

應用H.C.G誘導池中養成花跳生殖初報

陳彥斗·丁雲源

The Preliminary Report on Inducing Breeding Experiments
with Mudskipper, *Boleophthalmus pectinirostris* (L.)
by Injection of HCG

Yan-Don Chen and Yun-Yuan Ting

In order to make the propagation of mudskipper, *Boleophthalmus pectinirostris* (L.), we applied the HCG(PUBEROGEN) instead of synahorin+ carp pituitary which is very efficient to induce ovulation in mudskipper. HCG very popular and commercial in Taiwan could induce the tertiary eggs to mature in many fish so we wanted to set the foundation on it to develop mudskipper culture in the farm and supply enough amount of larvae for the husbandry. Up to now, we reserched the minimum efficient dose to induce the female mudskipper according to the character of the urogenital papillum. The more dose decreased slowly from 350 IU to 75 IU for each fish, the more efficiency of fertilization rate increased. The results revealed that the maxium fertilization rate is approximate to 60% when induced female fish by 75IU, however, it wasn't satisfied with our goal. Though 75IU could act as minimum efficient dose, we shall study more and more for finding out more low dose with the high fertilization rate and efficient economics.

前 言

由於魚類人工繁殖技術之進步，促使許多種魚苗在近幾年來皆能大量生產，尤其是海產魚類之幼苗更具有突破性，例如虱目魚苗、紅目鱸魚苗，屏東佳冬林烈堂先生已能做到商業化的生產量。

星點彈塗 (*Boleophthalmus pectinirostris* (L.)) 屬蝦蛄科 (Gobiidae)，臥齒鯊亞科 (Apocryterina)，俗名花跳，英名mudskipper或Jumpingfish，為一亞熱帶潮間區小魚⁽⁶⁾，堅忍、耐命，適於汽水性養殖。一般而言，此魚生命年限約3年，在蓄養的池塘內一年後皆可陸續自然成熟⁽⁷⁾，然而池中卻未發現其稚魚的存在，因此有待人工繁殖來探討其魚苗大量生產的可能性及其稚魚的食性及生態。

一般人繁殖花跳，皆以Synahorin加鯉魚腦下腺誘導即可得到良好的效果⁽⁸⁾。雖然如此，但Synahorin和鯉魚腦下腺在台並未如HCG普遍化，故本篇實驗乃以商業化的HCG來誘導花跳排卵，並定立一基本有效劑量，祈能使花跳達到完全養殖。由實驗結果顯示，至截稿前為止，總量75IU HCG能有有效的促使成熟的種魚排卵、受精，受精率最高可達到60%。

材料與方法

- 一、本實驗所用之種魚係 1983 年 8 月 20 日至同年 9 月 6 日間，在北門鄉魚塢內陸續之種魚，大部分魚齡為一年，採捕後，迅速以機車載回。
- 二、一般魚體重介於 20g 至 40g 間，體長則介於 14cm 至 19cm 間，蓄養桶體積為 45 公升，雌雄分開蓄養處理，蓄養海水比重調為 1.012 左右，水量以不淹滿 15° 之斜坡底，平均水溫約為 29° C。
- 三、選種時，以生殖乳突為依據，在正常無壓迫下觀察其生殖乳突的外觀，具擴大、呈血紅色，略帶反勾狀者即選為誘導之種魚，以上為一般雌魚之採選法，圖如圖 1；而雄魚則任意挑選。

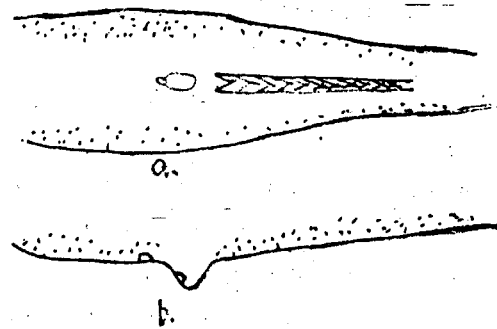


圖 1 雌魚生殖乳突的二種外觀，a 腹面圖，b 側面圖

Fig. 1 Different view of the urogenital papillum of female.

