

## 促進石斑魚性轉變及產卵之研究

葉信利·丁雲源·郭欽明

Induction of Sex Reversal and Spawning of  
grouper *Epinephelus salmonoides*  
*Epinephelus fario*

Shim-Lih Yeh, Yun-Yuan Ting and Ching-Ming Kuo

The grouper (*Epinephelus fario*; *Epinephelus salmonoides*) popular maricultural fish and commercial important marine food fish in Taiwan have been found to be suitable for intensification and cage culture in coastal waters. For the purpose of solve the shortage and uncertain supply of mature fish from the wild. Research effects have been directed at induced sex reversal and breeding aimed at achieving self-sufficiency supply of mature grouper, and the results were summarized as follow:

1. Females (*Epinephelus salmonoides*) over one-year-old can be induced to sex reversal with oral application of  $17\alpha$ -methyltestosterone at the dosage of 1.5 mg/KG over 2-month duration.
2. Gonadosomatic index of the sex reversal males (*Epinephelus salmonoides*) whereas, is about 0.025% and the numbers of sperm is about  $8 \times 10^8$  /ml semen.
3. The spawning season of female fishes (*Epinephelus fario*) is from April to June, and the gonadosomatic index is over 2.7%, and some fish also reach 17.23%.
4. Female spawner about three-year-old of *Epinephelus fario* induced ovulation was effected with the administration of human chorionic gonadotropin at the dosage 1,000IU/KG of recipient fish. Two or three dosages are usually injected with 24 hours interval and spawning occurred about 48-96 hours later after the first injection.
5. The eggs of *Epinephelus fario* are pelagic spherical in shape, and the egg yolk is colorless, transparent and without conspicuous structure. The diameter of the egg was 0.8-0.9mm, containing a single colorless oil globule with 0.2mm in diameter.

### 前 言

台灣水產養殖業，經過拾幾年來之努力開發，迄目前已有驚人之發展成就，主要養殖種類包括有鰻魚、吳郭魚、虱目魚、鱸魚、草蝦等經濟上很有價值之魚種，就以台灣之經濟型態及消費者對水產

物之偏好性，已逐漸傾向高經濟價值之魚種。石斑魚就是食用魚中高級經濟魚類，頗受香港，東南亞等地消費者喜好，對台灣之鹹水養殖漁業，甚具發展潛力。

然石斑魚苗無論在國內或國外，均非常缺乏，但石斑魚之養殖已被重視，魚苗之來源問題是目前迫切需要解決之課題。石斑魚苗生產之困難，在於成熟種魚之來源，及魚苗之育成，而後者已有許多成功之研究<sup>(1)(2)(3)(4)(5)(6)</sup>；但就前者言，石斑魚是屬於先雌後雄之兩性魚（Protogynous hermaphroditism）<sup>(7)(8)</sup>。成熟之雄魚是屬於高齡魚（8~11齡）<sup>(9)</sup>，捕獲甚為困難，由於雌魚碩大，在人工繁殖之操作實為不便，所以惟有充足成熟種魚來源，始可預期石斑魚養殖之成果。

為解決石斑魚成熟種魚來源，其方法主要為提早促進石斑魚性轉變。Chen（1977）對鱧滑石斑（*Epinephelus tauvina*）<sup>(1)</sup>，Yeh（1986）對青點石斑（*Epinephelus fario*）<sup>(10)</sup>皆利用雄性荷爾蒙（Androgen）刺激使原雌性之石斑魚提前轉變為雄性石斑魚。目前台灣所養殖之石斑魚以鮭形石斑（*Epinephelus salmonoides*）及青點石斑（*Epinephelus fario*）為大宗，養殖業者對苗需量大。又鮭形石斑經不斷研究，已有人工繁殖成功之報告<sup>(6)(11)</sup>。青點石斑也成功以人工促進性轉變<sup>(10)</sup>，對石斑魚養殖言，不啻為好消息。然而鮭形石斑雌性種魚仍來自天然海域捕獲，來源無法充分控制。青點石斑雖經性轉變後雌性可由養殖池大量取得，但雌性排卵之研究却闕之。所以，本實驗目的就是在於使用人為方式，探討鮭形石斑性轉變及促使青點石斑排卵之方法，冀能找出荷爾蒙處理時機與時間，以早日能培養出大量石斑魚種魚，解決石斑魚人工繁殖之瓶頸。

