

魚類成熟與生殖的調控－以烏魚為例



劉富光

水產試驗所

前言

烏魚 (*Mugil cephalus*) 屬於溫水性海水魚類，是熱帶及亞熱帶地區主要的養殖魚種，分布在南北緯 42° 之間 (Lee and Tamaru, 1988)。由於在養殖上具有：(1)成長快速；(2)對環境及疾病抵抗力強；(3)廣鹽性，可在淡水、半淡鹹水及海水養殖；(4)草食性；(5)種魚的精與卵可製成高價魚白及烏魚子等有利的條件，因此，使之成為國際上非常普遍的商業化養殖食用魚種。

種魚的成熟、產卵與孵化等人工繁殖技術之確立，是種苗大量生產的先決條件；而一般咸信，惟有藉由成熟與生殖的調控，才是達成此目標的不二法門。由於烏魚人工繁殖技術早已成功 (Kuo et al., 1994; Liao, 1976; Nash and Shehadeh, 1980)，且已建立種魚培育、成熟操控、催熟產卵及繁殖季節調控等技術。因此，本文乃以烏魚為例，介紹利用環境與激素 (hormone) 處理誘發烏魚成熟與產卵的方法，進而調控其繁殖季節，期使種苗的供應能夠穩定且充裕，俾作為其他魚類人工繁殖與種苗生產的參考模式。

生殖腺成熟的操控

一、養殖池中自然成熟

量足而質優的成熟種魚，乃係種苗生產成敗的關鍵所在。以夏威夷的試驗為例，利用面積 163 m^2 大小的海水魚池，採流水式養殖，並在池中懸掛繩索以便著生大量底藻、藍綠藻或絲狀綠藻等供種魚攝食，在此天然情況下，烏魚在 4 年齡即可成熟 (Shehadeh et al., 1973c)。另，檢測卵徑及生殖腺成熟指數 (GSI) 發現，烏魚在 10 月底因短日照的刺激而引發卵黃生成作用 (vitellogenesis)，在 2 至 2.5 個月後，達到卵黃最後成熟期 (final maturation stage)。因此，12 月初至翌年 3 月初為烏魚的產卵季節 (Kuo and Nash, 1975)。由於受到天然環境、氣候及水文條件的影響，各地的繁殖季節略有差異。在台灣淡水池中養殖的 3 年齡烏魚同樣也可以成熟，只要在繁殖前在海水中馴養 3 個月，便可當作人工繁殖用種魚 (Liao et al., 1971)。

二、以環境操控來誘導卵黃生成

在 3 月中至 10 月底，烏魚卵黃發育正值休止期 (resting period) 時，分別將之放置於三種水溫 $17 \pm 1^{\circ}\text{C}$ 、 $21 \pm 1^{\circ}\text{C}$ 及 $26 \pm 1^{\circ}\text{C}$ ，並調整光周期為 6 L/18 D，對照組的光周期由 10.5 L/13.5 D – 13.5 L/10.5 D，水溫範圍在 $24 - 28^{\circ}\text{C}$ 。8 週後發現烏魚已開始有卵黃生成作用，而水溫 $21 \pm 1^{\circ}\text{C}$ 能有效的促使卵的成熟發育 (Shehadeh et al., 1973a; Kuo et al., 1974a)。但在 17°C 時，卵黃蛋白的堆積有不

特別報導

足的現象，而 26°C 却會導致卵黃生成作用之停滯而使得卵黃卵 (vitellogenic oocytes) 萎縮。因此，由此試驗得知，短日照 6 L/18 D 是卵黃生成作用的首要因素，能引發卵巢的成熟發育，而溫度 21–22°C 則可調整卵黃成熟的過程，二者是相輔相成的。

三、以激素或抗雌素誘發卵黃生成

由於水溫及光照等環境的調控，並不是在每個地方或對每尾種魚都一定有效，且某些種魚的卵巢成熟可能會有生理上的障礙 (physical constraints)，因此，有時要借助激素來克服上述缺失。

(一) 孕馬血清促性腺激素 (pregnant mare's serum gonadotropin, PMSG)

以卵巢發育在停滯期 (refractory period, 即 3 月中至 10 月中) 的母魚做測試，其自然光周期為 12–13.5 L/12–10.5 D，水溫範圍在 24–28°C，鹽度為 32 psu。以每克魚體重 1 IU PMSG 的劑量，採肌肉注射，每週 3 次，持續 2 個月。結果發現，雖然 PMSG 可誘發卵黃生成作用，但並不完全，意即無法達到後卵黃期 (postvitellogenic stage)，其原因係水溫 24–28°C 對卵黃生成來說可能過高所致。