a. ventral view, b. lateral view

- 四、雄魚賀爾蒙處理時間與雌魚的第二針同，注射劑量則每尾以 20IU HCG 為準。應用時，乃解剖取出精巢，迅速研磨，加入純海水後倒入成熟卵中。
- 五、雌魚賀爾蒙處理，只應用 HCG，間隔採用 24 小時與 12 小時，劑量逐由 350IU 漸減到 75IU。
- 六、注射部位乃選擇胸鰭基部左右腋窩。

結 果

單一以 HCG (PUBEROGEN) 來誘導花跳排卵，其結果如表 1 至表 4。所有種魚在魚塢捕獲後，迅速送到實驗室，以不同之劑量來處理。

表 1 乃是以總量各為 350IU 和 150IU 為準，做一比較性之初步試驗。當 1 號至 5 號魚在注射 350IU 後即達到排卵的效果，而 8 號魚在注射 150IU 後亦達到排卵作用，但是這些卵粒吸水能力低，卵膜與卵黃未完全分離如圖 2，未採精液受精。

表 2 降低總量為 150IU 來誘導時，大部分種魚皆可被催熟，然而卵之吸水能力和受精率還是不高，平均小於 10%，效果並不理想。

表 3 分別以總量 150IU 及 100IU，75IU 三種劑量來應用，結果顯示，5 號魚至 10 號魚所排出之卵，其卵質及受精率都較表 2 高，受精率大約可達到 30%，且在 9 月 7 日順利孵化出魚苗如圖 3。

表 4 以總量 75IU 所做之重複試驗顯出，大部分的種魚皆可被催熟而排卵。實驗期間，亦解剖死亡之 7 號魚，發現其卵已進展到 Peripheral stage 如圖 4，而在所有排卵之魚中，以 5 號種魚所排出之卵最佳，大約 90% 以上的卵具很強之吸水能力，卵膜卵黃完全分離如圖 5，同時這些卵具有

表1 以350 IU和150 IU誘導花跳繁殖試驗之結果：塩度爲千分之二十，平均水溫爲29.3°C
 Table 1 The results of induced-breeding trials of mudskipper by injecting 350IU and 150IU HCG in 1983.
 Average temperature: 29.3°C
 Salinity: 20 ‰

Fish NO.	1st injection			2nd injection			3rd injection			4th injection			Stripping eggs			Remark
	Date	Dosage	Date	Date	Dosage	Date	Date	Dosage	Date	Date	Dosage	Date	Quantity	Quality		
1	Aug. 22 19:00	50IU	Aug. 23 07:00	100IU	Aug. 23 19:00	100IU	Aug. 23 07:00	100IU	Aug. 24 07:00	100IU	Aug. 25 12:00	*2cc	**low			
2	Aug. 22 19:00	50IU	Aug. 23 07:00	100IU	Aug. 23 19:00	100IU	Aug. 23 07:00	100IU	Aug. 24 07:00	100IU	Aug. 25 12:00	2cc	low			
3	Aug. 22 19:00	50IU	Aug. 23 07:00	100IU	Aug. 23 19:00	100IU	Aug. 23 07:00	100IU	Aug. 24 07:00	100IU	Aug. 25 12:00	3cc	low	no taking sperm to		
4	Aug. 22 19:00	50IU	Aug. 23 07:00	100IU	Aug. 23 19:00	100IU	Aug. 23 07:00	100IU	Aug. 24 07:00	100IU	Aug. 25 12:00	3cc	low	fertilize the eggs		
5	Aug. 22 19:00	50IU	Aug. 23 07:00	100IU	Aug. 23 19:00	100IU	Aug. 23 07:00	100IU	Aug. 24 07:00	100IU	Aug. 25 12:00	2cc	low			
6	Aug. 22 19:00	50IU	Aug. 23 07:00	100IU	Aug. 23 19:00	100IU	Aug. 23 07:00	100IU	Aug. 24 07:00	100IU	Aug. 25 12:00	-	-			
7	Aug. 22 19:00	50IU	Aug. 23 19:00	died												
8	Aug. 22 19:00	50IU	Aug. 23 19:00	100IU							Aug. 25 12:00	2cc	low			
9	Aug. 22 19:00	50IU	Aug. 23 19:00	100IU							Aug. 25 12:00	3cc	low			
10	Aug. 22 19:00	50IU	Aug. 23 19:00	died												