## 材料與方法

### 一材料：

1985年6月下旬購自養殖漁民漁塢內所養殖接近2齡上市體型之青點石斑（*Epinephelus fario*）26尾，平均體重為 $1.58 \pm 0.08$  KG，平均體長 $46.3 \pm 0.8$  CM，及1985年12月底購自養殖漁民所養殖1+魚齡上市體型之鮭形石斑（*Epinephelus salmonoides*）20尾，平均體重為 $1.32 \pm 0.06$  KG，平均體長 $41.0 \pm 0.4$  CM為試驗用魚，來源皆可以大量取得。

### 二方法：

#### 性轉變：

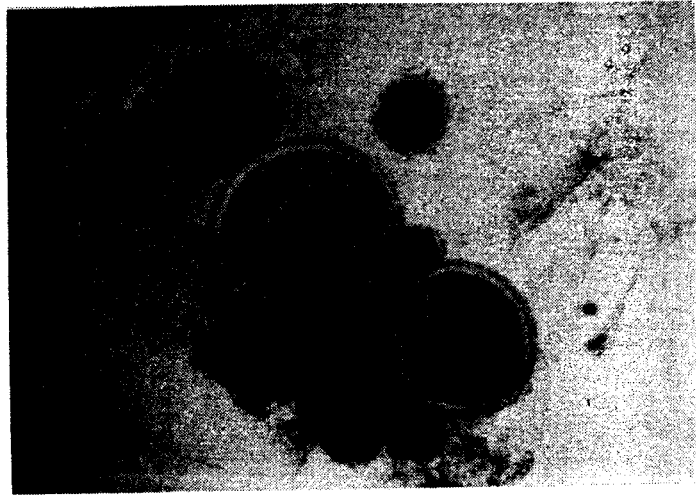
1986年3月25日起，至1986年5月23日止，以15尾鮭形石斑為材料，以Sigma牌之甲基辜固酮（ $17\alpha$ -Methyltestosterone）投餵處理，投餵劑量約為1.5 MG/KG魚體重，投餵前先以95%酒精溶解荷爾蒙，再將含有荷爾蒙之下雜魚塊飼料，經烤箱 $60^\circ\text{C}$ ，1小時烘烤後使用，每星期投餵荷爾蒙3~5次，視攝食情形加以控制，並於投餵後隔日收回殘餌加以計算殘餌及藥量。

#### (二)產卵研究：

當成熟雌性石斑魚存在時，以胎盤性腺激素（human chorionic gonadotropin, HCG）及血清性腺激素（Pregnant mare serum gonadotropin, PMSG）促進卵巢最後成熟，達到排卵之目的，以了解排卵之過程，建立有效荷爾蒙種類及所需劑量。成熟雌性石斑魚之選擇以卵粒大小及卵黃貯積為準，母魚麻醉後以PE管吸出卵粒，經Serra liquid透明處理後觀察之，在卵巢內多數卵達到第四卵母細胞發育級（卵徑400 UM以上）或生殖腺成熟級在第IV級（相片1）之魚方選為試驗魚，鑑定卵粒發育級之方法則依據葉（1986）<sup>(10)</sup>及葉根據曾（1984）<sup>(12)</sup>之標準所描述者。

## 結 果

### 一性轉變試驗：



照片 1. 成熟青點石斑之第四卵母細胞

Plate 1 Stage 4 oocytes catheterised from a mature female *E. fario* after clearing in serra liquid. 40X

