

廖一久<sup>1</sup>，張賜玲<sup>2</sup>

<sup>1</sup> 行政院農業委員會水產試驗所

<sup>2</sup> 行政院農業委員會水產試驗所 東港分所

(1999 年 12 月 3 日接受)

## 魚塭培育之日本鰻之人工催熟技術改進

### 摘要

供催熟試驗用的魚塭培育之雌性日本鰻 *Anguilla japonica* 之平均全長  $83.2 \pm 6.3$  (67.5-103.5) cm，平均體重  $1072 \pm 191$  (623-1700) g，合計共 210 尾。將催熟中的雌鰻之成熟度，依胸鰭的黑色化程度分為 6 級 (0-5 級)，在第一個月，依據雌鰻胸鰭黑色化的程度，每間隔 2 週，以劑量 0.5-1.0 IU/g BW 的人類絨毛膜促性腺激素 (Human Chorionic Gonadotropin, HCG) 注射，使其在 1 個月後，達成熟度 3-4 級，即利用注射 HCG 劑量的不同，儘量促使成熟度的同步化，第 4 週起，體重 800 g 以上的雌鰻，每尾每週注射 4 粒塘虱魚腦下腺的研磨液，體重 800 g 以下者注射 3 粒。催熟的後期，配合縮短注射間隔及降低注射劑量，在注射激素後約 2 個月起，雌鰻可陸續達到最後成熟階段，此時以劑量  $2 \mu\text{g/g BW}$  的排卵素 ( $17\alpha, 20\beta$ -dihydroxy-4-pregnen-3-one, DHP) 注射誘發其排卵。雌鰻注射排卵素後，以 3-5 尾雄鰻與之配對。雌鰻會在 100 l 的小水族箱中自行產卵，無自行產卵者，輔以人工擠卵、授精的方式，也可達到全年均能生產受精卵的目標。HCG 可明顯地促進鰻魚婚姻色的表現，假若再配合注射腦下腺研磨液，可產生催熟的加成效果，因而可縮短催熟時程。迄至目前魚塭培育的雌鰻，經催熟後，僅有 44.8 % 達到最後成熟的階段，而其中約有 70 % 在催熟後 2-4 個月間成熟。在此次試驗中成功地促其產卵並發育達攝餌期仔魚 (眼睛已呈黑色的仔魚) 的最小型雌鰻之體重為 623 g。催熟時程介於 61-175 天者，其仔魚之發育均曾達攝餌期的記錄。以魚塭培育之雌鰻作為催熟種鰻的來源之主要問題點為：卵細胞發育的不一致性及較無法精確地以體重指數 (BWI)，作為注射排卵素的依據。催熟的時間愈長，雌鰻在最後成熟階段的體重指數愈低。雄鰻則配合雌鰻成熟的進度，每 1-2 週注射 1-2 IU/g BW 的 HCG，可以有效地促進其精子的生成。

**關鍵詞：**日本鰻，人工催熟，人類絨毛膜促性腺激素 (HCG)，排卵素 (DHP)

鰻魚為台灣重要的養殖魚種之一，近年來因天然的野生鰻苗逐漸枯竭或產量極為不穩定，嚴重影響鰻魚養殖業本身及其相關產業的發展。因此，進行鰻魚人工繁殖技術的開發，乃為刻不容緩的課題。此外，鰻魚為目前廣泛養殖的魚種中，唯一尚必須利用野生苗作為種苗來源的魚種，其人工繁殖技術的開發，在養殖業及生態保育上，具有雙重的意義，人工培育鰻苗的成功，無疑是水產研究領域上登峰造極之作。

鰻魚的基礎生殖內分泌學，雖然已有相當多的研究文獻<sup>(1-3)</sup>，但實際的催熟技術，尚未完全被掌握，所獲得卵粒之受精率及孵化率極不穩定。造成此種結果的原因，主要為鰻魚在未洄游至其產卵場以前，無論在河川或河口捕撈的鰻魚，其卵黃的堆積均尚在早期階段，鰻屬中，僅以紐西蘭長鰭鰻 *Anguilla dieffenbachii* 在降海前其卵細胞的卵黃堆積程度較佳，生殖腺指數可達 5-10 % 間，約達卵黃球的中期<sup>(2)</sup>，而其他的鰻種，其卵細胞的發育均僅達初期卵黃球期

(Primary yolk globule stage)。因此，人工繁殖用的種鰻，均需長期注射腦下腺研磨液，才能達到排卵、排精的階段，其過程有相當多的變數。此外，人工催熟的鰻魚所分泌之排卵素的量可能不足，在現有的操作環境及方法下，絕大部分之雌鰻之成熟卵無法排出，而滯留在腹腔內，導致過熟。至於注射排卵素的時機，亦不易精確地掌握，因而會導致卵質的不穩定，造成受精率及孵化率有低下的現象，這些因素皆為鰻魚人工繁殖技術遲遲無法確立之原因。

Ijiri 等<sup>(4)</sup>指出，野生的降河鰻對激素的反應較為敏感，催熟後可全部達到排卵的階段，所需的催熟時間亦較短，而魚塢養殖的鰻魚催熟所需的劑量較高，所需的時間亦較長，達到最後排卵階段的比例亦較低。雖然野生的降河鰻催熟的效果較佳，但因全球氣候的變遷、河川污染、過漁、棲息地被破壞等等原因，造成降海產卵的野生種鰻數量減少，導致人工繁殖所需的野生種鰻不易獲得。因此，如何開發利用魚塢養成之鰻魚作為種鰻來源的催熟技術，為鰻魚人工繁殖的重要課題。

人類絨毛膜促性腺激素 (Human Chronic Gonadotropin, HCG)，其功能與促黃體激素 Luteinizing hormone 類似，為一促進排卵的激素，常被用來作為促進魚類排卵的催生藥物。Boëtius 與 Boëtius<sup>(5)</sup>以 15 mg 的鯉魚腦下腺混合 500 IU 的 HCG 催熟歐洲鰻 *Anguilla anguilla*，比僅注射鯉魚腦下腺之效果為好，但所獲得的受精卵僅發育至原腸期即停止，故 HCG 如何配合腦下腺使用，有必要進一步的探討。

本試驗之目標，為改良魚塢養成種鰻之催熟技術，以期改善生產鰻魚受精卵之方法，達到全年均能獲得良質受精卵為目標。

## 材料與方法

### 魚塢養成之種鰻

#### (一) 種鰻的來源及選擇的條件

試驗用的種鰻為水產試驗所東港分所自行培育或購自民間養殖場的鰻魚。供作種鰻用的民間養殖場之鰻魚係與肉食性不強、可養殖在低鹽度環境的海水魚類，如星雞魚 *Pomadasys hasta*、黑鯛 *Acanthopagrus schlegelii* 和黃鰭鯛 *Acanthopagrus latus* 等混養，以市售之鰻魚飼料添加 50 % 的下雜魚漿，製成團狀飼料

投餵。養殖種鰻的鹽度範圍介於 0-10 ppt 間。選擇作為人工催熟用雌鰻的條件為背部呈灰黑色，腹部銀白色、胸鰭灰黑色、體表鱗紋不明顯、表皮較薄、高肥滿度。選擇雄鰻的優先條件為體重 150 g 以上、胸鰭尖長，背呈灰黑色，腹部呈銀白色及肥滿度佳的鰻魚為主。