* each cc equal to 2000 eggs

** low: less than 30% of all eggs with the shape of Fig 9
 mean: between 30% and 60% of all eggs with the shape of Fig 9

表 2 以 150IU 誘導花跳繁殖試驗之結果，溫度為百分之二十，平均水溫為 28.6° C
 Table 2 The result of induced-breeding trials of mudkipper by injecting 150IU HCG in 1983
 Salinity: 20‰ Average temperature: 28.6° C

Fish NO.	1st injection		2nd injection		3rd injection		Stripping eggs		Remark
	Date	Dosage	Date	Dosage	Date	Dosage	Date	Quantity	
1	Aug. 28 23:00	50IU	Aug. 29 23:00	100IU	Aug. 30 23:00	2cc	Aug. 30 23:00	2cc	low
2	Aug. 28 23:00	50IU	Aug. 29 23:00	100IU	Aug. 30 23:00	2cc	Aug. 30 23:00	2cc	low
3	Aug. 28 23:00	50IU	Aug. 29 23:00	100IU	Aug. 30 23:00	3cc	Aug. 30 23:00	3cc	low
4	Aug. 28 23:00	50IU	Aug. 29 23:00	100IU	Aug. 30 23:00	3cc	Aug. 30 23:00	3cc	Average fertili- zation rate is approximate to 10%
5	Aug. 28 23:00	50IU	Aug. 29 23:00	100IU	Aug. 30 23:00	2cc	Aug. 30 23:00	2cc	low
6	Aug. 28 23:00	50IU	Aug. 29 23:00	100IU	Aug. 30 23:00	2cc	Aug. 30 23:00	2cc	low
7	Aug. 28 23:00	50IU	Aug. 29 23:00	100IU	Aug. 30 23:00	2cc	Aug. 30 23:00	2cc	low
8	Aug. 28 23:00	50IU	Aug. 29 23:00	100IU	Aug. 30 23:00	2cc	Aug. 30 23:00	2cc	low
9	Aug. 28 23:00	50IU	Aug. 29 23:00	100IU	Aug. 30 23:00	1cc	Aug. 30 23:00	1cc	low
10	Aug. 28 23:00	50IU	Aug. 29 23:00	100IU	-	-	-	-	-

* each cc equal to 2000 eggs

** low : less than 30% of all eggs with the shape of Fig 9

表3 以150IU 100IU 75IU 3種劑量誘導花鮑繁殖試驗之結果，溫度為千分之二十，平均溫度為28.5°C
 Table 3 The results of induced-breeding trials of mudskipper by injecting 150IU and 100IU, 75IU HCG respectively
 in 1983 Salinity: 20‰ Average temperature: 28.5°C

