0.11	Yang et al., 2014
	23.5-29.8	25-31	0.852	-	89.8	95.3	8.9	1.71±0.12	Li et al., 2013
<i>E. amblycephalus</i> × <i>E. akaara</i>	28.1	22-25	0.8-1.2	20	50-90	50	-	1.7-1.8	Tseng and Poon, 1983
<i>E. fuscoguttatus</i> × <i>E. polyphemus</i>	28-29	42-43	-	-	96	80	-	1.67-1.81	James et al., 1999

* 同種異名：*Epinephelus septemfasciatus*

-：未發表

(Ukawa et al., 1966)，且以赤點石斑做雌性親本的研究較少，僅 Li et al. (2015) 有發表。受精卵孵化時間差異與水溫相關 (Sadovy and Eklund, 1999)，最早孵化的是點帶石斑與鞍帶石斑雜交種，在水溫 28.0–29.0°C 條件下，經 17 小時 30 分鐘孵化 (Koh et al., 2010)，最晚孵化的為褐石斑及七帶下美鯧的雜交種，在水溫 21.0–22.5°C 條件下，經 35 小時孵化 (Li, 2013)。Chevassus (1983) 指出，受精卵的孵化時間可作為初步判定雜交種性狀的重要資訊。

二、受精率、孵化率及畸形率

受精率、孵化率及畸形率三個參數是判斷雜交受精卵 (圖 4) 優劣的重要指標，Hester (1970) 提到親緣關係較近的物種，其雜交的成功率越高。點帶石斑與赤點石斑雜交種，受精率最低者僅 32.5% (LiuFu et al., 2007)；棕點石斑及清水石斑可在水槽中自然雜交，可能因此造就較高的受精率 (96%) (James et al., 1999)。使用冷凍保存精液人工授精，在褐石斑及鞍帶石斑雜交的案例中受精率達 95.3% (Murata et al., 2017)，但雲紋石斑及鞍帶石斑的雜交組合同樣使用冷凍保存精液人工授精，受精率卻僅有 46% (Chen et al., 2018)。本中心在 2014 年以褐石斑及鞍帶石斑 (俗稱龍油斑) 進行雜交試驗 (圖 5)，受精率為 74% (陳等，2015)。造成受精率差異的原因可能是親魚成熟度、培育水溫及催熟時機。不同種類的雜交石斑子代，孵化率有很大的差異，Murata et al. (2017) 描述褐石斑及鞍帶石斑雜交種孵化率僅 8.8%，但褐石斑與赤點石斑雜交種卻有 91.6–95.3% 的孵化率 (Li et al., 2013; Yang et al., 2014)。

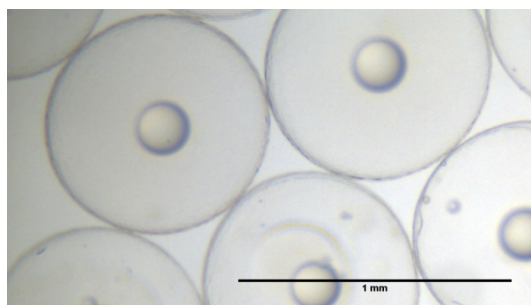


圖 4 雜交石斑受精卵，可觀察到單一油球



圖 5 本中心培育的龍油斑 (褐石斑及鞍帶石斑雜交種)

一般來說，親緣關係相近的種類雜交會有較高的孵化率，但褐石斑與不同屬的七帶下美鯧雜交，其受精卵卻有 92.1% 的孵化率 (Li, 2013)。雲紋石斑及鞍帶石斑的雜交子代中出現畸形的比例高達 85–90% (Chen et al., 2018)，點帶石斑及鞍帶石斑的雜交子代也有 47% 畸形 (Kiriya et al., 2011)。石斑魚苗培育過程中，常會觀察到仔魚畸形的現象，這些畸形的仔魚通常缺乏游泳能力或伴隨活動力微弱、低成長率及低存活率，對逆境及病原感受性相當高 (Boglione et al., 2009; Nagano et al., 2007; Setiadi et al., 2006)。畸形的發生可能跟遺傳或逆境有關，但詳細的形成機制目前仍不清楚。

三、剛孵化雜交石斑仔魚的體全長

剛孵化的雜交石斑體全長介於 1.53–2.62 mm，差異主要來自於種別，點帶石斑與鞍帶石斑雜交仔魚體全長為 1.53 mm (Koh et

al., 2010), 介於點帶石斑 (1.33 mm) (Doi et al., 1991) 與鞍帶石斑 (1.65 mm) (Ho et al., 1997) 之間, 但亦有報告指出剛孵化之仔魚的體全長達 2 mm (Kiriya et al., 2011)。棕點石斑及鞍帶石斑剛孵化之雜交仔魚體全長為 2.00 mm (Ch'ng and Senoo, 2008), 棕點石斑與鞍帶石斑則介於 1.48–1.90 mm 之間 (Kohno et al., 1990; Lim et al., 1990), 顯示雜交子代剛孵化仔魚的體全長大於雌雄親本。關於雜交石斑的初期發育階段已有多篇研究報告發表, 但後續在中間育成方面的成長速率、抗病性、耐寒性及對含氮廢物的耐受性研究相比之下仍顯不足, 將來有必要進一步投入研究。

未來展望

本中心於 1991 年完成點帶石斑及瑪拉巴石斑的雜交試驗 (Yeh et al., 1991a, b), 育成的雜交子代受精率高、對鹽度有較高之忍受力; 2014 年又完成藍身大石斑 (*E. tukula*) (俗稱金錢斑) 雌魚與鞍帶石斑雄魚的雜交試驗, 開發出龍錢斑 (圖 6)。雌魚注射激素催熟後人工擠卵, 雄魚精液為現場採集, 以乾導法授精後獲得浮性透明卵粒約為 530 g, 受精率約為 90%, 最終育成約 600 尾寸苗 (朱等, 2014), 但龍錢斑的優勢性狀還有待進一步分析。2015 年完成塹養褐石斑及鞍帶石斑雜交試驗, 受精卵受精率 74%, 育成 700 尾寸苗 (陳等, 2015), 其耐寒又生長快速的優勢將來可在臺灣北部或較寒冷的地區養殖, 增加養殖品種的多樣性及可選擇性。2017 年利用環境控制、營養強化與性激素埋植,



圖 6 本中心成功開發出龍錢斑 (藍身大石斑及鞍帶石斑雜交種)

成功調控鞍帶石斑雄魚生殖成熟期, 從 2–11 月皆可取得精子, 能取得精子的時間延長, 對於雜交試驗或鞍帶石斑的種苗生產有極大幫助, 然而目前為止本中心研發的雜交石斑僅有少量生產, 均尚未達到量產規模, 此亦為未來努力的目標。

臺灣石斑養殖種類多樣化, 學界與產業界都有豐富經驗, 只要能互相合作必能共創利基。本中心將持續研發並改進國內石斑雜交技術並與產業界合作, 進行雜交子代各項經濟性狀的評估, 為石斑魚類的遺傳育種和品種選育提供基礎資料, 作為未來優質種苗量產及推廣的重要資訊, 更期待能研發具有雜交優勢、子代畸形率低且適合市場需求的新品系, 達到穩定生產 (圖 7)、提升產業競爭力的目標。



圖 7 順利培育至幼魚階段的龍虎斑 (棕點石斑及鞍帶石斑雜交種) 幼魚