(二) 抗雌激素 (clomiphene citrate, Clomid)

同樣的，以成熟發育過程中停滯期的母魚，以每克體重 1 µg Clomid 的劑量，每週注射 3 次。持續 2 個月後，卵發育雖可進展到卵黃球期 (yolk globule stage)，但仍然不完全，且卵黃卵有萎縮現象，顯然，還是因為水溫 24–28°C 太高的緣故。

(三) 促黃體釋放素類似物 (LHRH-a)

近年來，以 LHRH 或 LHRH-a 來促使卵

巢發育成長乃至產卵，已引起學者及業界的廣泛興趣。LHRH-a 曾以埋植 (implantation) 的方式，能夠有效的促使虱目魚卵巢發育 (Lee et al., 1986a, b)。所以，同樣用 LHRH-a 以每公斤魚體重 200 µg 的劑量，埋植於母烏 6 個月後，然而卻沒有檢測出第三卵黃期 (tertiary yolk globule stage) 的成熟卵，顯然，烏魚對 LHRH-a 的反應低而與虱目魚的結果截然不同 (Lee and Tamaru, 1988)。

四、以激素誘導生精作用 (spermatogenesis)

雖然成熟的雄魚較母魚問題少，但在繁殖季節如重複使用，仍然會使精液變得黏稠，且不易擴散，甚或精巢退化。因此，以 17-MT (17 α -methyltestosterone) 每公斤魚體用 50 mg 的劑量，每 2 天注射 1 次，在 4 週內，即可促使雄魚成熟 (Shehadeh et al., 1973d)。然而，此法費時，且注射部位容易發炎。有鑑及此，Weber and Lee (1985) 以 17-MT 每公斤魚體重每天用 12.5 mg 的劑量，採口投方式，連續 3 週後，雄魚也一樣能夠成熟。再進一步，每週以同劑量口投 3 次，雄魚便可整年成熟。而且，不論在淡水或海水中，只要光周期在 8–18 小時，口投 17-MT 均有效 (Lee and Weber, 1986)。

此外，如改以 2.5 mg 17-MT caster oil (silastic capsules) 或 2.5 mg 17-MT crystalline 等埋植方式均可誘發生精作用，且較之口投 12.5 mg/kg/day，持續 3 週所使用的劑量少，可節省成本 (Lee and Tamaru, 1988)。

由上述這些試驗可以證明，只要種魚達到成熟的年齡與體型後，無論卵發育到什麼階段，都可以利用環境的控制或抗雌性激素、促性腺激素等來誘使種魚成熟。

繁殖季節的調控

在天然情況下，母鳥受到短日照及低水溫環境的刺激，會激發卵黃生成作用，通常此過程約需 2–2.5 個月的時間，直到卵發育至第三卵黃期。當母魚再次接收環境的訊息，會引起神經內分泌系統作用，從而促使卵發育到最後成熟期，而進一步排卵 (ovulation) 或產卵 (oviposition)。大體而言，此過程在很短的時間即可完成 (烏魚約僅 36 小時)。因此，可以利用環境或激素來調控烏魚的繁殖季節 (Kuo, 1995)。

- (一) 利用低水溫 (21–22°C) 及短日照 (6 L/18 D)，可使烏魚繁殖季節提早至 7 或 8 月。
- (二) 母魚以 PMSG 或 Clomid 處理可誘發卵成熟，如配合低水溫 (21–22°C)，同樣有可能將烏魚的繁殖季節提早 5 個月。
- (三) 在正常的繁殖季節，如水溫降低至 17°C，卵徑會在 2–3 週內發育至 0.6 mm (可以注射激素誘發產卵的卵徑大小)。但如用部分純化鮭魚促性腺激素 (SG-G100, partially purified salmon gonadotropin)，以每天每克魚體重 0.1–6.0 µg 的劑量注射 1 週後，卵便可加速成熟，第 8 天卵徑可達到 0.6 mm 以上。顯然，比單獨用降溫的方法來得有效。因此，水溫與激素之調配可使繁殖季節提早 1–2 個月。

- (四) 後期卵黃卵 (postvitellogenic oocytes) 在水溫升高時，很容易產生萎縮退化現象。因此，若能保持低水溫，例如：20°C，便可使烏魚的成熟卵黃卵至少維持 5 個

