

中國蠶之室內自然產卵及培育

黃丁士* 陳其欽 蔡萬生

行政院農業委員會水產試驗所澎湖海洋生物研究中心

摘 要

蠶有「活化石」之稱，在演化研究、醫學應用及潮間帶生態指標上，都具有相當重要的意義。一、二十年前曾廣泛分布於台灣西部沿海，但近年來由於潮間帶嚴重的污染與破壞，使得蠶有滅絕之虞，急需進行復育與保護的工作。本試驗成功的蓄養中國蠶 (*Tachypleus tridentatus*) 在人為環境下自然產卵，產卵期從 2007 年 6 月 6 日至 9 月 10 日止，7 月為產卵高峰期，約佔總產卵量的 50% 以上，產卵水溫在 26.2 ~ 31.2 °C 間。2007 年共收集蠶卵 74,504 粒，利用自行研發的受精卵循環水孵化系統，順利的孵化出 18,460 隻一齡稚蠶，其中有 624 尾一齡稚蠶脫殼成為二齡蠶，更有 43 隻二齡蠶成功脫殼成為三齡蠶，孵化後第 231 天亦有 2 隻三齡蠶順利脫殼成為四齡蠶，並且活存下來，此為目前國內相關研究紀錄中首見。

關鍵字：中國蠶、自然產卵、孵化、澎湖

前 言

中國蠶 (*Tachypleus tridentatus*) 之英文名為 horseshoe crab，故又稱為「馬蹄蟹」，屬節肢動物門 (Arthropoda)、肢口綱 (Merostomata)、劍尾目 (Xiphosurida)、蠶科 (Limuroidea)、東方蠶屬 (*Tachypleus*)，為海中底棲性無脊椎動物。其祖先在四億年前古生代泥盆紀時即已出現，二億年前演化為現今的型態，因此亦有「海中活化石」之稱 (顧, 1980; Rudle and Rudle, 1981; Fisher, 1984; Avise *et al.*, 1994; Kannan *et al.*, 1995)。中國蠶為大型蠶，分布於日本南方沿海及中國長江以南沿海，包括浙江寧波、福建、廣東、廣西、臺灣、香港及海南島沿岸。

近年來科學家發現，將革蘭氏陰性菌注入蠶體後，細菌的內毒素會激發蠶血液中的一種酵素，使可溶性蛋白凝固。此一反應極為靈敏，只要每毫升中含有 1 微克的內毒素，即可使蠶血細

胞溶解物產生凝血反應，因此以藍色的蠶血製成的蠶試劑來測定內毒素，包括淋病和腦膜炎等，具有快速、簡單等優點 (顧, 1980; Rudle and Rudle, 1981; Botton and Ropes, 1987)。蠶試劑目前廣泛應用於藥檢、臨床、環保、食品衛生等領域，美國已有 800 多種藥品以其來檢測安全性，合格後方能出廠。所以蠶的相關生物技術的研發，未來具有極大的發展空間。

近年來由於棲息地遭到嚴重破壞，中國蠶有滅絕之虞，急需進行復育。國內外已有多位學者從事蠶的人工繁殖相關研究，但大都採用殺蠶取精、取卵，再經由人工授精取得受精卵的模式 (廖等, 1997; 李等, 1999; 梁等, 2000; 洪等, 2002; 程等, 2000)。而 Chen *et al.* (2004) 報告中首度於 1998 年在金門地區曾在實驗室中及野外沙灘圍籬環境下，促使其自然產卵。

本報告為本中心執行澎湖蠶之種原採集及蓄養計畫之一部分，探討其於人為環境下之自然產卵，研究受精卵發育及孵化情形、幼生餌料及培育方法等，祈建立人工繁殖技術，以期未來生技產業能順利發展及蠶資源之能永續利用。

*通訊作者 / 澎湖縣馬公市崙裡里 266 號, TEL: (06) 995-3416 轉 233; FAX: (06) 9953-058; E-mail: mj0816@ms36.hinet.net

材料與方法

一、種鸞

成鸞為棲息於澎湖海域及內灣，因漁民使用底刺網採捕螃蟹時偶獲之大型野生鸞，或在 4~9 月產卵期，鸞在澎湖各地砂灘上岸產卵時被漁民拾獲。透過漁民收購 1.5 kg 以上之雌鸞及 0.9 kg 以上之雄鸞。

二、鸞之蓄養前處理

鸞收購後先蓄養於預備槽，先使用淡水沖刷鸞身上之寄生蟲及污泥，並使用 30 ppm 福馬林浸泡 30 分鐘，以去除身上之各種寄生蟲後再移入蓄養桶。每 2 天投餵 1 次下雜魚、烏賊肉、白鯧及少量蝦仁等飼料。每天量測水溫、pH 及溶氧做為水質監測之基礎資料，每月量測各種形質做為成長之基礎資料。

三、產卵池之設計

種鸞產卵池為室內 9 ton FRP 桶，大小為 3 m × 3 m × 1.2 m 之方形桶，蓄養狀況良好之 9 尾雌及 9 尾雄共 18 尾種鸞。為維持優良水質及池底乾淨，池子設計採用二重底，進水管及空氣管置於最底層，其上鋪有孔之柵板，柵板上再鋪 32 目紗網，紗網上鋪設粗砂作為生物濾床及產卵床用。