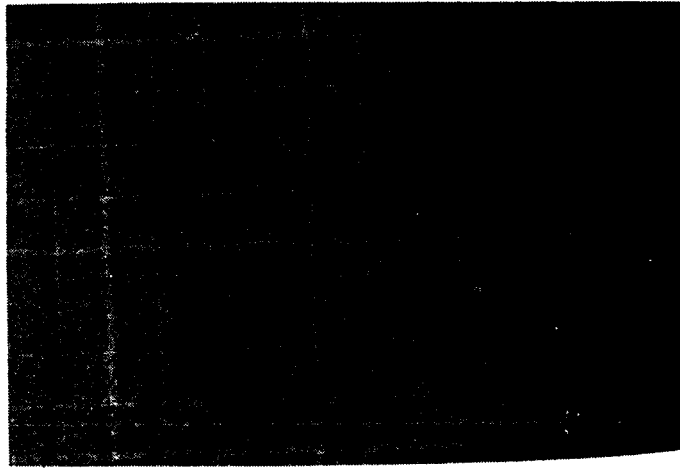
鮭形石斑經 2 個月投餵雄性荷爾蒙後，每尾魚平均累積劑量為 104mg，經採樣 8 尾石斑魚（表 1），在外觀上，皆無雌性石斑魚之特徵，且生殖孔閉塞，然皆無法擠出精液，經解剖其中 5 尾，以刀片刮取生殖腺，皆得少許精液，經海水活化後，以顯微鏡觀察，皆可看到活力良好精子，大小約 2~3UM，活動約 10 min 後停止（照片 2），精子數目約  $8 \times 10^8$  個/cc 左右，此時之 GSI 性腺指數平均  $0.025 \pm 0.003$  %，HSI 肝臟指數平均為  $1.333 \pm 0.071$  %。

表 1 促進鮭形石斑性轉變之採樣

Table 1 Summary of trials on sex reversal of 1 + - year - old *Epinephelus salmonoides* in 1986

Trial No.	Date	Body Wt (Kg)	Body Lh (Cm)	GSI %	HSI %	Results & Remarks
1	5/23	1.30	44.7			
2	5/23	1.38	44.6	0.0276	1.438	male *
3	5/28	1.30	46.1	0.0269	1.308	male
4	5/28	1.68	49.1	0.0268	1.458	male *
5	5/28	1.30	45.8	0.0292	1.069	male *
6	6/12	1.40	46.8	0.0145	1.394	male *
7	6/12	1.20	44.6			
8	6/12	1.72	48.7			

\* Indicate the numbers of sperm about 80000000/ml semen.

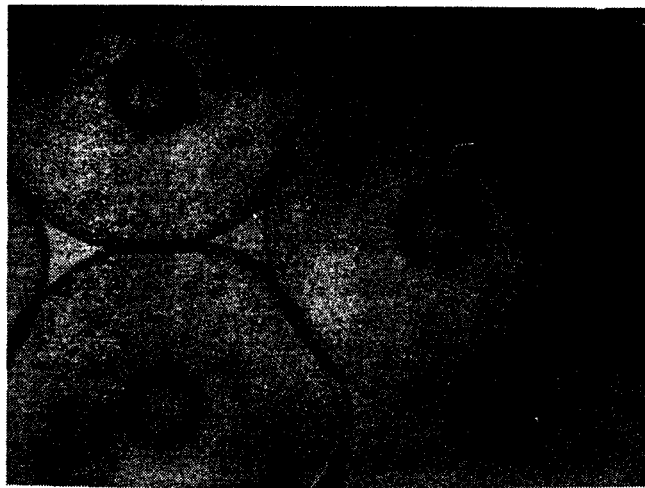


照片 2 鮭形石斑經促進性轉變後之精子

Plate 2 The sperms (2-3um) of *Epinephelus salmonoides* after treated with  $17\alpha$ -methyltestosterone induced sex reversal. 100X