月而不至於萎縮。

(五) 如果用人類絨毛膜促性腺激素 (HCG) 注射，即使繁殖季節已過，成熟卵黃卵也可維持 2 個月不退化。

綜合上述試驗的結果，藉由環境及激素的操控，可以提早卵的發育或延後成熟卵退化的時間，而使得烏魚整年都可繁殖產卵。

人工繁殖

一般而言，自然產卵較之人工繁殖，不但受精率高，且種魚也不會受到嚴重的傷亡。所以，自然產卵乃係當前種苗生產的發展趨勢。但在尚未建立自然產卵技術前，人工繁殖便成為唯一的種苗生產手段。人工繁殖的方法需借助激素的注射來促使種魚成熟排卵，常用的激素有：SG-G100、HCG、腦下垂體 (pituitary homogenate, PH)、皮質類固醇 (deoxycorticosterone, DOC) 及 LHRH-a 等，茲分別介紹如後：

一、SG-G100

利用 4 年齡成熟母魚，在鹽度 18–32 psu 範圍下，注射 SG-G100，其劑量可以公式 $Y = 74.937 - 87.335 X$ 估算，其中，Y 係激素的劑量 (µg/g BW)，X 是開始打針時的卵徑 (mm)。通常，第 1 針打全劑量的 1/3，第 2 針在隔 24 小時後打剩餘的 2/3 劑量。打第 2 針後約 12 小時，便可採卵，其受精率約在 81–98% (Shehadeh et al., 1973b; Kuo et al., 1974b)。

二、HCG

以試藥級 HCG，如：APL (Ayerst) 或 Antuitrin (Purker-Daris) 等，總劑量以每克魚體 50–60 IU，分二針注射，間隔 24 小時，

特別報導

在第 2 針後 11.5—16 小時可誘發產卵，其受精率為 84—98% (Kuo et al., 1973)。值得注意的是，HCG 對烏魚的有效劑量遠高於其他海水魚種，如：黑鯛的 1.0—1.5 IU/g BW (Lin and Yen, 1980) 及虱目魚的 1.5 IU/g BW (Kuo, 1985)。更高於其他淡水魚類，如：雜交條紋鱸的 0.3 IU/g BW (Liu et al., 1998)。

三、腦下垂體

許多試驗證實魚類的腦下垂體，能有效的促使最後階段的卵黃成熟 (final oocyte maturation)，也就是說可誘使第三卵黃期發育到卵核居中期 (subperipheral germinal vesicle stage)，而且，腦下腺也較 HCG 節省成本。因此，在台灣早期即已嘗試單獨使用烏魚的腦下垂體 (MPH)，雖然可以引發產卵，但效果不好，所以後來在注射 MPH (2.5—6/kg BW) 之同時也混合使用 Synahorin (50—60 RU/kg BW)，結果發現效果較佳，受精率在 62—100% (Liao, 1976, 1977)。此外，以鯉魚腦下垂體 (CPH)，每克魚體 55—66 μ g 的劑量打第 1 針，而第 2 針改打每克魚體 33 IU 劑量的 HCG，也很成功的誘發產卵，且受精率在 77—95% (Kuo et al., 1973)。

四、DOC

由於 HCG 價格較貴，且有時候不易取得，於是有些學者研究以皮質類固醇來替代的可行性。經試驗得知，單獨用 DOC，不但無法讓卵達最後成熟期，反而會使卵退化。但假使第 1 針先打 CPH (50—70 μ g/g BW)，第 2 針再 DOC (100—120 μ g/g BW)，則在第 2 針後 11—16 小時，便可成功的誘導產卵，其受精率達 82% 左右。此外，倘若以 S-G t H (即 SG-G100) 以 5—8 μ g/g BW 打第 1 針，

然後以 50—100 μ g/g BW 劑量的 DOC 打第 2 針，則在 12—23 小時後能引發產卵，受精率在 76—91% 之間 (Kuo, 1982)。

五、LHRH-a

前已述及，使用 HCG 成本較高，而魚類腦下垂體往往又因魚的成熟度與身體狀況的差異，以及製備與保存方法的不同，使得其效果極不穩定。因此，除了前述類固醇的利用外，LHRH-a 是目前專家們積極努力開發的方向，以期找出方便有效且節省成本的催產方法。

烏魚單獨以 LHRH-a 注射 2 針，間隔 24 小時，總劑量為 300—400 μ g/kg BW，其成功率約 68.4%，受精率在 7—95%，但假使第 1 針用 CPH 20 mg/kg BW，第 2 針用 LHRH-a 200 μ g/kg BW，則母魚在第 2 針後 11.5—20 小時產卵，其成功率可提高至 94.1%，受精率也在 28—99% (Lee et al., 1987)。因此，就實用與節省成本的角度來看，以第二種方法較佳。但是有一點與 HCG 的情形一樣，使用的有效劑量，遠高於其他魚種，如：草魚及青魚 (Peter, 1988)。