Fish NO.	1st injection		2nd injection		3rd injection		Stripping eggs		Remark	
	Date	Dosage	Date	Dosage	Date	Dosage	Date	Quantity		Quality
1	Sept. 1 21:00	50IU	Sept. 2 21:00	50IU			Sept. 3 08:00	3cc	mean	F.R. = 50%
2	Sept. 1 21:00	50IU	Sept. 2 21:00	50IU			Sept. 3 08:00	2cc	mean	F.R. = 40%
3	Sept. 1 21:00	50IU	Sept. 2 21:00	50IU			Sept. 3 08:00	3cc	mean	F.R. = 20%
4	Sept. 1 21:00	50IU	Sept. 2 21:00	50IU			Sept. 3 08:00	3cc	mean	F.R. = 20%
5	Sept. 1 21:00	50IU	Sept. 2 21:00	25IU	Sept. 2 21:00	50IU	Sept. 3 08:00	2cc	low	F.R. = 10%
6	Sept. 1 21:00	50IU	Sept. 2 21:00	25IU	Sept. 2 21:00	50IU	Sept. 3 08:00	2cc	mean	F.R. = 10%
7	Sept. 1 21:00	50IU	Sept. 2 21:00	100IU			Sept. 3 08:00	2cc	low	F.R. = 5%
8	Sept. 1 21:00	50IU	Sept. 2 21:00	100IU			Sept. 3 08:00	3cc	low	F.R. = 8%
9	Sept. 1 21:00	50IU	Sept. 2 21:00	100IU			Sept. 3 08:00	2cc	low	F.R. = 3%
10	Sept. 1 21:00	50IU	Sept. 2 21:00	died			-	-	-	-

F.R. : fertilization rate.

* each cc equal to 2000 eggs

** low : less than 30% of all eggs with the shape of Fig 9
 mean : between 30% and 60% of all eggs with the shape of Fig 9

表 4 以 75IU 誘導花跳繁殖試驗之結果，虛度為千分之二十，平均水溫為 29.1°C
 Table 4 The results of induced-breeding trials mudskipper by injecting 75IU HCG in 1983
 Salinity: 20‰ Average temperature: 29.1°C

Fish NO.	1st injection		2nd injection		Stripping Quality		Remark
	Date	Dosage	Date	Dosage	Quantity	Quality	
1	Spet. 6 18:00	25IU	Spet. 7 18:00	50IU	-	-	-
2	Spet. 6 18:00	25IU	Spet. 7 18:00	50IU	*3cc	**mean	F.R. = 30%
3	Spet. 6 18:00	25IU	Spet. 7 18:00	50IU	2.5cc	mean	F.R. = 25%
4	Spet. 6 18:00	25IU	Spet. 7 18:00	50IU	1cc	**low	-
5	Spet. 6 18:00	25IU	Spet. 7 18:00	50IU	3cc	**high	F.R. = 60%
6	Spet. 6 18:00	25IU	Spet. 7 18:00	50IU	3cc	mean	F.R. = 40%
7	Spet. 6 18:00	25IU	Spet. 7 18:00	died	-	-	-
8	Spet. 6 18:00	25IU	Spet. 7 18:00	50IU	1cc	low	-
9	Spet. 6 18:00	25IU 25IU	Spet. 7 18:00	50IU	2cc	mean	F.R. = 30%
10	Spet. 6 18:00	25IU	Spet. 7 18:00	50IU	2cc	low	-