#### (二) 種鰻的標識

為追蹤每尾鰻魚催熟後的體色及其形態之變化，必須將鰻魚加以標識。標識的方法包括：在胸鰭邊緣繫上標識、在皮膚上打下塑膠標識或以液態氮烙印。液態氮烙印法為將銅線彎曲所製成的阿拉伯數字，置於液態氮中 2 分鐘以上，取出後迅速壓印在麻醉後之鰻魚背部側面上約 15 秒，使體表產生一輕微的傷痕，以利識別，經此法製作之烙印可維持 6 個月。

#### (三) 種鰻的鹽度馴化

標識後的鰻魚，置於 10 ppt 的海水中，待傷口復原後，再緩慢以添加海水的方式，逐步提高鹽度，在 4-5 日內將鹽度調升至 30-32 ppt。鰻魚在放入溫控循環水系統前，以 60 ppm 的福馬林藥浴 3 小時或以 0.6 ppm 的馬速展藥浴 6 小時後，再緩慢添加新鮮海水，以避免由魚塢感染的寄生蟲，帶進溫控循環水系統中。

#### (四) 種鰻的麻醉

為能使鰻魚在鎮靜的狀態下注射激素，嘗試過多種方法，包括不麻醉、麻醉及降溫至 0 °C 左右等方法，結果仍以麻醉為最方便、最有效率的方法。不麻醉的鰻魚，雖以濕毛巾覆蓋，仍可能因掙扎而使注射液流出，造成劑量的誤差。以 500 ppm 的 Ethylenglycol-monophenylether (EGME) 麻醉種鰻，不會對鰻魚造成傷害，又能在 3-5 分鐘內，使其失去活動力，當鰻魚放回新鮮的海水後，會在短時間內清醒，即使超過 3-5 分鐘的麻醉，鰻魚亦可恢復知覺。

## 硬體設施

#### (一) 溫控循環水系統

溫控系統的水族箱及水泥池子，設置於設有保溫設施的室內，包括水容積 2 m<sup>3</sup> 的水泥池 (2 × 1 × 1 m) 8 個，1.13 m<sup>3</sup> 的 FRP 大水族箱 (1.8 × 0.9 × 0.7 m) 2 個，0.42 m<sup>3</sup> 的 FRP 水族箱 (1.4 × 0.6 × 0.5 m) 6 個，以及 0.12 m<sup>3</sup> 的 FRP 製產卵用水族箱 (1 × 0.4 × 0.3 m) 4 個。溫控的循環水先經過生物濾床的砂層過濾，再以馬達抽向蓄水塔，冷卻的鈦管置於蓄水塔中，並利用蓄水塔和水族箱的水位差產生水流，溫控系統的水

溫控制在 22-23 °C 間，鹽度則維持 30-33 ppt 間。為延長生物濾床的壽命，在循環水系統的兩個出水口，設置 2 個濾網，以去除代謝性的糞便及較粗的懸浮物質。過濾砂層每 6 個月沖洗乙次，以保持水質的清澈，並經常監測循環水的水質條件。

溫控系統的建立，目的在秋、冬的低水溫期以外的季節亦可進行鰻魚的人工催熟試驗。由於夏季之室溫較高，如果室溫和水溫相差在 4 °C 以上，則容易在水族箱的表面產生由水氣凝結所形成的霧氣及水滴，不僅妨礙觀察，亦增高實驗室濕度，因此，室溫亦必須控溫。

#### (二) 種鰻蓄養池及產卵水槽

鰻魚在催熟過程中，可收容在水族箱或水泥池子等設施中，但因水族箱太淺，必須加蓋，而且必須以重物壓住蓋子，否則鰻魚會逃出桶外，尤其在夜晚，較暗的環境下，更易逃脫。水泥池內放置 PVC 管供鰻魚躲藏，可避免鰻魚之不安，在催熟時亦易於捕撈。如果蓄養池的入水口離水面太高的話，鰻魚會受進水的刺激，往水源處衝跳而逃出池外，導致死亡，在池中放入可供鰻魚躲避的 PVC 管子，可大幅降低鰻魚的逃出。

收容於水泥池中的雌鰻，由於觀察不方便，體重指數 [(Body weight index (BWI), BWI (%)=Body weight/Initial body weight×100)]100 % 以上、腹部微凸時，則自水泥池移至 100 l 的小型 FRP 產卵水槽中，以利方便於催熟時容易捕撈。此外，小型的產卵水槽之底部及其背光的側面係由抗壓玻璃所製成，有利於觀察催熟中之雌鰻的體色及其形態變化。

### 鰻魚的人工催熟

水產試驗所東港分所，係於 1993 年開始鰻魚人工繁殖試驗，至 1997 年 12 月始獲得受精卵，而 1999 年催熟技術才大幅獲得改進。茲將催熟 210 尾雌鰻所獲得的結果，加以分析並討論。

#### (一) 催熟藥物

##### 1. 腦下腺及其配製法

塘虱魚養殖在台灣相當普遍，主要以家畜廢棄物，如頭部及內臟等作為餌料，扮演家畜業清道夫的角色。以丙酮保存的塘虱魚腦下腺為購自宰殺塘虱魚的魚販或中盤商，先經過篩選，去除較大及較小的腦下腺（真空冷凍乾燥後，每粒的腦下腺平均重量為 4.213 mg），經丙酮置換 2-3 次，以利長久保存。研磨腦下腺

時，添加 9 % 的生理食鹽水，以研磨器研磨。

#### 2. 人類絨毛膜促性腺激素 (Human Chorionic Gonadotropin)

每瓶 5,000 IU 裝的 HCG，以 9 % 的生理食鹽水溶解後，以 1 或 2 ml 的注射筒，按所需劑量注射鰻魚。

#### 3. 排卵素 (17 $\alpha$ , 20 $\beta$ -dihydroxy-4-pregnen-3-one, DHP)

10 mg 裝的 DHP，以 1 ml 的 99.5 % 酒精溶解，注射時依雌鰻的體重換算所需的 DHP 量，並以生理食鹽水稀釋 5 倍，以 18 號的針頭，採腹腔注射。

#### (二) 催熟方法

##### 1. 雌鰻

測量體重及全長後，在第一個月，依據雌鰻之胸鰭黑色化的程度，每間隔 2 週，以劑量 0.5-1.0 IU/g 的 HCG 注射，俾利 1 個月後成熟度達 3-4 級，即以 HCG 劑量的不同，儘量促使成熟度的同步化。第 4 週起，體重 800 g 以上者，每尾每週注射 4 粒塘虱魚腦下腺的研磨液，體重 800 g 以下者注射 3 粒。催熟的後期，配合縮短注射間隔及降低劑量，亦即體重指數達 100-105 % 時，每尾注射 2 粒腦下腺，並改成每週注射 2 次；體重指數達 105-110 % 間時，每尾注射 2 粒腦下腺，並改成每 2 天注射一次；體重指數達 110 % 以上時，改成每天注射 1 粒腦下腺。部分雌鰻之催熟時程如果太長，因體重減損太多，則必須依據催熟後體重之變化，調節注射劑量。