四、種鸞自然產卵

每日測定水溫、比重、溶氧及 pH 等水質一次，每週投餵三次，每月成長測定及健康檢查一次。在 4~9 月產卵期時，每日早上停止打氣檢視是否產卵，若有產卵則利用砂層底層之打氣管及注水管將埋於砂層中的受精卵沖出砂層，再利用虹吸原理將受精卵吸出後，利用量筒之平均體積法來估算每日之產卵數。

五、受精卵孵化

將受精卵移置在鋪有砂層之方盒，再移入自行研發設計之鸞循環水孵化系統中孵化。並記錄孵化水溫、時間、日期及數量。

六、孵化幼生之培育及觀察

將孵化後之一齡鸞移入鋪有泥砂層之幼鸞培育桶，一齡鸞不投餵，二齡鸞開始投餵豐年蝦、橈足類、人工飼料及碎魚蝦肉等餌料，並定期採樣置於立體顯微鏡下，觀察其幼生變化及脫殼變態情形，另以數位相機拍攝記錄之。

結果與討論

一、種鸞形質分析

2007 年 3 月 31 日至 10 月 29 日止，向漁民收購之種鸞共 34 尾 (Fig. 1)，雄鸞 14 尾佔全體 41.18%，體重分佈在 950 ~ 1,735 g，平均體重為 $1,452.14 \pm 230.20$ g (平均值 ± 標準偏差)，平均頭胸甲寬為 151 ± 9 mm；雌鸞 20 尾佔全體 58.82%，體重介於 1,825 ~ 4,170 g，平均體重 $3,089.75 \pm 603.06$ g，平均頭胸甲寬為 191 ± 32 mm；雌鸞較雄鸞體重大一倍，本年度收購體重大於 1,800 g 皆為雌鸞，雌雄性比為 1.43，收購時雌雄配對者共有 14 尾 (41.18%)，而單獨一尾被捕獲者共有 20 尾 (58.82%)，通常鸞都以雌雄配對出現而被捕，但 2007 年收購雌鸞多於雄鸞，且單獨一尾多於配對，可能是樣本數太少，尚需經較長時間之統計分析，才能確定。

二、自然產卵情形

本試驗所蓄養的鸞發現產卵的日期為 2007 年 6 月 6 日至 9 月 10 日結束，共 97 天，而 2006 年自然產卵在 4 月 26 日至 8 月 24 日結束共 83 天，本試驗推測澎湖地區天然野生鸞產卵季節為 4 月下旬到 9 月上旬。余及陳 (1987) 指出，分布於中國沿海的中國鸞，於每年 11 月由淺海游向深海越冬；廈門地區每年 4 月下旬至 8 月下旬均有鸞產卵，與本試驗在澎湖地區產卵季節 4 月下旬至 9 月上旬及金門地區則從 6~9 月相符。在生殖季節新月或滿月的大漲潮時，成對的成鸞會爬至潮間帶高潮線附近砂灘掘砂產卵，行體外受精。由於高潮線底質顆粒較大，所以在此產卵不但氧氣充足，通風良好，又能充分受陽光照射，受精卵在天然孵化場順利孵化的機會也相對提高 (蔡等, 1984; 顧, 1980; Penn and Brockmann, 1994)。廖等 (2000)

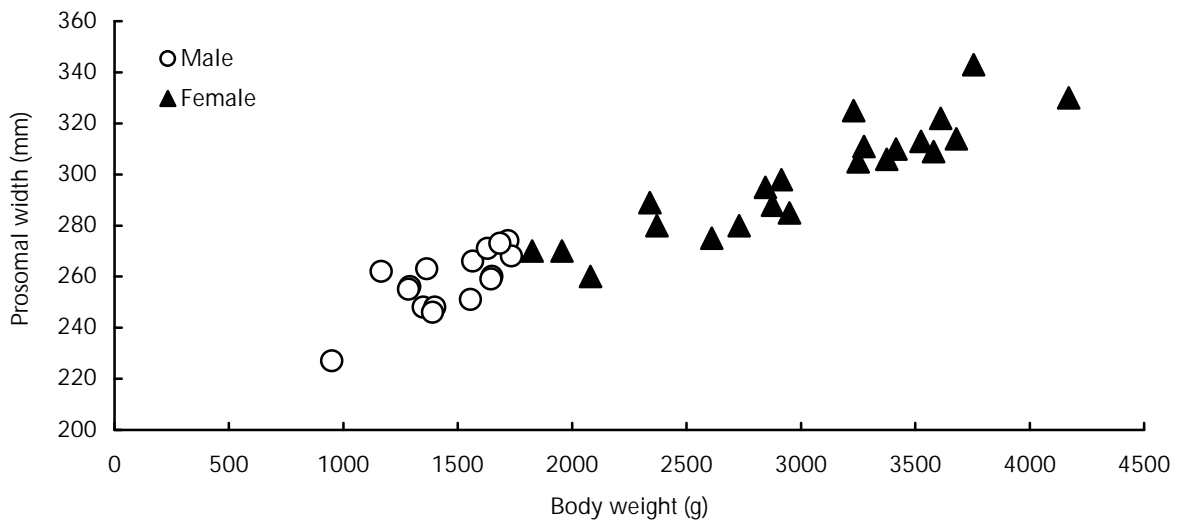


Fig. 1 Relationship between body weight and maximum width of prosomatic carapace of the horseshoe crab *Tachypleus tridentatus* collected from Penghu area in 2007.