F.R. : fertilization rate

* each cc equal to 2000 eggs

** low : less than 30% of all eggs with the shape of Fig 9

mean : between 30% and 60% of all eggs with the shape of Fig 9

high : more than 60% of all eggs with the shape of Fig 9

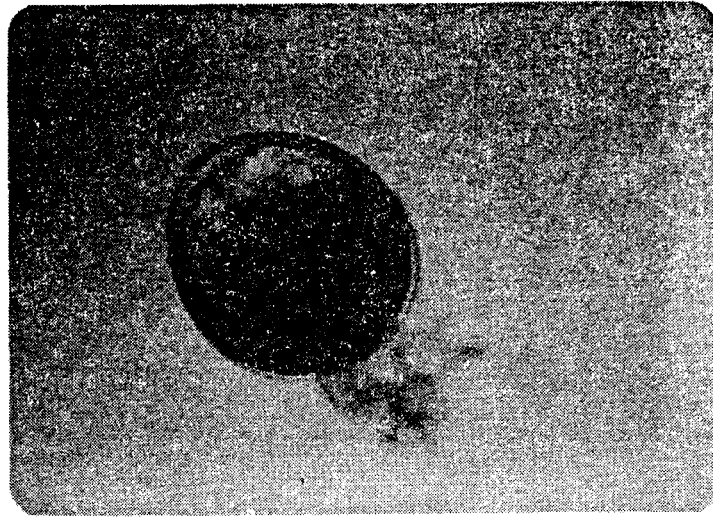


圖 2 剛採出之花跳成熟卵但未完全吸水

Fig. 2 The stripped egg of mudskipper before full hydration



圖 3 剛孵化出之花跳第一天魚苗

Fig. 3 The hatched larva of mudskipper

60%以上的受精率。

白露節（農曆8月2日）過後，誘導效果不佳，更不能以較低劑量催熟。

討 論

一般而論，腦下腺製劑加上 Synahorin 皆能產生良好的誘導效果⁽⁴⁾⁽⁷⁾。包含那些未完全發育到三級的卵黃球者。但當卵已完成三級卵黃的發育後如圖6，即呈一臨界點，隨時有被激發完成排卵之可能。在此時則可參照 Kuoetd 之報告⁽¹⁾，先應用 HCG 誘導成爲 Subperipheral stage eggs，如圖7或更進一步的 Germinal Vesicle migration 如圖8，然後再以便宜之 DOCA 追加注射，

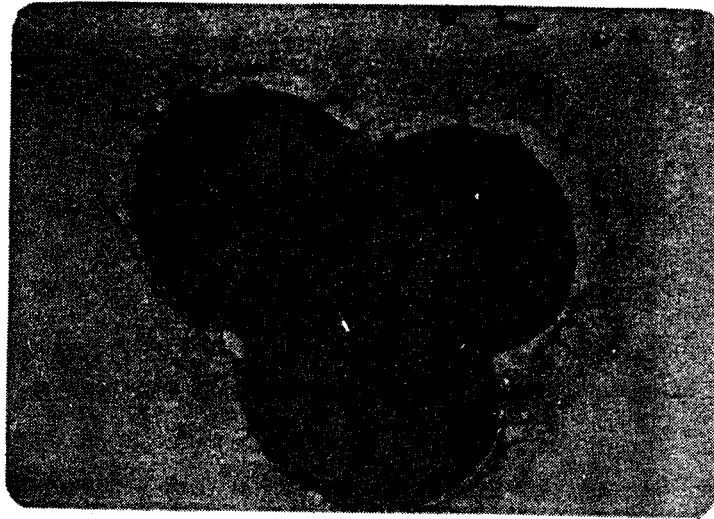


圖 4 經 Serra-fluid 處理後之細胞核遷移至周圍期之花跳卵
 Fig. 4 The eggs of mudskipper in germinal vesicle peripheral stage after being treated by Serra-fluid