體重指數達 120 % 以上時，可利用管徑 1.2 mm 的矽質導管，由生殖孔插入卵巢中抽取少許卵細胞，在解剖顯微鏡下觀察卵細胞之油球凝集情形，以瞭解卵細胞發育的程度；如果不抽取卵細胞，可利用生殖孔突起的程度、體重指數及體重急速增加後所經的時數，判斷注射排卵素的最佳時機，以提高產卵的成功率。產卵時的水溫，控制在 22-23 °C 間。

##### 2. 雄鰻

雄鰻的催熟，一般較同批雌鰻晚 4 週左右開始注射，視雌鰻成熟的進度，每間隔 1-2 週注射 1-2 IU HCG/g BW。雄鰻平常與雌鰻分開蓄養，直至可擠出白色的精液後，再移入 100 l 的產卵水槽等待配對。

### 結果與討論

#### 種鰻相關的問題

##### (一) 種鰻培育

高齡 (>4 齡) 之雄鰻，會現明顯的第二性徵，胸鰭末緣呈尖長狀，雌鰻則較呈圓鈍形。養殖之成鰻之生殖腺的發育或腹部銀化的程度，乃受鰻魚的年齡、季節、鹽度、放養密度及水溫等條件的影響。本試驗使用的 4 齡以上之成鰻，養殖在 5-10 ppt 的鹽度下，其攝餌活動尚不受鹽度的影響，故肥滿度高。土底質為主的池子，濁度略高，藻相穩定，即使在高水溫的夏季，亦可發現少數胸鰭下緣呈灰黑色、腹部已銀化的鰻魚，可達成熟度 2 級的程度，對激素的反應已相當敏感。Lai et al.<sup>[6]</sup>指出，鰻之生殖腺發育最為良好的季節為低水溫期的秋冬之際，其中又以鹹水魚塢養殖的鰻魚之生殖腺發育比淡水魚塢者更為良好。在 8 月份的高水溫期之生殖腺指數最低，但高水溫期的鰻魚，由於攝食良好，肥滿度比低溫期高。Yoshikawa<sup>[7]</sup>指出，年齡達到 4 歲的雌鰻之生殖腺指數比 1-3 歲的雌鰻為高。Kagawa et al.<sup>[8]</sup>以 2.5 齡的日本鰻，在催熟前先蓄養於海水中 3 個月，卵細胞的發育，即能達到初期卵黃球期(Primary yolk globule stage)，而蓄養一週的鰻魚之卵細胞僅能達到油滴期 (Oil drop stage)，在海水中養殖較長的時間，即可以提高對鮭魚腦下腺研磨液的敏感度，以電子顯微鏡觀察置於海水中 3 個月的鰻魚，其腦下腺的促性腺分泌細胞(Gonadotrophs) 已有活化的現象。

## (二) 種鰻的選擇基準及標識

催熟用雌鰻之選擇基準為胸鰭愈黑者愈好，背部呈灰黑色比背部呈綠色或黃色者為佳，以及腹部愈銀化者愈佳。此外，肥滿度高，皮膚薄，鱗紋不明顯，眼睛大，均可列為選擇雌鰻的要件，尤其腹部銀化程度為最重要的選擇條件。體重介於 800-1,200 g 間的鰻魚，經過催熟處理體重增加至 1,000-1,500 g 間者，對於劑量的控制、催熟的效果等，均較適宜或較能掌握。體型大的鰻魚，一般孕卵數多，但對大型鰻之人工催熟技術迄今尚未達成成熟階段，若在最後排卵階段，腹部膨脹太大，對母體而言乃為一種相當大的緊迫。本試驗曾經獲得受精卵及達攝餌期仔魚的種鰻之最小體重為 623 g，而通常多大於 800g。

以液態氮烙印法標識鰻魚，最為方便且對鰻魚的傷害最小。在胸鰭邊緣繫上一標籤及在皮膚上打入一塑膠號碼，不但號碼容易脫落，而且易於造成皮膚的潰爛。以液態氮烙印的標識法，在 22-23 °C 的低溫循環水系統中蓄養 6 個月內，仍然可辨識其號碼，足以滿足試驗所需。

## (三) 鰻魚之腹部銀化的意義

催熟後達自然產卵而且能成功受精的鰻魚，以腹部銀化的鰻魚成功率較高，腹部銀化不明顯，且鱗紋明顯的鰻魚，雖亦能自然產卵，但一般均未能受精或受精後胚胎在發育過程中會陸續死亡。鰻魚腹部的銀化可能在卵細胞的成熟過程中，扮演關鍵性的指標角色，具有重要的意義。鮭魚類的幼魚在淡水域成長一段時間後，在即將降海前，會進行一連串的形態及生理變化，稱為 Smoltification，體色會銀化，皮膚和血中的鳥糞嘌呤 (Guanine) 會增加，對高張的海水之調適能力會增強，而甲狀腺素可促進鳥糞嘌呤的生成<sup>[9]</sup>。鰻魚的腹部銀化是否和鮭魚類有相同的機制，則有待進一步的探究。

鰻魚可在極惡劣的環境中生存，跟具有厚厚的皮膚 (Skin) 有關，皮膚可分成上皮層 (Epidermis) 及真皮層 (Dermis or Corium)，在上皮層中有無數特別發達的棒狀細胞 (Club cells) 及黏液細胞 (Mucous cell)，可分泌保護身體的物質<sup>[10]</sup>。鰻魚亦具鱗片，但鱗片約在全長 16 cm 時才會長出<sup>[11]</sup>，鱗片埋於真皮層的上層，位於表皮之下，在幼鰻時，鱗片非為重疊排列，而體形愈大，成熟中的個體，鱗片則變大且有重疊的現象，當重疊的鱗片增加時，鰻魚會變得不易彎曲，當彎曲時，身體會有皺紋。造成銀色鰻的鱗紋不明顯的原因，可能為銀色鰻的上皮組織比黃色鰻者厚，銀色鰻有厚的上皮及密度較高的黏液細胞，導致鱗紋變得不明顯，亦因上皮層黏液細胞較多，故皮膚顯得較光滑細嫩，此現象有其生理上之意義，尚待探究，但此種特性亦可作為選擇種鰻的指標。

## (四) 蓄養種鰻用循環水系統的水質

循環水用的海水水源之 pH 值偏低，而在循環水系統中，經長期曝氣後，pH 略會提升，但鮮少超過 pH 8.0 以上。而磷酸鹽在循環水系統中，則相對高於海水水源的含量，顯示在此系統中磷酸鹽會堆積。因催熟中的種鰻並未餵食，而且低溫循環水系統的水量僅 10 m<sup>3</sup> 左右，故其來源可能為鰻魚的新陳代謝物質或黏液脫落所造成。總鹼度在 133 mg/l 上下，總氨氮及亞硝酸，均在低濃度的範圍 (Table 1)，顯示生物濾床之功能正常。

## 種鰻的人工催熟

### (一) 雌鰻

#### 1. 婚姻色的出現

野生鰻魚降海前會經過一連串的形態及生理變化，以適應深海的環境，此種轉變包括；胸鰭之黑色化、腹部之銀化、滲透壓調節能力和視覺能力的增強、嗅覺的退化及表皮層黏液細胞數目的改變等等形質的轉變<sup>(9,12)</sup>。在河川或河口處撈捕到的降海野生鰻魚，其胸鰭呈現明顯的黑色，漁民稱為『黑耳鰻』。本次試驗中發現養殖的雌鰻，每週注射 4 粒塘虱魚腦下腺後，在 1 個月內胸鰭並未明顯出現黑色，但以 HCG 劑量 1 IU /g BW 注射後，反應良好的雌鰻，注射後 4 天，胸鰭即明顯地呈現黑色，由