指出，中國蟹的性腺具有明顯的周年變化特性，冬季的中國蟹的卵細胞呈未成熟狀，1~4月為中國蟹卵細胞成熟期，5~10月為產卵繁殖期，11月至翌年1月為卵細胞退化期及次年卵發育期，此與本試驗澎湖地區中國蟹產卵季節相符。

本中心於2006年自行研發蟹產卵槽，係採用二重底設計，進水管及空氣管置於最底層，第二層鋪設粗砂作為生物濾床及產卵床用，此設施成功蓄養野生成蟹在室內人工環境下自然產卵並受精。陳與葉(2004)指出，1998年金門縣水產試驗所養殖課長林志國先生發現，只要配合每個月的大漲時間，在成蟹的飼育桶放入裝有珊瑚砂的淺盆，蟹就會在珊瑚砂上產卵。將產卵後之受精卵置於實驗室內，溫度調整在28~31的水族箱，可順利孵化並長到二齡，不過只有少數幾隻稚蟹能成長至三齡，後來因搬動造成三齡蟹死亡，還沒有將稚蟹在人為環境中飼養到更大。Chen *et. al* (2004)曾在實驗室進行3次成蟹的誘引產卵(於9月4日首次誘發產卵，第二次在9月18日誘發產卵，生殖行為歷時約5小時，產卵約10,000粒；第三次於10月22日再次誘引產卵，約產800粒，歷時2個小時)，同時記錄產卵行為，其生殖時雌蟹係以頭胸部步足掘砂，並由生殖屨下的生殖孔排卵，同時不停擺動書鰓，雄蟹也同時排精，並劇烈擺動書鰓，促進精卵結合。雌蟹產完一窩卵後會將砂覆蓋於受精卵上，而後會在另一地點重

覆產卵。Chen *et. al.* (2004)曾指出潮汐及砂底質為誘引成蟹產卵二個因素，當大潮時於實驗室成對的成蟹會由無砂底質處遷移至有砂底質處，好像遵循它們的生理時鐘，基於這個現象，可成功誘引成蟹產卵。Chen *et. al.* (2004)曾在2001年10月4日在金門蟹天然產卵場利用圍籬方式，在高潮前3小時將11對成蟹放入圍籬內在沙灘也成功誘引產卵，成蟹產卵時用腳挖掘沙會產生氣泡，可利用來標識成蟹產卵處，藉此來收集受精卵。

本試驗使用9 tons產卵槽，共蓄養18尾雌雄各半之成蟹，外觀形質及重量如Table 1，平均蓄養密度為2隻/m²。自2007年6月6日開始產卵至9月10日結束止，計97天，有產卵日數共40日(Fig. 2)；總產卵數為74,504粒，平均每日產卵768粒，如扣除不產卵日，則平均每日為1,863粒，產卵期之水溫在26.2~31.2間。產卵數月別變化如Fig. 3，6月份產卵數16,944粒(佔全體23%)，7月份產卵數40,215粒(53%)，8月份產卵數15,125粒(20%)，9月份產卵數2,745粒(4%)。其中以7月份產卵數最多，約佔全部之半以上；7月20~27日為產卵高峰期，共產出27,297粒卵(36.64%)，佔1/3以上。蟹在人工環境下自然產卵大部份集中在6~8月三個月間(超過90%)。本年度以7月20日(農曆6月7日)為產卵數最多的一天，共產出6,933粒卵，其餘依次為7月25日(農曆6月12日)6,053粒，7月24日(農曆6月11

Table 1 Data of collected horseshoe crab bloodstocks

No.	Sex	Length of prosomatic carapace (mm)	Width of prosomatic carapace (mm)	Length of opisthodomatic carapace (mm)	Width of opisthodomatic carapace (mm)	Length of telson (mm)	BW (g)
1	♀	205	309	141	197	380	3,580
2	♂	152	260	123	158	224	1,650
3	♀	183	285	133	177	236	2,950
4	♂	134	227	100	129	153	950
5	♂	159	259	123	160	220	1,645
6	♂	141	248	116	145	267	1,350
7	♀	198	322	146	195	282	3,610
8	♂	158	274	124	161	213	1,720
9	♀	216	343	154	184	243	3,755
10	♀	185	280	143	176	320	2,730
11	♀	221	325	143	198	351	3,230
12	♂	154	256	118	152	270	1,290
13	♂	149	248	117	146	285	1,400
14	♀	207	311	140	187	296	3,275
15	♀	228	330	164	207	328	4,170
16	♂	155	246	114	144	258	1,390
17	♂	160	266	118	156	347	1,565
18	♀	213	310	138	193	233	3,415

日) 5,335 粒, 8 月 13 日 (農曆 7 月 1 日) 3,955 粒, 6 月 18 日 (農曆 6 月 4 日) 3,518 粒, 7 月 2 日 (農曆 5 月 18 日) 3,400 粒及 8 月 22 日 (農曆 7 月 10 日) 3,367 粒, 產卵數每日超過 3,000 粒者共有 7 日。在有產卵日中, 產出最少卵數為 8 月 20 日, 只產出 247 粒。總計 2007 年總產卵數為 74,504 粒卵, 平均每尾雌蟹產出 8,278 粒卵。