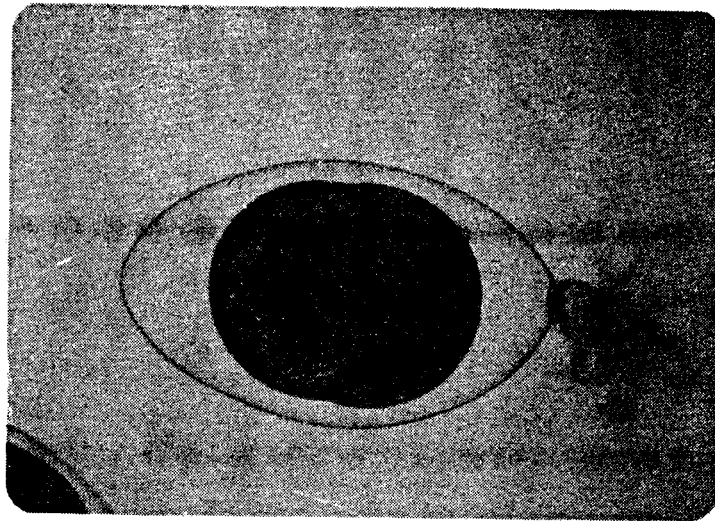


圖 5 在受精前之成熟花跳卵
 Fig. 5 The mature egg before fertilization

促使其排卵。在本實驗裏，還是以 HCG 來追加注射 Germina Vesicle migration 期之魚。此乃是要以 HCG 做一基礎研究，其因 HCG 為一種 L-H like 賀爾蒙，具有促進排卵之作用，便宜易獲致，劑量一致，說明容易，所以容易建立基本資料。在表 1 中催熟效果不佳，可歸納以下 4 個原因：(一)過夜處理，一般野外捕獲之種魚，如無良好的蓄養設施，生殖腺易迅速退化。如虱目魚⁽²⁾。(二)注射不當，注射用水過多或注射部位發炎，種魚過度驚嚇等所產生之壓迫造成排卵效果不佳。(三)個體間卵的成熟度差異很大，不能以抽卵檢查。(四)劑量過多，強迫性的排卵，卵質當然不好，故綜合表 1 之結果，得知實驗皆需降低劑量，儘快處理種魚。

表 2 中雖然雄魚已事先用 20IU/尾誘導，然而精子的活性並非良好，加上卵質亦不佳，所以受精

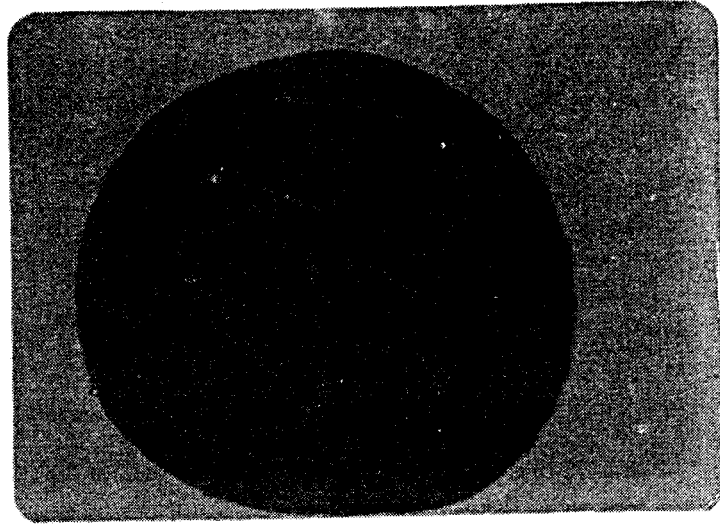


圖 6 三級卵黃球之外觀
Fig. 6 Tertiary egg of mudskipper

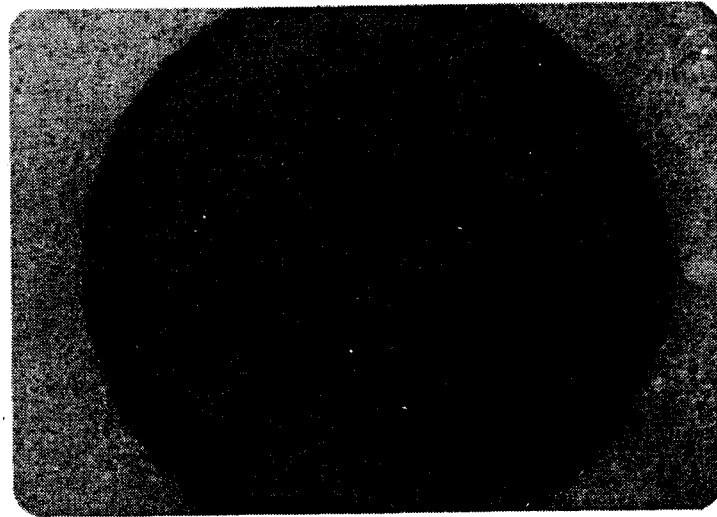


圖 7 卵發育至 subperipheral germinal vesical 期的雌花跳魚卵
Fig. 7 The egg of mudskipper in the subperipheral germinal vesicle stage

率不高。此乃可能是 150IU 劑量還是高了一點。卵質雖有改進，但是還必須再降量。表 3 中分別以總量各為 150IU, 100IU, 75IU 三種來使用，結果前表 1、表 2 效果較佳，此可能顯示，適當的催熟劑量已可降低到 100IU 或 75IU。在應用這些較低劑量時，時間間隔剛好與劑量配合，如此可讓卵完成最後的成熟階段而得到較佳的卵質。