鰻魚的背面觀之，胸鰭之上方比下方早一點呈現黑色，而隨催熟的時間愈久，胸鰭的下方亦呈深黑色，而對激素之反應愈佳，其胸鰭的顏色即愈黑。成熟度不佳或對激素反應較差的鰻魚之胸鰭較為透明。由胸鰭之黑色的深淺及腹部顏色之變化，可將雌鰻的成熟度分為 6 級(0, 1, 2, 3, 4 及 5 級) (Table 2)。反應良好的雌鰻，注射 HCG 1 針後 2-4 週，由胸鰭的黑色化程度，判斷成熟度可達 3-4 級，顯示 HCG 在鰻魚體內的藥效比腦下腺研磨液持久。HCG 在雄性歐洲鰻體內的半衰期為 12 天<sup>(13)</sup>。

**Table 1.** Water quality of temperature controlled recirculating culture system.

<i>Items</i>	<i>Range</i>	<i>Average</i>
pH	7.6-8.1	7.8
Total alkalinity (mg/l as CaCO <sub>3</sub> )	124-146	133
Total ammonia-N (μg/l)	ND	ND
Nitrite-N (μg/l)	4-13	7
Phosphate (μg/l)	114-245	167
Remark: Water quality of sea water source: pH: 7.52, Total Alkalinity: 134 mg/l as CaCO <sub>3</sub> , Total ammonia-N: 240 μg/l, Nitrite-N: 9μg/l, Phosphate-P: 28 μg/l		

**Table 2.** The mature grade index of female eel based on the black coloration of pectoral fin.

<i>Grade index</i>	<i>Description</i>
0	There is no black coloration on both sides of pectoral fins.
1	There is light black coloration on the dorsal side of pectoral fins.
2	<i>There is light black coloration on the abdominal side of pectoral fins.</i>
3	Deep black coloration was formed on both side of pectoral fin beside the basal part of abdominal side of pectoral fins.
4	Deep black coloration was formed on both sides of pectoral fins including of basal part.
5	Deep black coloration was formed on both sides of pectoral fins and abdomen part of eel.

開始成熟的鰻魚，其尾鰭末端與生殖孔之間的鰭部末緣會呈現黑色，尾鰭末端處的黑色較濃，依次往生殖孔處遞減，而腹部的銀化程度亦會增強。如果注射激素的作用太強，腹部亦會由銀白轉為灰黑色，並會導致腹部表皮破損的情形發生，意謂所注射的激素，已超過該鰻魚成熟所需。在催熟的後段，注射的劑量如果太強，生殖孔週遭會泛紅，可能為生殖孔處的微血管破裂所致。此外，亦發現極少數的大型鰻魚，催熟後，全身長期維持深黑的顏色，此類鰻魚經解剖後，由生殖腺判斷均為雌鰻，其體色與包埋高劑量的甲基羥固酮處理的鰻魚之體色類似，全身黝黑，卵細胞雖亦可發育達最後成熟階段，但卵巢的發育速率較差，其性激素的變化和腹部銀色的關係，有待進一步的比較。

鰻魚隨催熟次數之增加、生殖線逐漸增大後，其吻部會出現銀藍色的斑點，愈成熟的鰻魚其吻部愈黑，側線愈突出，顯示越成熟的鰻魚其側腺的功能越發達，以增強感應週遭環境變化的能力，即可能較有利於棲息於昏暗的深海環境，以輔助視線之不足。這些特性皆為深海魚的特徵，顯示鰻魚之最後成熟應在光線微弱的深海處進行。

基於魚塢養殖的鰻魚在催熟前，其個體間之成熟度不一，諸如胸鰭黑色化程度、腹部之銀化及眼徑之大小均相當不一致，而 HCG 對促進鰻魚顯現第二性徵的功效比腦下腺強，因此催熟過程的起始注射，以 HCG 作為催熟激素，第 2 週時，胸鰭之黑色化展現不佳者，再追加 0.5 或 1 IU HCG/g BW，俾利儘量將鰻魚的成熟度，在 1 個月的期間內調整至同一基準上，亦即促進胸鰭黑色化的程度達到 3-4 級的程度。如果種鰻的來源不虞匱乏，亦可在第 1 針注射後 2 週時，將對 HCG 反應不佳的種鰻予以淘汰，以免浪費往後的催熟藥物。

## 2. 催熟效果

本試驗利用魚塢培育的 210 尾雌鰻，經催熟後，成功地 44.8 % 達到最後排卵階段者為 (Table 3)，比 Ijiri et al.<sup>(4)</sup> 使用養殖雌鰻所獲得的結果 (29 %) 為高，但比其使用雌化鰻之結果 (64 %) 為低。依據目前的養殖技術，約僅有一半的雌鰻可達到最後成熟的階段，因此，如何加強培育種鰻之技術及慎選良好之雌鰻，為提高雌鰻的催熟成功率的先決要件。催熟過程中，雖然有 12.8 % 的雌鰻死亡，但其中尚包括催熟過程中逃出桶外死亡或跳出桶外未死亡，放回蓄養桶後導致傷口發炎死亡的鰻魚。經過蓋子上方加放重物後，這

些的意外死亡的情形已能降至最低。催熟後的雌鰻，約在 2 個月後陸續達最後成熟的階段，約有 70 % 的雌鰻在催熟後 2-4 個月間成熟 (Table 4)，而最快達成成熟之個體，比 Ohta et al.<sup>(14)</sup> 所獲得的催熟結果在第 9 週時才開始達排卵的階段，略為提前 1 週，顯示 HCG 和腦下腺研磨液配合使用，對促進鰻魚的成熟有明顯的功效。由起始催熟至排卵所需的時間，在 61 天至 175 天間均曾有獲得受精卵及達攝餌期仔魚的結果。體表光滑，皮膚較薄，腹部銀化的雌鰻，催熟至最後排卵所需的時間較短。反之，對激素反應較差的鰻魚，則必須經 5-6 個月的時間，方能達到排卵的階段。因考慮鰻魚催熟期間不會進食的事實，催熟的期間如果太長，可能會有影響卵質的疑慮，但曾經成功地排卵並獲得攝餌期仔魚的最長催熟時程長達 175 日，可見鰻魚之耐飢餓及轉換營養的能力極高。

**Table 3.** Results of 210 pond-reared female Japanese eel *Anguilla japonica* after hormonal treatment.

	Percentage %
Success	44.8
Dead	12.8
Failure	42.4

**Table 4.** The percentage of pond-reared female eel attained final maturing stage in different induction period (91 female in total).