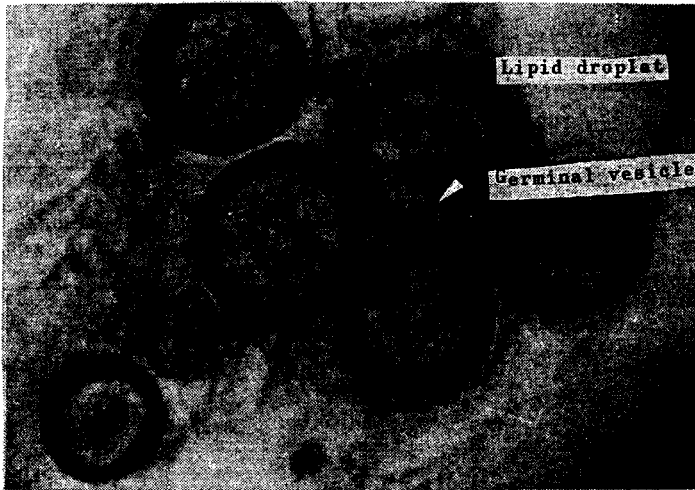
三產卵研究：

成熟 3 齡左右之雌性青點石斑 (*E. fario*) 體重在 3.5 至 4.8 KG，平均卵徑 480 至 650 M，以胎盤性腺激素促進最後成熟及產卵，其結果如表 2 所示。以每針劑量 3,500 至 8,000 IU Puberogen 注射處理或另加 250 IU Peamex 處理 2 至 3 次，11 尾石斑魚中有 8 尾順利產出卵，卵為透明浮性卵，卵徑 800 至 900 U M，有一大油球 200 U M (照片 3)。另在成熟度與荷爾蒙注射次數，注射一針者 (2 尾) 效果不佳；卵徑 600 U M 以上注射 2 針者 4 尾，除 1 尾未產卵外，餘皆採得卵，其中 2 尾隔日死亡，死因可能係強迫擠卵而受傷。卵徑 600 U M 以下注射 3 針者 5 尾，3 尾順利產出卵，卵數皆超過 30 萬粒，其中 1 尾打第 2 針後已產出約 33 萬粒卵，立即補打第 3 針，則 24 小時內再排出約 38 萬粒卵。注射 puberogen 或混合 peamex 使用皆能達到產卵。使用劑量以每針約 1,000 IU / KG 魚體重，間隔 24 小時注射，若只打 2 針者，則第 2 針劑量加倍，其效果並無



照片 3 青點石斑所產之透明浮性卵

Plate 3 The eggs of *Epinephelus fario* ( 800 ~ 900um ). 40X



a. 未注射荷爾蒙前之卵  
a. Stage of initial injected.



b. 注射 24 小時後之卵  
b. Stage of 24 hours after injected.



c. 注射 48 小時後之卵  
c. Stage of 48 hours after injected.

照片 4 荷爾蒙處理後卵之成熟過程 ( a - c )

Plate 4 Stages of maturation of egg after treated with HCG of *E. fario* 40X

◻ : Germinal vesicle

◄ : Oil gobule

表 2 青點石斑荷爾蒙催熟及產卵

Table 2 Summary of hormonal treatments for induced ovulation trials of *Ebinephelus fario* in 1986