三、受精卵孵化及幼生培育觀察

將受精卵移置在舖有砂層之方盒, 再移入自行研發設計之蟹循環水孵化系統中孵化。蟹的受精卵屬於中黃卵, 內含大量的乳白色卵黃, 為沈性卵, 呈淡黃綠色圓球狀, 富有彈性, 外被一層厚厚卵殼膜所包覆, 平均卵徑為 3.11 ± 1.12 mm。邱等 (2002) 利用掃描電子顯微鏡觀察中國蟹胚胎被膜中指出, 中國蟹的胚胎上主要有三層被膜各為卵殼膜、內卵膜及胚護膜三層。卵殼膜被覆

於成熟的卵子和第 19 期 (S19) 之前的胚胎表面, 厚度約 80 μ m, 是中國蟹卵子和早期胚胎的最主要保護結構; 內卵膜在晚期囊胚和原腸期形成, 至胚胎發育完成時蛻去, 厚度約 18.03 μ m; 胚護膜 (embryonic cuticle) 在體節發育時 (S11 ~ S12) 開始形成, 在 S19 時完全形成, 直接被覆胚胎表面, 胚護膜的厚度約 2.5 μ m; 內卵膜和在 S19 時才完全形成的胚護膜, 是晚期胚胎的主要保護性結構。受精卵需經卵內四次脫殼始蛻變為「一齡蟹」。透明卵月別變化如 Fig. 3, 6 月份共有 5,115 粒 (佔全體 23%), 7 月份增加至 11,690 粒 (佔 53%), 8 月份共有 3,789 粒 (佔 17%), 而 9 月份共有 685 粒 (佔 3%), 10 月份微升至 954 粒 (佔 4%)。2007 年共獲得 21,279 粒透明卵, 集中在 6 ~ 8 月之三個月中, 佔全部 90% 以上。Sekighchi *et al.* (1973, 1988) 將胚胎發育分為 19 期 (S19), 簡稱透明卵 (transparency eggs), 即為脫去卵殼外膜而內卵膜呈半透明卵之階段 (卵內胚體第三次脫殼)

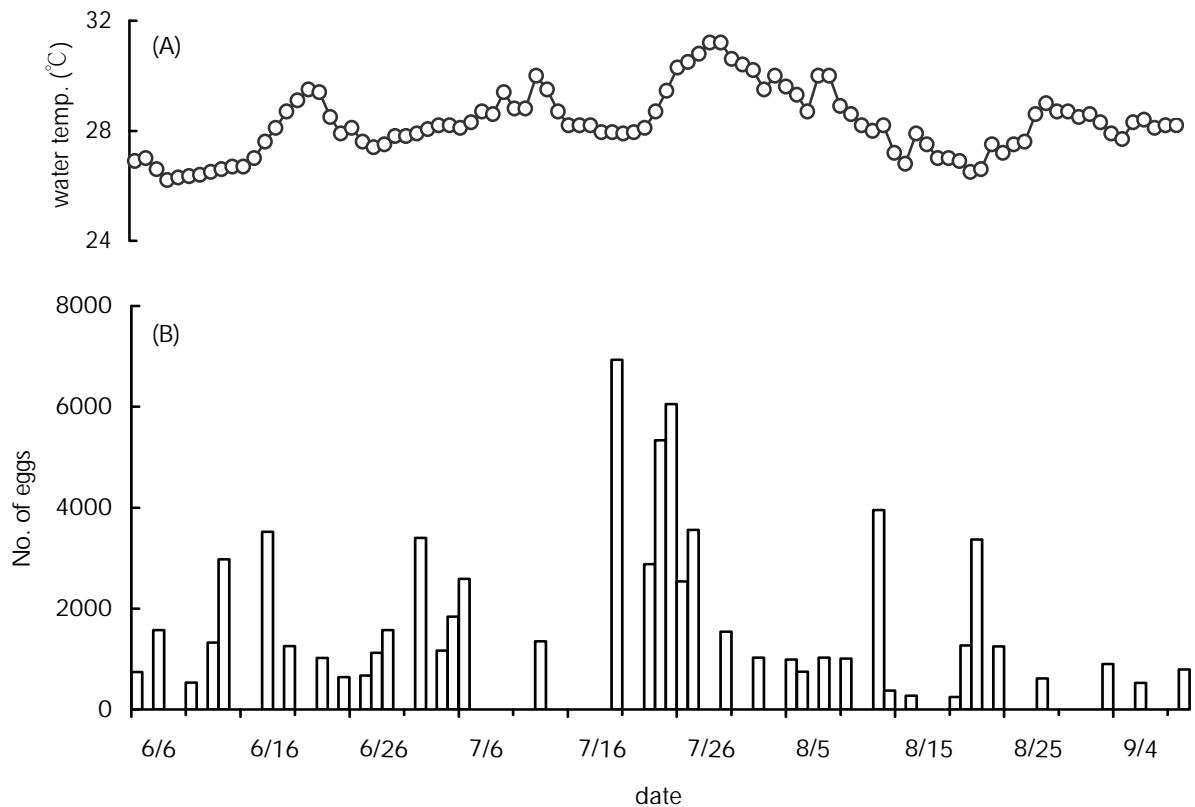


Fig. 2 (A) Water temperature and (B) number of eggs spawned during spawning period in 2007.