Time (months)	Percentage %
2-3	37.1
3-4	33.9
4-5	19.5
5-6	9.5

催熟後可達最後成熟階段的雌鰻，其肥滿度比未能達最後成熟階段的雌鰻略高 (Fig. 1)，但以 t-test 作二組的差異分析，未達顯著差異 ( $P > 0.05$ )。此項結果顯示，除肥滿度外，尚有其他因子影響催熟效果，如雌鰻腹部的銀化程度等因子。

雌鰻催熟過程中的變數比雄鰻多而且困難，一般的魚類，由於在產卵季節時，卵細胞的發育可達第三卵

黃球期的待產階段，因此所注射的激素劑量可精確地重的輕重作為調整的依據，但因鰻魚的催熟有別於其他的魚類，必須靠長期、多次的催熟，才能誘導其生殖腺的發育，以達最後成熟的階段，故激素的注射量，尚端視該雌鰻對激素反應的強弱而定，否則多注射的激素形同浪費。

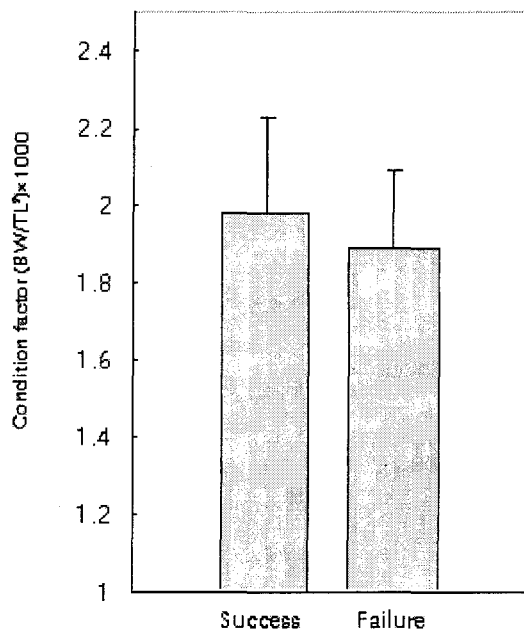


Fig. 1. The comparison of condition factor of pond-reared female between success and failure in induction of maturation after hormonal treatment (Vertical lines represents standard error).

## (二) 雄鰻

養殖的高齡雄鰻，即可產生具有活動力的精子<sup>(15)</sup>，一般而言，雄鰻以劑量 1 IU/g BW 的 HCG，每週注射乙次，依雄鰻的成熟度的不同，1-2 個月後，即會產生精液<sup>(16)</sup>。鰻魚之精液以生理食鹽水稀釋後，置於 3 °C 冰箱中保存 21 天，仍有 64.8 % 的精子具活動力<sup>(17)</sup>。本試驗發現，未經稀釋或任何處理的精子，在冰箱中冷藏保存 10 天，仍然約有 20 % 的精子具活動力。高齡的雄鰻催熟後，精子的活動力，比低齡的雄鰻為高。本試驗亦發現，養殖的雄鰻催熟後，精子活動力在 2-3 分鐘內較強，之後即迅速降低，至 5 分鐘左右，活動力即消失；而野生的雄鰻催熟後，其精子的活動力，卻可達 16-19 分鐘之久<sup>(18)</sup>，顯示養殖及野生的雄鰻對催

熟的反應有差別。僅以高劑量 (約 10 IU/g BW) 的 HCG 注射歐洲鰻 1 針，雖即可促使雄鰻的精巢成熟<sup>(13)</sup>，但在實際的人工繁殖過程中，必須採低劑量注射，否則精液很快即會排光，而無法重複使用該尾雄鰻。此次試驗中曾經使一尾體重約 450 g 的雄鰻，在 2 週期間內成功地與 8 尾雌鰻交配的紀錄。使用較大的雄鰻，即使沒有明顯的求偶行為，但因精液較多，母鰻排卵時，較易有充足的精液流出，增加受精的機會。

體重 150-600 g 體型間的鰻魚，由外觀不易區分出其性別，以劑量 1 IU/g BW 的 HCG 注射鰻魚後 1-2 週內，絕大多數的雄鰻之生殖孔周圍會呈現黑色的斑點圈，至於在此種體型的雌鰻其生殖孔不會在此短暫的時間內呈現黑色，而需要更高的劑量及更長的催熟時間，才會出現黑色素圈，因此可依照此種方法斷鰻魚的性別。

## 最後成熟及排卵

### (一) 誘導鰻魚排卵技術的改進

魚塭培育的鰻魚，個體間卵巢內之卵原細胞增生的程度較為不一致，尤其在夏季長日照、高水溫期間的雌鰻為甚。長期催熟後，因僅一部份的卵細胞，進入最後成熟階段，而仍有相當部份的卵細胞之卵徑僅發育至 0.3-0.7 mm 間，腹部的膨大情形並不明顯，導致無法精確以體重指數作為注射排卵素的依據。因此本試驗將腹部微凸，體重指數達 100 % 以上之雌鰻移至專為本試驗所設計的小型產卵水族箱。由於在催熟的後期，注射間隔縮短，且次數增加，在小型水族箱撈捕種鰻可節省人力，操作方便，由其底部之透明玻璃，可觀察雌鰻的生殖孔突出的程度及白色鈣糞是否明顯增加，可作為輔助判斷鰻魚是否已經達到最後排卵階段。

### (二) 注射排卵素的時機

以雌性素 (Estradiol) 變性的雌鰻經催熟後，適宜注射 DHP 的時機，為鰻魚的體重增加至起始注射時體重的 127 % 左右<sup>(14)</sup>，但魚塭培育的鰻魚，因開始注射時，鰻魚的成熟度不一，導致進入最後排卵階段的成熟卵量及催熟所需時間差異較大，故適合注射 DHP 的體重百分比變動較大。催熟的時間長短與達最後成熟階段的體重指數呈負相關的關係 (Fig. 2)，如果注射 DHP 的時機不對，會導致卵細胞過熟或成熟度不夠，而鰻魚排卵後 1 小時，卵即快速退化，故注射 DHP 的時機成為催產成功與否的關鍵所在。注射 DHP 後，

在水溫 22-23 °C 下，大部份的雌鰻之排卵皆發生在注射 DHP 後 12-16 小時內，其中絕大部份發生在 15-16 小時內。由於注射 DHP 後，可相當精確地掌握鰻魚產卵的時段，因此可利用調整注射 DHP 的時間，掌握產卵的時間，方便後續試驗之進行。由卵的浮力差異可判斷適合注射 DHP 的時機。當卵細胞尚在多油球的階段，如果注射 DHP 的時機太早，卵巢對 DHP 反應不佳，無法誘導產卵成功，如果注射時機稍早些

(浮性卵多，沉性卵少)，此時濾泡層細胞已經對排卵素有反應，因而崩解濾泡層細胞使卵細胞釋出，即成功地促成產卵，但卵之皮層反應 (Cortical reaction) 較差，卵膜腔之膨脹不大，約僅達 1.1 mm。注射 DHP 後若過早產卵，表示太慢注射 DHP，大部份之卵已過熟，導致沉性卵多，而多為單一油球之卵。此種卵排出體外後，在鹽度 30-32 ppt 下，大部份沉於底部，已不具進行皮層反應的能力。