Trial No	Body Wt (Kg)	Date	Injection dose (IU)	Specific dose (IU/Kg BW)	IOD (mm)	No. egg spawned	Remark
1	4.40	4/25 4/30	4000PU	909PU	0.47	--	Over-ripe OD: .85-.9mm
2	3.60	4/25 4/30	4000PU	1111PU	0.57	--	eggs partially released, OD: .85-.9mm
3	4.45	5/03 5/04 5/06 5/07	4000PU+250PE 4000PU+250PE 4000PU+250PE	899PU+56PE 899PU+56PE 899PU+56PE	.50-.53	400000	Pelagic eggs Naturally spawned, OD: .8-.9mm
4	4.25	5/07 5/08 5/09 5/14	4500G 4500G+250PE 4500G+250PE	1059G 1059G+59PE 1059G+59PE	.53-.55	--	egg degenerated
5	4.80	5/07 5/08 5/09	5000PU 5000PU+250PE 5000PU+250PE	1042PU 1042PU+52PE 1042PU+52PE	.53-.55		Fish damaged and died
6	4.52	5/27 5/28 5/29 5/30	4500PU 4500PU	996PU 996PU	.53-.73	370000	Stripped Died
7	3.50	5/27 5/28 5/30	3500PU+250PE 7000PU	1000PU+71PE 2000PU	0.60	400000	Naturally spawned
8	3.60	5/27 5/28 5/29 5/30	3500PU+250PE 3500PU	972PU+69PE 972PU	.60-.70	400000	Stripped Died
9	3.55	6/03 6/04 6/06	3500PU+250PE 7000PU	986PU+70PE 1972PU	.42-.50	--	Not-spawned
10	3.50	6/05 6/06 6/07 6/09	3500PU+250PE 3500PU+250PE 25 mg PG	1000PU+71PE 1000PU+71PE 7.1mg PG	.50-.53	400000	Naturally spawned
11	4.78	7/08 7/09 7/10 7/11	5000PU+250PE 8000PU 5000PU	1046PU+52PE 1674PU	.49-.51	330000 380000	Naturally spawned same

PU: Puberogen; PE: Peamex; PG: Progesterone.

IOD: Initial oocyte diameter; OD: Oocyte diameter.

明顯差異。

卵由抽視經荷爾蒙處理後至排卵前之發育過程(照片4)可由生殖泡(Germinal vesicle)之位置移動加以判斷,在青點石斑當其生殖泡破裂時(Germinal vesicle Breakdown),亦即其排卵時,由此可判斷欲人工採卵時機,不致太早或太晚採卵而得無效卵或過熟卵(照片5)。

石斑魚雌魚成熟度一般由性腺指數可知,本次實驗之青點石斑解剖其中4尾(表3),計算性腺指數(Gonadosomatic index),1尾已完全排完卵者為 $GSI=0.601\%$ ,1尾未排出卵者 $GSI=2.71\%$ ,另2尾為採1次卵後(約38萬粒),分別為 $GSI=6.31\%$ 及 $GSI=17.23\%$ (照片6)。



a. 過熟卵  
a. Over-ripe



b. 過熟卵及未成熟卵  
b. Over-ripe and unripe eggs

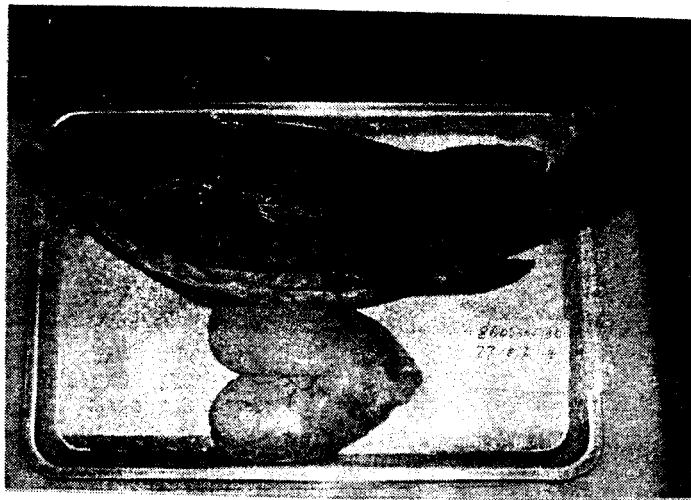
照片5 青點石斑之過熟卵

Plate 5 The over-ripe eggs of *Epinephelus fario*. (a & b) 40X

表3 青點石斑雌種魚之成熟度

Table 3 Summary of maturity of *Epinephelus fario* in 1986

Trial No	Date	Body Wt (Kg)	Body Lh (Cm)	GSI %	HSI %	Remarks
1	4/30	3.60	57.8	0.601	2.963	eggs released
2	5/09	4.80	65.8	2.708	3.060	Non-eggs spawned
3	5/30	4.52	63.6	6.310	6.310	370,000 eggs spawned
4	5/30	3.50	57.5	17.230	2.250	400,000 eggs spawned