表 4 中，5 號種魚所排出之卵 90% 以上具有強吸水力，受精率亦提高到 60% 如圖 9，同時魚卵亦順利孵化出魚苗，此更印證 75IU 應可促使較良好的排卵作用，提高了受精率，應用上較經濟有效。然而適當的採卵時間，亦影響到卵質的好壞，何時採卵，又無一定的標準，此又隨著同體的差異

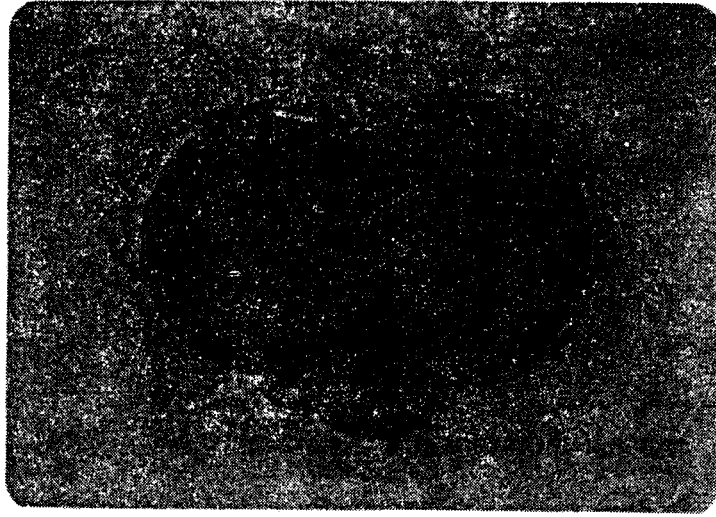


圖 8 經 serra-fluid 處理後，細胞核已成為核遷期之花跳卵
 Fig. 8 The egg of mudskipper in germinal vesicle migration stage after being treated by Serra-fluid

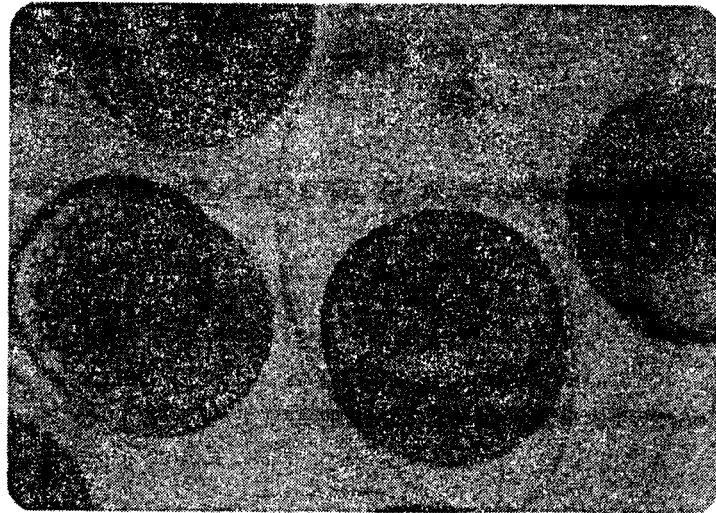


圖 9 未分裂前之花跳受精卵
 Fig. 9 The fertilized egg of mudskipper before cleave

而有所不同。欲尋求較適當的採卵時間，本篇曾以卵之採樣，生殖乳突的外觀做經驗性的判斷，尤其是生殖乳突的大小及顫動頻率，然而由於受精率之不穩，再加上雄魚之精液活性不佳，故較難以下定論。

綜合表 2、表 3 及表 4 可發現，花跳種魚經第 1 針注射 25IU 後 24 小時，卵大部分皆以發育到核遷期，第 2 針追加 50IU 後 16 小時可排卵。能否以更低的藥量來誘導得到更好的結果，尚待明年度繼續探討。