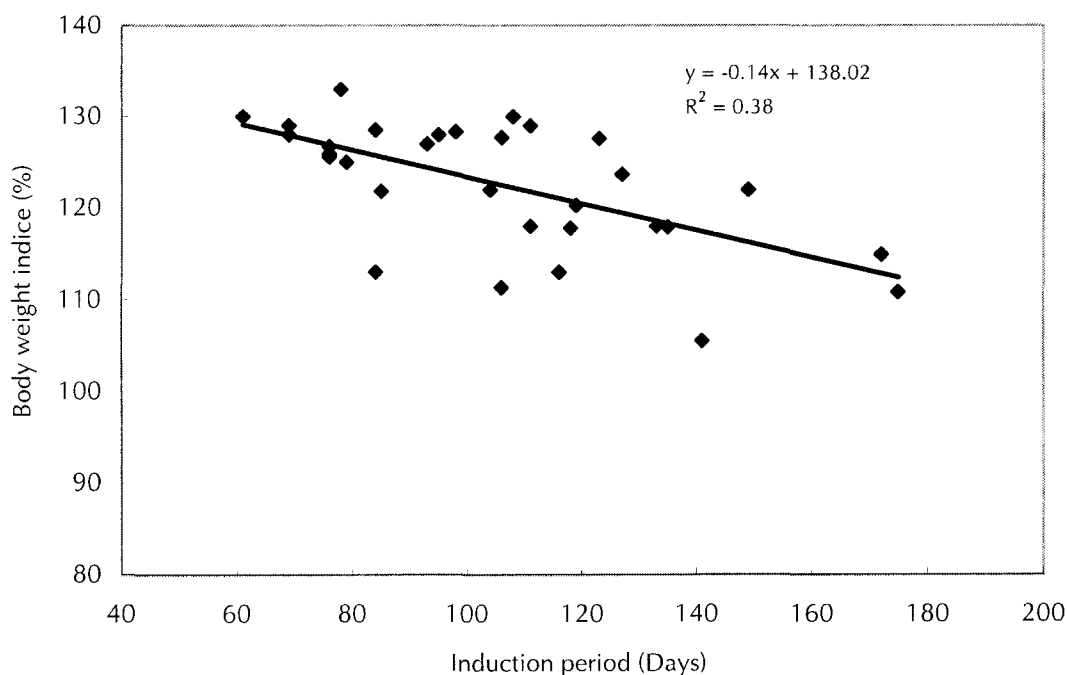


Fig. 2. The relationship between the induction period and body weight indice of female Japanese eel *Anguilla japonica* in which final maturation stage were attained after hormonal treatment.

### (三) 催熟後自然產卵及交配行為的特性

完全成熟的雌鰻，如果注射劑量得當，會在 100 l 的水族箱中游動的次數會增加，表示不安，此時下顎較黑的雄鰻會追逐雌鰻，顯示成熟度較高的雄鰻較有交配的意願，並間續性地碰撞雌鰻的下顎及生殖孔。雌鰻排卵時會吸引雄鰻游至雌鰻身旁排精，而造成水族箱變成白霧混濁狀。本試驗觀察到鰻魚的產卵，猶如烏魚產卵的習性一樣，多尾雄鰻會在排卵的母鰻近旁排精，而未見如泥鰱般的交配，即雄鰻纏捲在雌鰻的腹部，或雄鰻游至雌鰻前方處，身體捲曲排精的現象此 wang et al.<sup>(19)</sup>及 Yu et al.<sup>(20)</sup>的觀察結果不一致。

是否因環境條件不同或水族箱太小所致，有必要進一步的觀察。催熟後，能自行交配產卵所獲得的受精卵，卵質較佳。

### (四) 鰻魚為一次產卵或多次產卵

多次產卵為魚類適應環境變化所採取的策略，以增加其子代的生存機率。魚塢養成的大部份鰻魚，由於在催熟開始時，卵原細胞的增生尚未完全達成，催熟過程中，一部份的卵細胞已開始堆積卵黃的同時，亦持續在增生卵原細胞，導致卵細胞發育不一致，排卵時可能僅一部份的卵達完熟的排卵階段，以致於無法一次排出絕大部份的卵。以人工催熟的歐洲鰻，也曾

經發生分 2 次排卵的紀錄<sup>(21)</sup>。降海進行產卵洄游的野生鰻魚，到達河口處時，已增生相當多的卵原細胞，降海後，卵原細胞應均同時發育，同時成熟，故應可一次排出絕大部份的卵。本試驗中，亦有數尾魚塢培育的種鰻，在一次產卵中，即排出絕大部份卵粒的記錄，排完卵後，腹部出現宛如婦女產完後的妊孕線。顯示催熟前，如何促使鰻魚卵原細胞增生完成及卵細胞發育的一致化，為鰻魚人工繁殖上重要的研究課題。最後的成熟階段，其卵細胞發育的一致性與鰻魚之內分泌的變化關係，值得進一步探討。

#### (五) 產卵水溫

大部份的鰻魚在人工催熟環境下，必須注射 DHP 方可排卵，否則大部份鰻魚之卵細胞會留在腹腔內無法排出，導致過熟的現象。本試驗發現在較高的水溫下 ( $\sim 23^{\circ}\text{C}$ )，已進入最後成熟階段的日本鰻，常發生在未經注射 DHP 的情況下，即排出成熟卵粒的現象，而能適應較低溫的美洲鰻及歐洲鰻，在相同的水溫下，未經注射 DHP 而自行排卵的機率更高，但以此方式所產出的卵尚無受精的現象。Ijiri et al.<sup>(22)</sup>指出，在水溫  $20^{\circ}\text{C}$  下，日本鰻在催熟的過程中，雖然濾泡細胞有很強的  $20\beta$ -hydroxysteroid dehydrogenase ( $20\beta$ -HSD) 的活性，但並未檢測到 DHP 的存在，但在核移動期後，注射  $17\alpha$ -hydroxyprogesterone ( $17\alpha$ -OHP) 後的鰻魚，可檢測出 DHP 的存在，故 DHP 無法產生的限制因子為  $17\alpha$ -OHP 的生產，而非  $20\beta$ -HSD 的活性不佳所致。在試驗室的環境下，鰻魚進入最後成熟階段後，水溫如果超過  $23^{\circ}\text{C}$  以上，鰻魚的呼吸數可能超過每分鐘 67 次，較易發生暴斃的現象，顯然為氧氣不足所致，在天然的深海高水壓環境下，水溫較低，鰻魚的代謝率較低，應較不易發生氧氣不足的現象，此種現象亦提供鰻魚在海洋中之何種水層、何種水溫下產卵的思考空間。

### 鰻魚人工催熟及其生殖上的相關問題

#### (一) 生殖巢裸露的問題

催熟中的雌鰻，隨其卵巢的發育，對激素的反應愈來愈敏感。在催熟的中後期，如果以注射初期之相同劑量繼續注射雌鰻，最容易導致卵巢裸露而突出至生殖孔外，尤其體重指數達 100% 以上時，此種現象最容易發生。生殖巢裸露後的鰻魚，滲透壓之調節會失常，體重會受高張的海水影響，導致體重的增加不正常，而無法作為注射 DHP 的參考指標。瘀血的生殖

孔，亦會阻塞成熟卵的自然排出，影響鰻魚自行產卵的成功率，而且生殖巢裸露後的鰻魚，亦容易死亡，但如果在產卵前 1-2 日才發生裸露的現象，本試驗中亦曾有 2 尾裸露的母鰻產出卵質良好、具有受精能力的卵粒的例子。