照片6 成熟雌青點石斑種魚及卵巢(全長 57.5CM, 體重 3.50KG, 生殖腺重 620 克)

Plate 6 Matured female of *E. fario* and its ovary (total length 57.5CM body weight 3.50KG ovaries weight 620G)

## 討 論

促進石斑魚性轉變以雄性素 (Androgen) 投餵方式已被確立有效, Chen (1977)<sup>(1)</sup>, 葉 (1986)<sup>(2)</sup> 及本實驗皆證實。銈形石斑以往被認為鑲點石斑<sup>(3)</sup> (*Epinephelus amblycephalus*) 在天然海域一般於體長 60 至 70CM 開始性轉變, 而轉變為雄魚之年齡至少 5 至 10 年以上<sup>(3)(4)</sup>。在紅斑 (*E. mario*) 族群中 9 齡以上魚群, 雄魚比例才增加 (Moe 1969)<sup>(5)</sup>, 另 Snowy grouper 魚族群中亦同 (Moore & Labisky)<sup>(6)</sup>。由此知石斑魚雌性種魚需很長時間性轉變, 而且量又少。現本實驗以魚齡 1+, 體長 41 ± 0.4CM 上市體型之銈形石斑 (*E. salmonoides*) 進行 17 $\alpha$ -methyltestosterone 投餵促進性轉變, 亦可得到雄魚, 不必經過雌性成熟階段, 節省了好幾年的時間, 可大量培養, 為雄性種魚極佳的來源。

欲使石斑魚性轉變使用多少劑量荷爾蒙及需處理多久時間最適宜, 現並無一定準則, 常因魚種及魚體狀況而有差異, Chen (1977)<sup>(1)</sup> 對鱸滑石斑以 1mg / KG 魚體重之劑量投餵 2 個月, 累積劑量 145mg 得到雄魚。葉 (1986)<sup>(2)</sup> 對 1+ 魚齡青點石斑也以 1mg/KG 及 0.5mg/KG 魚體重之劑量投



餵 4 個月，累積劑量 158mg 及 70mg，完成石斑魚性轉變，並說明以 1mg/KG 魚體重之劑量效果較佳。本實驗所用銈形石斑亦為 1+ 魚齡之未成熟魚，以每 1.5mg/KG 魚體重之劑量投餵二個月，累積劑量 104mg/KG，亦得到雄魚，比葉 (1986)<sup>(10)</sup> 對青點石斑所處理節省 2 個月時間，在所使用總累積劑量亦較少，所以在未抑制的藥量內，較高劑量可能較有效。

石斑魚雄性種魚因精巢較小，性腺指數低，精液量亦少，如老鼠斑為 0.29<sup>(11)</sup>，紅斑在 0.16~0.4 間。鑲點石斑亦在 0.11~0.30 之間<sup>(12)</sup>，且 2 次腹部擠壓精液即告擠罄。天然捕獲之銈形石斑在 0.0614~0.511<sup>(13)</sup>，本實驗之雄魚亦有精液稀少現象，性腺指數低 0.025，致無法擠出精液，今後何增加精液產生量及精子冷凍保存<sup>(14)</sup>為工作重點。