摘 要

一花跳種魚以總量 350IU 及 150IU HCG 誘導其效果不佳，卵質不好，乃太高劑量迫使不正常排卵。
 二過夜處理，注射不當皆能影響誘導效果。迅速處理能降低人為的 stress，提高藥效。
 三本篇最好的效果乃是應用總量 75IU 來誘導，第 1 針注射 25IU，間隔 24 小時，再注射 50IU，於第 1 針後 48 小時採卵，可得到較高之受精率，約 60%。
 四種魚在接受第 1 針注射後 24 小時內，卵發育至核遷期，追加第 2 針促使其排卵如圖 10，排 卵時間約在第 1 針後 40 小時左右。

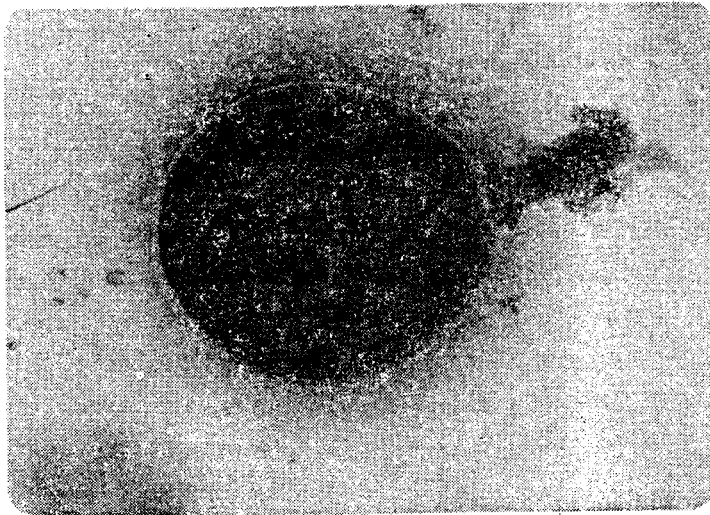


圖 10 剛排至於腹腔之花跳卵

Fig. 10 The ovalated egg of mudskipper in vivo

五白露節（9月8日）過後，卵巢呈現不穩定狀態，影響實驗甚大，不太適合從事實驗。

謝 辭

本篇報告能在短時間內完成，首先得感謝林獻策老師之鼎力相助，同仁李榮涼、周賢鏞及江章等多位之協助，實習生李隆智、劉淑玲之幫助，更感謝郭欽明博士之指點，在此一併致謝。

參考文獻

- 1 C. M. Kuo (1982). Induced Breeding of Grey Mullet, *Mugil cephalus* (L). *Proceeding of the International Symposium on Reproductive Physiology of Fish. Wageningen, the Netherlands 2-6 Aug. 1982* opp : 181 - 184.
- 2 C. M. Kuo, C. E. Nash and W. O. atanabe (1979). Induced Breeding Experiments with Milkfish *Chanos chanos forskal*, in HAWAII. *Aquaculture*, **18**, 95 - 105.
- 3 C. M. Kuo, C. E. Nash and Z. H. Shehaden. (1973). Induced Spawning of Captive Females *Mugil cephalus* (L) by Injection of HCG. *Aquaculture*, **1**, 429 - 432.
- 4 T. J. Lam (1982). Applications of Endocrinology to Fish Culture. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.*, **39**, 111 - 137.
- 5 廖一久、趙乃賢、曾雷強、郭上卿 (1973). 星點彈塗魚的人工繁殖 - I 卵發生及其初期稚魚。農復

5. 會漁業系集, 15, 29 - 42.
6. 謝蕙蓮、陳章波、張崑雄 (1976). 大彈塗魚卵的發生, 台灣水產協會會報, 15, 16 - 22.
7. 原孝怡、林獻策 (1974). 星點彈塗在台南縣之養殖及人工繁殖。省立台南師專學報, 7, 1-10.
8. 林獻策、黃文博 (1982). 星點彈塗—奇怪之魚。台南縣北門鄉永華國小—生物科學報導, 1-10.