#### (二) 催熟期間體組織及營養轉換的問題

本試驗中，催熟時間達 4 個月以上的鰻魚，達最後成熟時，其生殖巢後的尾部肌肉呈現明顯的凹陷現象，此乃其肌肉間儲存的養分，明顯的被消耗殆盡所致。鰻魚在漫長的洄游過程中，必須忍受長期的飢餓，其洄游及生殖所需的營養，均在洄游前，即必須累積在肌肉組織中，此種特性與其他一般的海水魚類，將生殖所需的營養儲存在腸系膜 (Mesentery) 間的脂肪，有明顯的不同。

魚類的肌肉大部份由白色肌纖維 (White fibres) 及紅色肌纖維 (Red fibres) 所構成，紅色的肌纖維主要用來維持緩慢的游泳，亦有如類似肝臟之儲存、利用營養再循環的角色，在紅色肌肉間所堆積的脂肪，會使肌纖維分離，此種現象可能有雙重的功用，除儲存能量之用外，亦用來減緩肌肉收縮的能力，紅色的肌纖維被認為和鰻魚的洄游產卵有相當大的關係<sup>(23)</sup>。美洲鰻的肌肉亦可分成紅色及白色的肌肉，在成熟時，紅色的肌肉佔總肌肉之比例會由未成熟時的 5% 增加至成熟時的 13.3%，肌肉體積的增加，是因為增加肌纖維的體積，而非增加新的肌纖維<sup>(24)</sup>。

#### (三) 抽卵的時機問題及其後遺症

當鰻魚的體重指數達 120% 以上時，由於生殖凸起較為膨脹、凸出，已經可以利用矽質的導管，由生殖孔插入生殖巢中，抽取少許卵巢組織檢查卵細胞之油球凝集的型態，以判斷注射 DHP 的時機，以抽卵的方式作為判斷注射 DHP 的時機最為準確。依據 Ohta et al.<sup>(15)</sup>研究日本鰻的催產試驗，發現適合注射 DHP 的卵徑為 0.845 mm，如果卵徑僅達 0.7 mm，雖然注射 DHP，亦無法促其排卵。以矽質的導管抽取少許卵細胞，判斷注射 DHP 的時機，雖然最為準確，但亦容易使生殖孔受損，導致微血管破裂。血液凝固後，在產卵時，會因生殖孔受到阻塞，而使卵無法順利自行排出，為其最大缺點。

#### (四) 鰻魚的生命力

鰻魚是生命力很強的魚類，雖經長期實施人工催熟，但活存率相當高。會造成鰻魚皮膚受傷或死亡的現象，皆因催熟用鰻魚腹部銀化的程度不夠、或馴化蓄養在海水中的過程太快、催熟劑量太高或注射方法

不當等因素所造成。在本試驗種鰻培育的過程中，曾經發生一尾種鰻，因鑽入一條橡皮圈中，導致皮膚及肌肉破損，下陷至背肌中層的部位，但仍不致於造成該鰻魚的死亡，可見其生命力極強。

#### (五) 產卵後之鰻魚的活存率

魚塢養殖的雌鰻，大部份在排卵後 3 天內會死亡，但仍有活存者，死亡與否，端視體內已吸水膨脹的成熟卵是否排出，太多的成熟卵排不出滯留在腹腔內的鰻魚較易死亡。催熟然排卵的鰻魚比以人工擠卵的鰻魚其活存率較高。排卵後降低鹽度至 10 ppt 左右的等滲透壓環境或適度的消毒，均能有效提高排卵後母鰻的活存率。在大洋中，鰻魚排卵時，隨卵所排出的大量分泌物勢必吸引相當多的天敵，加上產後之鰻魚勢必體弱，因此在自然環境中，鰻魚產卵後活存的機會應該不大。

#### (六) 催熟中曾經發生的鰻病

##### 1. 寄生蟲性的疾病

在水溫維持 22-23 °C 的溫控循環水系統中，鰻魚的體表曾經發生被魚蛭 (Fish leeches) 寄生，此種吸蟲寄生在鰻魚的體表上或口腔內吸取鰻魚的體液。魚蛭的寄生雖然不會造成鰻魚立即的死亡，但會使鰻魚虛弱，因而影響催熟效果。為避免寄生蟲的發生，由魚塢購入的鰻魚，在移入循環系統前，應先行藥浴消毒，循環系統的排水口應加設 120 目的浮游生物網，以降低或避免這些害寄生蟲的侵入，如果萬一在循環水系統中發生此類寄生蟲的感染，可以 0.4 ppm 的地特松或馬速展等有機磷劑作長期的藥浴。

##### 2. 皮膚的破損、產生腫瘤或潰爛

催熟中的鰻魚亦經常會發生皮膚潰爛的現象。此種皮膚潰爛的現象，常發生在注射激素後，腹部不易銀化的黃鰻或淡水養殖的種鰻，顯示為滲透壓調節能力較差所導致的現象，因此，慎選良好的種鰻以及注意針頭的消毒，可避免此種症狀的發生。

## 總 結

以上為近年來筆者等在執行鰻魚人工繁殖相關基礎面的研究所得之一些心得，希望這些訊息可作為同行們或有意從事此方面研究之後進們之參考。

## 謝 辭

本試驗得以順利完成，由衷感謝魚類室工作伙伴林奇

燦、陳建助君及謝介士先生、葉瑾瑜、張雅閔小姐等之協助，以及行政院國科會特約研究計畫 NSC 86-2313-B-056-006，NSC 87-2313-B-056-002，NSC 88-2313-B-056-001—『鰻魚人工繁殖相關基礎面的研究』之補助，方得以完成。

## 參考文獻

1. Dufour, S., E. Lopez, F. Le. Menn, N. Le. Belle, S. Baloché and Y. A. Fontaine (1988) Stimulation of gonadotropin release and of ovarian development by the administration of a gonadoliberin agonist and of dopamine antagonists, in female silver eel pretreated with estradiol. *Gen. Comp. Endocrinol.*, **70**: 20-30.
2. Lokman, P. M. and G. Young (1995) In vitro biosynthesis of oestradiol-17  $\beta$  and 17  $\alpha$ , 20  $\beta$  dihydroxy-4-pregnen-3-one by vitellogenic ovarian follicles from migrating New Zealand longfinned eels, *Anguilla dieffenbachii*. *Aquaculture*, **135**: 17-26.
3. Huang, Y. S., K. Rousseau, N. Le. Belle, B. Vidal, E. Burzawa-Gerard, J. Marchelidon and S. Dufour (1999) Opposite effects of insulin-like growth factors (IGFs) on gonadotropin (GtH-II) and growth hormone (GH) production by primary culture of European eel, *Anguilla anguilla* pituitary cells. *Aquaculture*, **177**: 73-83.
4. Ijiri, S., T. Kayaba, N. Takeda, H. Tachiki, S. Adachi and K. Yamauchi (1998) Pretreatment reproductive stage and oocyte development induced by salmon pituitary homogenate in the Japanese eel, *Anguilla japonica*. *Fish. Sci.*, **64**(4): 531-537.
5. Boëtius, I. and J. Boëtius (1980) Experimental maturation of female silver eels, *Anguilla anguilla*. Estimates of fecundity and energy reserves for migration and spawning. *Dana*, **1**: 1-28.
6. Lai, J. Y., Y. C. Chang, G. R. Chen and T. C. Yu (1995) Studies on the gonadal development and induced maturation of Japanese eels, *Anguilla japonica*. *J. Taiwan Fish. Res.*, **3**(2): 143-149. (in Chinese with English abstract)
7. Yoshikawa, M. (1995) Relationships between gonadal maturity and body weight or age, and seasonal change