稱之。受精卵經 23 ~ 35 天會吸水膨脹，卵內胚體第三次蛻皮後，卵內膜進一步吸水膨脹，直徑增至 6.5 mm，將卵殼膜外膜脫去，內卵膜成半透明狀，可用肉眼觀察到仔蠶在內膜中發育狀況，胚體已具三葉幼體的雛形，愈接近孵化時間，則愈呈透明狀。後期可看見仔蠶在透明內膜中旋轉游動（卵內胚體第四次脫殼），最後孵化破卵膜而出，此稱為「一齡蠶」。由於蠶卵孵化需很長時間，一般約 45 ~ 70 天左右，而蠶生殖季節又在高水溫期，故其卵浸泡在水中孵化極易滋生水黴菌，而被菌絲感染到之受精卵很快就會死亡。因此研發採用埋入砂中，離水保濕方式，此經證實能成功孵化出稚蠶，並可避免水黴感染其他受精卵，進而提高其孵化率。孵化仔蠶數其月別變化如 Fig. 3，7 月份孵出 229 尾（佔 1%），8 月份孵出 4,263 尾（佔 23%），9 月份孵出 8,441 尾（佔 46%），10 月份孵出 5,457 尾（佔 30%），其中以 9 月份最多，10 月份次之。綜觀自然產卵之仔蠶大部份在 9 月及 10 月份時孵化。2007 年自然產卵數總計為

74,504 粒卵（含受精卵及未受精卵），其中有 21,279 粒發育成透明卵（佔總卵數 28.56%），並進一步共孵出 18,460 隻一齡稚蠶（孵化率為總產卵數之 24.56%，而從透明卵階段成功孵化出仔蠶數比例則提高為 86.75%）。洪等（2002）利用人工授精取得受精卵孵化仔蠶，取得約 10,000 粒受精卵，並以受精後 2 ~ 3 天內是否出現卵裂現象做為受精與否的依據，計算受精率約為 70 ~ 80%，但最終只孵化出 40 隻仔蠶，孵化率僅為 0.4%；報告中又指出，對照組未受精卵幾乎 70% 也有「卵裂」現象，從雌蠶體內取出的未受精卵用海水洗淨，與受精卵同等條件孵化，未受精卵經過 1 ~ 2 天內出現與受精卵相同的卵裂，甚至發育到囊胚期，而後停滯發育，直到受精卵孵化出仔蠶，只有 12% 的停止發育的未受精卵變綠死亡。這一現象說明中國蠶其卵子的激活不一定需要精子的參與，海水可以解除卵子自身抑制，進入卵裂，而這與許多甲殼類動物其卵子激活相似（吳等，2000）。這一現象也對許多學者將受精後幾天內進入卵裂與否作為

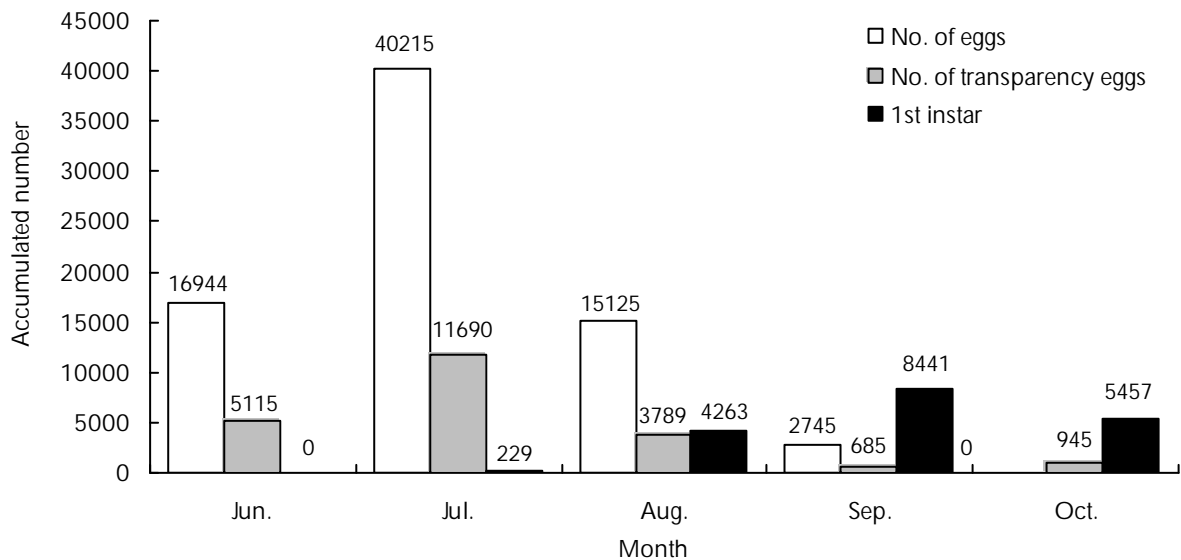


Fig. 3 Number of spawned eggs, transparency eggs and 1st instar of horseshoe crab from June to October, 2007.