討論

烏魚生殖的調控，長久以來一直是生物學家及養殖業者很有興趣的研究主題，經過不斷的努力，對其成熟生理有了更深一層的瞭解，已能運用環境及激素輔助的方法，來誘發烏魚的成熟排卵，進而可調控繁殖產卵的季節，再配合開發成功的人工繁殖技術，可以說已奠定了今後種苗大量生產的基礎。

利用環境條件的控制，如短日照 (6 L/18

D) 及低水溫 (21–22°C) 處理，能夠促使烏魚卵發育到第三卵黃期 (卵徑 0.6 mm 以上) 可以做人工繁殖的成熟卵。此外，以 PMSG 或 Clomid 來刺激卵成熟應該是可行的，惟應注意水溫不宜過高，否則會失效。由於烏魚具有很強的多巴胺抑制作用 (dopaminergic inhibition)，如以 LHRH-a 用相當於虱目魚的劑量來誘導，恐無法達到預期的效果。因此，有進一步探討其使用劑量及投予方法的必要，也許烏魚的成熟調控機制與虱目魚不同，除激素外，還要配合環境的刺激。

以低水溫 (21–22°C) 及短日照 (6 L/18 D) 處理種魚，繁殖季節可以提早 5 個月；而在種魚產卵後，保持水溫不要超過 20°C，能夠使成熟卵在 5 個月內不會退化。除此之外，用 PMSG 或 Clomid 處理，再配合 21–22°C 的水溫，也同樣能使種魚提早 5 個月成熟。

因此，由環境及激素的作用，便可調控烏魚的繁殖季節，有利於計畫性的種苗生產，就養殖產業而言，具有其正面意義。

魚類人工繁殖所使用的各種催熟藥劑，雖然都能成功的誘發產卵，但卻有其使用上或效益上的缺失。魚類腦下垂體往往因個體成熟度之差異而變化很大，且製備與保存的方法不同也會影響其品質，加之，其藥效也很難標準化，因而就商業化大規模而言，有其使用上的缺點。HCG 常被用來當作魚類的催產激素，但有些魚種，如烏魚的有效劑量高出其他魚種數十倍，且 HCG 本身也較昂貴，因此大量使用也有增加種苗生產成本的弊端。而且，有些魚類對 HCG 會產生抗體而減低其藥效；此外，久藏也會失去藥效。

有鑑及此，研究人員乃嘗試使用皮質類固醇，如：DOC 來替代 HCG，倘能配合 CPH 使用，同樣能成功的誘發產卵，如此一來，便可節省生產成本。

另一方面，人工合成的 LHRH-a，由於品質一定、貨源穩固、便宜且效果不錯，所以，被認為是另一種值得開發應用的催熟激素。但是烏魚對 LHRH-a 的反應與 HCG 一樣，其有效劑量高於其他魚種，可能也是因為烏魚的多巴胺抑制作用的結果。由於促性腺激素係受到促性腺激素釋放素 (GnRH) 及促性腺激素抑制素 (GnIH) 二種正、負迴饋刺激的影響，而 GnIH 即一般的多巴胺 (dopamine)，因此，利用多巴胺的拮抗物 (antagonists) 如：pimozide 或 domperidone，來強化 LHRH-a 使用的效果。這方面某些魚種已有成功的先例 (Peter et al., 1988)。

魚類卵發育並成熟排卵的誘導激素，除了促性腺激素外，還有成熟促進因子 (maturation promoting factor) 及成熟誘導類固醇 (maturation inducing steroid, MIS)。MIS 又分二類，其中的一類係前面提過的 DOC。另一類則屬於黃體激素，如： $17\alpha, 20\beta$, dihydroxy-4-pregnen-3-one ($17\alpha, 20\beta$ DP) 以及 $17\alpha, 20\beta$, thihydroxy-4-pregnen-3-one ($17\alpha, 20\beta$ TP) 等，已經被證實對一些魚類有效 (Thomas and Trant, 1989)。

此外，激素催熟處理的時機，應配合天然繁殖季節的盛期，才會有較佳的效果，也才能提高種苗生產的成功率。

註：本文主要取材自 Kuo (1995) Manipulation of ovarian development and spawning in grey mullet. *Mugil cephalus* L. Bamiqeh, 47: 43-58.