- of them in cultivated Japanese eel, *Anguilla japonica*. Bull. Shizuoka Pref. Fish. Exp. Stn., **30**: 23-27.
8. Kagawa, H., N. Iinuma, H. Tanaka, H. Ohta and K. Okuzawa (1998) Effects of rearing period in seawater on induced maturation in female Japanese eel, *Anguilla japonica*. Fish. Sci., **64**(1): 77-82.
  9. Ura, K., A. Hara and K. Yamauchi (1994) Serum thyroid hormone, guanine and protein profiles during smoltification and after thyroxine treatment in the masu salmon, *Oncorhynchus masou*. Comp. Biochem. Physiol., **107A**(4): 607-612.
  10. Saglio, P., A. M. Escaffre and J. M. Blanc (1988) Structural characteristics of the epidermal mucosa in yellow and silver European eel, *Anguilla anguilla* (L.). J. Fish Biol., **32**: 505-514.
  11. Pankhurst, N. W. (1982) Changes in the skin-scale complex with sexual maturation in the European eel, *Anguilla anguilla*. J. Fish Biol., **21**: 549-561.
  12. Pankhurst, N. W. and J. N. Lythgoe (1983) Changes in vision and olfaction during sexual maturation in the European eel. *Anguilla anguilla* (L.). J. Fish Biol., **23**: 229-240.
  13. Khan, I. A., E. Lopez and J. Leloup-hatey (1987) Induction of spermatogenesis and spermiation by a single injection of human chorionic gonadotropin in intact and hypophysectomized immature European eel (*Anguilla anguilla* L.). Gen. Comp. Endocrinol., **68**: 91-103.
  14. Ohta, H., H. Kagawa, H. Tanaka, K. Okuzawa and L. Hirose (1996) Changes in fertilization and hatching rates with time after ovulation induced by 17, 20 $\beta$ -dihydroxy-4-pregnen-3-one in the Japanese eel, *Anguilla japonica*. Aquaculture, **139**: 291-301.
  15. Chang, Y. S. and I. C. Liao (1977) Preliminary histological study on the gonadal development of pond-reared eels, *Anguilla japonica* in Taiwan. J. Fish. Soc. Taiwan, **5**(2): 61-67. (in Chinese with English abstract)
  16. Ohta, H., H. Kagawa, H. Tanaka, K. Okuzawa and K. Hirose (1996) Milt production in the Japanese eel, *Anguilla japonica* induced by repeated injections of human chorionic gonadotropin. Fish. Sci., **62**(1): 44-49.
  17. Ohta, H. and T. Izawa (1996) Diluent for cool storage of the Japanese eel, *Anguilla japonica* spermatozoa. Aquaculture, **142**: 107-118.
  18. Xie, G., X. Ye, Z. P. Su, D. G. Yu and D. B. Pan (1999) The main biological characteristics of sperm of *Anguilla japonica*. J. Shanghai Fish. Univ., **8**(1): 81-84. (in Chinese)
  19. Wang, Y. Q., C. C. Zhao, Z. F. Shi, Y. J. Tan, K. J. Zhang and Y. S. Li (1980) Studies on the artificial inducement of reproduction in common eel. J. Fish. China. (in Chinese with English abstract)
  20. Yu, T. C., C. L. Tsai, Y. S. Tsai and J. Y. Lai (1993) Induced breeding of Japanese eels, *Anguilla japonica*. J. Taiwan Fish. Res., **1**(1): 27-34. (in Chinese with English abstract)
  21. Bezdenzhnykh, V. A. and G. A. Prokhorchik (1984) Period of oocyte maturation and assessment of egg quality of eel, *Anguilla anguilla* under stimulation of maturation with gonadotropic hormone. Voprosy Ikhtiologii, **5**: 814-821.
  22. Ijiri, S., Y. Kazeto, N. Takeda, H. Chiba, S. Adachi and K. Yamauchi (1995) Changes in serum steroid hormones and steroidogenic ability of ovarian follicles during artificial maturation of cultured Japanese eel, *Anguilla japonica*. Aquaculture, **135**: 3-16.
  23. Hulbert, W. C. and T. W. Moon (1978) General characteristics and morphology of eel (*Anguilla rostrata*) red and white muscle. Comp. Biochem. Physiol., **61A**: 377-382.
  24. Pankhurst, N. W. (1982) Changes in body musculature with sexual maturation in the European eel, *Anguilla anguilla* (L.). J. Fish Biol., **21**: 417-428.

I Chiu Liao<sup>1</sup> and Su-Lean Chang<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Taiwan Fisheries Research Institute, Council of Agriculture.

<sup>2</sup>Tungkang Marine Laboratory, Taiwan Fisheries Research Institute,  
Council of Agriculture.

(Accepted 3 December 1999)



## Technique Improvement in Induced Maturation and Spawning of Pond-Reared Broodstock of Japanese Eel *Anguilla japonica*

### Abstract

Pond-reared female Japanese eel *Anguilla japonica*, ( $n=210$ ) with a mean total length of  $83.2 \pm 6.3$  cm ( $67.5-103.5$  cm) and body weight of  $1072 \pm 191$  g ( $623-1700$  g) were used for induction of maturation. The maturity of females was divided into 6 classes (classes 0-5) based on the black coloration of the pectoral fins. Females were injected with 0.5 or 1 IU/g BW of human chorionic gonadotropin (HCG) at 2 weeks interval in the first month in order to synchronize their maturity up to grades 3-4 one month after hormonal treatment. Subsequently, female with body weight over 800 g were injected with a dosage of 4 catfish pituitary homogenate, and 3 catfish pituitary homogenate for those with the body weight below 800 g. Accompanied with shortening of the injection interval, and reduction of injection dosage at the late stage of induction, final maturation can be attained in 2 months after hormonal treatment. Ovulation was induced by treatment of  $17\alpha$ ,  $20\beta$  - dihydroxy - 4 - pregnen-3-one (DHP,  $2 \mu\text{g/g}$  BW). Spawning was found occasionally in 100 L aquarium by mating with 3 - 5 males per female. The goal of producing fertilized eggs all year around can be achieved by inducing the female broodstock to spawn in aquaria using DHP injection, with or without stripping 15-16 h after treatment. The onset of maturation in eel can be enhanced by treatment of HCG, and treatment of HCG together with catfish pituitary homogenate synergistically reduced the induction period. However, only 44.8 % of pond-reared female attained the final maturation. About 70% among matured female attained the final maturation stage within 2 - 4 months after hormonal treatment. The minimum size of female for successful spawning and producing the larvae until the feeding stage is 623 g. The induction period of females to produce viable feeding larvae ranged between 61 and 175 days. Asynchronization of oocyte development and difficulty in time decision for inducing ovulation based on body weight index (BWI) are the main problems of induction maturation in female eels, because the lower BWI was found in the female with long period treatment. For male, the spermatogenesis was induced by treatment of 1-2 IU/g BW HCG per 1 - 2 weeks interval in accordance with to the maturity status of female.

**Key words:** *Anguilla japonica*, Induced maturation, Human chorionic gonadotropin (HCG),  $17\alpha$ ,  $20\beta$ -dihydroxy-4-pregnen-3-one (DHP)