受精與否的標識，來計算受精率的方法提出很大的質疑。

鬻靠脫殼來使個體成長，每脫一次殼稱為一「齡」(instar)。剛孵化的稚鬻稱為一齡鬻，一齡鬻頭胸甲寬平均為 6.07 ± 0.15 mm，身體扁平，外殼透明淡黃白色，附有細長的纖毛，體分為頭胸部和腹部，最大特徵為沒有尾節，由於外形似三葉蟲，因此又稱「三葉幼生」(trilobites larvae)，頭胸部有六對附肢，都呈雌性特徵，即第一、第二對附肢為鉗狀，頭胸甲前端為鈍圓，口在頭胸甲中央，位於附肢基部內側，腹部由 8 個體節癒合而成，側緣呈鋸齒狀。一齡鬻會以背部朝下的姿勢在水中游泳(背泳)(吳等, 1989)，在夜晚的大潮時會爬到砂表層，藉由海浪的沖刷由高潮線向潮間帶移動(Rudloe, 1979)。剛孵化的一齡鬻以卵黃囊物質維生，直到脫殼為二齡鬻以後才開始進食(Kathleen, 1979; Penn and Brockmann, 1994)。本試驗在室內水溫 $26.2 \sim 31.2$ °C，孵化 46 天後脫殼成為「二齡鬻」，2007 年至 12 月底已有 624 隻脫殼成為二齡鬻。二齡鬻頭胸甲寬平均為 8.73 ± 0.46 mm，最大特徵為長出尾節，尾節平均長度為 3.33 ± 0.91 mm，與成鬻的外形相似。本試驗二齡鬻培育過程中投餵豐年蝦幼生、橈足類、人工微粒飼料及碎魚蝦肉，孵化後第 114 天開始有部份的二齡鬻脫殼成為「三齡鬻」，本年度共有 43 隻脫殼

成為三齡鬻。三齡鬻頭胸寬平均為 11.12 ± 0.76 mm，尾節更長，尾節平均長度為 7.15 ± 0.86 mm。孵化後第 231 天(2008 年 01 月 23 日)發現有 2 隻脫殼成為「四齡鬻」(Fig.4)，其餘也陸續脫殼成長中。四齡鬻頭胸寬平均為 13.63 ± 0.21 mm，尾節更長，尾節平均長度為 9.30 ± 0.19 mm，平均體重 0.17 ± 0.015 g，與雌鬻的外形相似，此為目前鬻人工育苗相關研究中最快變態之記錄。



Fig. 4 Laboratory culture of 1st - 4th instar of horseshoe crab in 2007.

2006 年首度利用野生鬻 (9 ♀ 9 ♂) 成功蓄養成鬻在人工環境下自然產卵，並且受精也順利孵化出仔鬻，與 2007 年自然產卵相關資料比較 (Table 2)，2006 年總計生產出 185,077 粒卵 (平均

Table 2 Compare natural spawning data of horseshoe crab under artificial stock between 2006 and 2007

	2006	2007
Spawner (ind.)	9 ♀ × 9 ♂	9 ♀ × 9 ♂
B.W. of female (g)	3,507 ± 78	3,089 ± 603
B.W. of male (g)	1,232 ± 178	1,452 ± 230
Spawning period	6/1 ~ 8/24	6/6 ~ 9/10
Duration day	83	97
Spawning days	44	40
Water temp. (°C)	26.1 ~ 30.5	26.2 ~ 31.2
Total eggs	185,077	74,504
Eggs / day	2,230	768
Eggs / female	20,564	8,278
Maximum eggs (date)	22,000 (6/12)	6,933 (7/20)
Minimum eggs (date)	125 (6/28)	247 (8/20)
1st instar (ind.)	12,278	18,460
Hatching rate (%)	6.63	24.78
2nd instar (ind.)	250	624
3rd instar (ind.)	15	43
4th instar (ind.)	0	2

每尾產出 20,564 粒卵) 比 2007 年產出之 74,504 粒卵 (平均每尾產出 8,278 粒卵) 多出一倍多。2006 年孵化出 12,278 尾一齡蟹, 其孵化率為 6.63%, 而 2007 年孵化出 18,460 尾一齡蟹, 其孵化率提高為 24.78%, 此比 2006 年多出 3 倍多, 究其原因為 2006 年初期受精卵係採用在水中孵化之方式, 致發生水黴菌感染大量死亡, 而 2007 年則研議採用離水保濕方式, 所以大大提高一齡蟹之孵化率。2007 年仔蟹培育試驗中脫殼成為二齡蟹 624 尾及三齡蟹 43 尾比 2006 年之 250 尾二齡蟹及 15 尾三齡蟹較佳。自然環境中, 蟹在幼年時生長較快, 每次脫殼體長約增加 1.3 ~ 1.4 倍 (Sekighchi, 1988; Meury and Gibson, 1990)。Chen *et al.* (2004) 報告中指出, 一齡蟹經 110 天脫殼成二齡蟹, 二齡蟹開始投餵豐年蝦幼生, 將實驗室培育與野外採集稚蟹資料整理後; 一齡蟹平均頭胸甲寬為 5.8 mm 有二對書鰓, 二齡蟹平均頭胸甲寬為 8.7 mm 有三對書鰓, 三齡蟹平均頭胸甲寬為 11.8 mm 有四對書鰓, 四齡蟹平均頭胸甲寬為 15.3 mm 有五對書鰓, 五齡蟹平均頭胸甲寬為 21.2 mm 有五對書鰓,

六齡蟹平均頭胸甲寬為 30.0 mm 有五對書鰓。而 Sekighchi *et al.* (1988) 則指出, 一齡蟹在第一年不會脫殼, 第二年則脫殼 3 次, 第三年脫殼 2 次, 之後每年脫殼一次, 雄蟹脫殼 15 或 16 次, 至 13 年後達性成熟; 而雌蟹則需脫殼 16 次或 17 次, 至第 14 年始達性成熟。