卵之好壞可由卵比重、色澤、卵徑、油球徑、卵黃容量、異常卵之比例等判斷<sup>(15)</sup>，本實驗之青點石斑所排之卵，卵徑 800~900 U M，平均 850 U M，油球徑 200 U M，比鑲點石斑卵徑 882~900 U M<sup>(16)</sup>，新加坡鱸滑石斑 (*E. tauvina*) 卵徑 900 U M 略小<sup>(1)</sup>。而比香港紅斑之 800 U M<sup>(2)</sup>，Hussain et al 之鱸滑石斑之 770 U M 稍大<sup>(17)</sup>，而相似於黃等之銈形石斑 840~900 U M<sup>(1)</sup>。

排卵研究，經結果顯示與卵徑、生殖腺成熟度、荷爾蒙劑量、注射次數、採卵方式等都有關，若欲採取大量良質的卵除催熱物、劑量、方式、魚體發育狀況外，採卵時機亦要選擇得宜。在青點石斑卵徑 500 U 以上，以 HCG 間隔 24 小時連續注射可達成產卵，若以擠卵方式，其最適時間，約在最後 1 次注射後 24 小時內採取可減少過熟卵之發生，若能配合卵檢視其 GVBD 則更佳，黃<sup>(1)</sup>研究銈形石斑排卵亦說在最後 1 針後 24 小時內採之卵受精率較高。

通常石斑魚雌性種魚，性腺指數 (GSI) 在 2.0% 以上，則卵巢膨大為成熟種魚<sup>(3) (10) (11) (12) (13) (14)</sup> 本實驗成熟雌魚性腺指數亦在 2.7% 以上，其中 1 尾魚體重 3.6KG 在產出 1 次卵後，生殖腺仍重 620 克，計算 GSI=17.23%，而這些種魚皆是由魚塢培育而成，因此可知在魚塢養成之青點石斑之成熟度良好，不比由海域捕獲的差，可做雌性種魚的來源之一。又從其受刺激排卵後，性腺指數仍高及續受刺激續排卵與性腺組織切片觀察卵巢中存在成熟和未成熟卵夾雜之情形，青點石斑應是和銈形石斑<sup>(1)</sup> 同屬多次產卵型之石斑魚。

## 摘 要

石斑魚為台灣之鹹水養殖漁業甚具發展潛力之高級經濟魚類，適合集約與箱網養殖，為解決人工繁殖種魚之問題，乃從事種魚培育研究，以確立人工促進石斑魚性轉變得到雄魚之技術，及明瞭其催熱產卵之生理。銈形石斑及青點石斑經實驗後其結果如下：

- 一 魚齡 1+ 之銈形石斑以 1.5mg/KG 魚體重，投餵 17 $\alpha$ -methyltestosterone 2 個月，累積劑量 104 mg 可得到雄魚。
- 二 銈形石斑經性轉變後雄魚性腺指數平均為 0.025%，精子數約  $8 \times 10^8$  個/ml 精液。
- 三 青點石斑之生殖季在 4 至 7 月，成熟雌魚性腺指數在 2.7% 以上，且可高達 17.23%。
- 四 魚齡 3 齡左右之青點石斑抽卵檢視，卵徑在 500 U M 以上者，施以 HCG 催熱，間隔 24 小時注射 1 次，劑量為 1,000 IU/KG 魚體重，注射 2 至 3 次，則於第 1 針後 48 至 96 小時內可產卵，產卵數約  $3 \times 10^5$  粒。
- 五 青點石斑的成熟卵為無色，透明，圓形，分離之浮性卵；卵徑 800 至 900 U M，具單一油球，油球徑 200 U M。

## 謝 辭

本試驗工作，非常感謝王村藤、羅武雄兩位先生之鼎力協助，及分所同仁慨借器材，提供意見，謹此致以最深的謝忱。

### 參考文獻

1. Chen, F.Y.M. Chow, T.M. Chao and R. Lim ( 1977 ). Artificial spawning and larval rearing of the grouper, *Epinephelus tauvina* in Singapore, Singapore J. Pri. Ind, 5 (1), 1 - 21 .
2. 曾文陽、何錫光 ( 1979 ), 香港紅斑之人工繁殖 ( 胚胎及魚花期之發育 ) 漁牧科學雜誌, 6, 9 - 20 .
3. 曾文陽、潘敬端 ( 1979 ), 紅斑 (*Epinephelus akaara* ) 和鑲點青斑 (*E. amblycephalus* ) 之雜交繁殖試驗。中國水產, 324, 19 - 24 .
4. 胡興華、林金榮 ( 1984 ), 不同飼料與投餌次數飼育澎湖石斑 *Epinephelus* SP. 魚苗, 台灣省水產試驗所澎湖分所試驗報告。
5. 林金榮、顏枝麟、胡興華 ( 1984 ), 鹽度及掩蔽物對石斑魚苗之影響, 台灣省水產試驗所澎湖分所試驗報告彙集, 4, 61 - 69 .
6. 林金榮、顏枝麟、黃丁士、劉繼源、陳其林 ( 1986 ), 鮭形石斑魚之人工繁殖 - II 仔魚培育試驗及形態變化, 台灣省水產試驗所試驗報告, 40, 219 - 240 .
7. Tan. S.M. and K.S. Tan ( 1974 ), Biology of tropical grouper *Epinephelus tauvinal*. A. Preliminary study on hermaphroditism in *E. tauvina*, Singapore J. pri, Ind 2(2), 123 - 133 .
8. Chang-PO Chen, Hwev-Lian Hsieh, Kun-Hsiung Chang ( 1980 ), Some aspects of the sex Change and Reproductive biology of the grouper *Epinephelus diacanthus* ( CUVIER ET VALENCIENSIS ), Bull, Inst, Zool. Academia Sinica 19 (1), 11-17.
9. Smith C.L. ( 1965 ). The patterns of sexuality and the classification of Serranid fishes. Amer, Mus, Nov. ( 2207 ), 1 - 20 .
10. 葉信利、羅武雄、丁譽源 ( 1986 ). 人工促進石斑魚性轉變研究, 台灣省水產試驗所試驗報告, 41 241 - 258 .
11. 黃丁士、林金榮、顏枝麟、劉繼源、陳其林 ( 1986 ), 鮭形石斑之人工繁殖 - I, 種魚的催熟、採卵及胚胎的發育, 台灣省水產試驗所試驗報告, 40, 241 - 258 .
12. 曾文陽 ( 1984 ), 石斑魚養殖學, 香港, 48 - 53 .
13. 蘇偉成、曾煥仁、顏枝麟 ( 1978 ), 石斑魚及嘉臘魚之成熟度調查與種魚培養, 台灣省水產試驗所試驗報告, 30, 523 - 529 .
14. 湯弘吉、涂嘉猷、蘇偉成 ( 1979 ), 鑲點石斑人工繁殖報告, 台灣省水產試驗所試驗報告, 31, 511 - 517 .
15. Moe, Martin A. Jr. ( 1969 ). Biology of the red grouper *Epinephelus mario* ( Valenciennes ) from the eastern Gulf of Mexico. Florida Dept. Res. Rrof. Papers 2207, 1 - 20.
16. C.M. Moore & R.F. Labisky ( 1984 ). Population Parameters in Low Florida Keys Transaction of the American Fisheries Society, 113, 322 - 329.
17. F.C. Withler and L.C. Lim ( 1982 ), Preliminary observation of chilled and Deep-Frozen storage of grouper (*Epinephelus tauvina*) Sperm, Aquaculture, 27, 389-392.
18. 清野通康 ( 1974 ), 海產魚產出卵の卵質評價, 魚類の成熟と産卵。恒星社厚生閣, 113 - 119.
19. Hussain N., Saif, Mand Ukawa, M., ( 1975 ). On the Culture of *Epinephelus tauvinal* ( FORSKAL ), Kuwait Inst. Sci. Res., State oy kuwait, 14.