本試驗無論在蟹受精卵孵化或稚蟹培育上均採用 26.1 ~ 31.2 °C 的室溫中進行, 稚蟹培育的模式採二重底方式, 上層舖有從沙灘採集野生仔蟹生活之砂泥混合之底質, 供仔蟹棲息躲藏, 下層為注水管採少量流水方式進行。一齡蟹不投餌, 至二齡蟹開始投餌。又根據仔蟹夜間出來覓食之行為, 每日利用夜間投餵豐年蝦幼生及成蟲、橈足類、人工飼料及碎魚蝦肉等混合餌料並添加橈足類投餵, 因在自然界水域中, 橈足類為大海中最常見之浮游生物, 為各種幼生最適的餌料生物, 次日將未攝食之殘餌移除, 避免影響水質。葉 (1999) 在實驗中指出澎湖一齡蟹脫殼後的存活天數以 28 天的 62 天最長, 34 天的 49 天次之, 25 天的 20 天最短。在 25 天中, 二齡蟹存

活的時間，最長只有 33 天，最短的僅有 5 天，有一齡蠶齡期越長，二齡蠶存活天數就越短的情形。葉 (1999) 指出一齡蠶脫殼為二齡蠶的死亡率非常高，並以澎湖二齡蠶在 34、28 及 25 培育中，二齡蠶的死亡率分別為 100%、75% 及 84.62%，未有任何二齡蠶脫殼成為三齡蠶，但有少數死亡的二齡蠶有脫殼失敗的現象，約於一齡蠶脫殼為二齡蠶 60 天後，頭胸甲前緣已裂開，可看到另一層殼。葉 (1999) 在試驗中又指出受精卵的孵化及一齡蠶的脫殼的情形顯示，無論在稚蠶齡期、體長、存活天數、積溫效應等方面，以 28 ~ 31 是飼養稚蠶最適合溫度。吳等 (1989) 也指出，人工繁殖試驗期間，水溫以 25 ~ 30 較為適宜，葉 (1999) 試驗中金門地區 6 ~ 9 月成蠶生殖季節的月均溫為 27.4 ± 1.1 ，因為受精卵是在潮間帶高潮線自然環境中孵化，稚蠶也棲息於潮間帶。因此本試驗澎湖地區 6 ~ 9 月成蠶生殖季節的平均水溫為 28.28 ± 1.16 ，推測澎湖地區為飼養仔稚蠶適合的地方之一。

討 論

一隻蠶從出生至成年約需要 13 ~ 15 年間，研究發現一隻蠶被抽掉 1/3 ~ 1/2 的血仍能存活下來。因此本中心從事蠶初步繁殖試驗，短期的來說，係希望探討其於人為環境下之產卵機制，採卵成功後繼續研究其孵化及幼生培育技術，以期確立人工繁殖方法。根據國內外相關研究資料顯示 (黃等, 2002; 黃等, 2003a, b; 陳等, 2003; 陳與葉, 2004; Chen *et al.*, 2004)，人工育苗及海區放流是保護珍貴的蠶資源和恢復蠶族群量的一種有效可行的措施。澎湖地區現為中國蠶尚存的地區之一，加上天候水溫皆適合蠶的人工培育，如何運用先進的養殖技術，利用人工繁殖仔蠶，在人為環境中保護培育其脆弱的初期幼生，讓其有足夠的防禦力及適應天然環境的能力後，再放流於適合的海域，增加蠶的天然資源。而長期的目的，則是希望蓄養足夠經濟規模之成蠶，並對蠶輪流採血，一方面可研發蠶試劑，另一方面如何讓採血後的蠶活存下來，使蠶的利用能生生不息，而成為另一值得開發及發展的水產養殖生技產業。

參考文獻

- 余友茂, 陳祥才(1987) 蠶. 中國名貴珍稀水生動物, 浙江科學技術出版社, 18-20.
- 李鋒, 廖永岩 (1999) 鹽度對中國蠶 (*Tachypleus tridentatus*) 胚胎發育的影響 [1]. 湛江海洋大學, 19(3): 4-8.
- 吳長功, 相建海, 劉端玉 (2000) 鷹爪蝦卵子激活及卵裂的研究. 動物學報, 46(1): 64-70.
- 吳翔欽, 梁平, 劉玉良, 吳傳洪 (1989) 蠶人工授精試驗的初步觀察. 動物學雜誌, 24: 39-40.
- 邱嶸, 洪水根, 汪德耀 (2002) 中國蠶胚胎被膜的掃描電鏡研究. 廈門大學學報, 39(2): 222-226.
- 洪水根, 李祺福, 陳美華, 黃大川 (2002) 中國蠶胚胎發育研究. 廈門大學學報, 41(2): 239-246.
- 陳章波, 葉欣宜 (2004) 金門蠶保育實錄. 金門歷史、文化與生態國際學術研討會, 58 pp.
- 陳章波, 陳昭倫, 楊明哲 (2003) 蠶的保護與族群恢復之研究. 福建環境, 20(4): 32-34.
- 黃勤, 林能鋒, 陳英祿 (2003a) 平潭中國蠶種群減的原因分析. 福建環境, 20(1): 7-8.
- 黃勤, 林能鋒, 陳英祿 (2003b) 平潭中國蠶保護區規劃建議. 福建環境, 20(4): 35-38.
- 黃勤, 游華, 賴曉暄 (2002) 建立平潭中國蠶保護區刻不容緩. 福建環境, 6(19): 14-16.
- 梁軍榮, 王軍, 蘇永全, 王德祥, 金成干 (2000) 中國蠶胚胎發育過程主要生化成分分析. 中國水產科學, 7(2): 113-115.
- 葉欣宜(1999) 金門地區中國蠶 (*Tachypleus tridentatus*) 的生活史、稚蠶棲地特徵與保育策略之探討. 國立臺灣大學漁業科學研究所 碩士論文, 153 pp.
- 葉欣宜, 邱琬淑, 林志國, 陳章波 (1998) 金門地區中國蠶 (*Tachypleus tridentatus*) 的生活史、稚蠶棲地特徵與保育策略之探討. 台灣省水產學會86年論文發表會摘要, 153.
- 葉欣宜, 邱琬淑, 林志國, 陳章波 (1999) 金門地區中國蠶 (*Tachypleus tridentatus*) 卵發育與稚蠶脫殼的最適溫度研究. 中國生物學會88年論文發表會, 15.
- 程鵬, 周愛娜, 霍淑芳, 黃秀梅, 劉潤中, 盧小寧, 翁忠釵, 許華曦, 洪水根 (2000) 中國蠶人工培育的幼體對不同環境適應性的研究. 廈門大學學報, 45(3): 404-408.
- 廖永岩, 洪水根 (1997) 中國蠶 (*Tachypleus tridentatus*) 人工授精育苗的初步研究 [1]. 湛江海洋大學, 2: 23-26.
- 廖永岩, 李曉梅, 朱麗敏, 丁燭, 王梅芳 (2000) 中國蠶在冬季的發現及觀察. 海洋科學, 24(1): 55-56.
- 蔡心一, 林瓊武, 黃建裕 (1984) 中國蠶的生殖習性和早期胚胎發育. 海洋學報, 6: 663-671.
- 顧功超 (1980) 蠶和蠶的飼養. 海洋科學, 1: 8-10.

- Avise, J. C., W. S. Neloson and H. Sugita (1994) A speciation history of "living fossils": molecular evolutionary patterns in horseshoe crabs. *Evolution*, 48: 1986-2001.
- Botton, M. L. and J. W. Ropes. (1987) The horseshoe crab, *Limulus polyphemus*, fishery and resource in the United States. *Mar. Fish. Rev.*, 43(3): 57-61.
- Chen, C. P., H. Y. Yeh and P. L. Lin (2004) Conservation of horseshoe crab at Kinmen, Taiwan: strategies and practices. *Biodivers. Conserve.*, 14: 647-665.
- Fisher, D. C. (1984) The Xiphosurida: Archetypes of Bradytely? *Living Fossils* (N. Eldredge, M. Stanley and M. S. Verlag eds.), 196-213.
- Kannan, K. Y., H. Iwata, H. Ichihashi, S. Tanabe and R. Tatsukawa (1995) Concentration of Heavy Metals, Organochlorines, and Organotins in Horseshoe crab, *Tachypleus tridentatus*, from Japanese coastal waters. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.*, 28: 40-47.
- Kathleen, A. F. (1979) Laboratory culture of embryonic and juvenile limulus. *Progress Clinical and Biological Research*, Vol. 29: Biomedical Application of the Horseshoe crab (Limulidae), 61-71.
- Meury, T. W. and D. G. Gilbson III (1990) Force generation in juvenile *Limulus polyphemus*: effects on mobility in the intertidal environment. *Bull. Mar. Sci.*, 47: 536-545.
- Penn, D. and H. J. Brockmann (1994) Nest-site selection in the horseshoe crab, *Limulus polyphemus*. *Biol. Bull.*, 187: 373-384.
- Rudloe, A. (1979) Locomotor and Responses of larvae of the horseshoe crab, *Limulus polyphemus* (L.). *Biol. Bull.* 157 : 494-505.
- Rudloe, A. (1981) Aspects of the biology of juvenile horseshoe crab, *Limulus polyphemus* (L.). *Bull. Mar. Sci.*, 31: 125-133.
- Sekiguchi, K. (1973) A normal plate of the development of the Japanese horseshoe crabs, *Tachypleus tridentatus*. *Sci. Rep. Tokyo Kyoiku Daigaku, Sect., B*: 15-229, 153-162.
- Sekiguchi, K. and H. Sugita (1980) Systematics and hybridization in the four living species of horseshoe crabs. *Evolution*, 34: 712-718.
- Sekiguchi, K. (1988) *Biology of Horseshoe Crabs*. Science House Co., Ltd. Tokyo, 428 pp.

Natural Spawning and Larval Rearing of Horseshoe Crab (*Tachypleus tridentatus*)

Ting-Shih Huang^{*}, Chi-Chin Chen and Wann-Sheng Tsai
Penghu Marine Biology Research Center, Fisheries Research Institute

ABSTRACT

The horseshoe crab (*Tachypleus tridentatus*) is known as a living fossil. It plays a very important role in evolution and medical research. The horseshoe crab once distributed widely along the west coast of Taiwan island decades ago. It was almost eliminated from the coast as a result of environmental pollution and degradation. Currently, *Tachypleus tridentatus* can only be found in Kimmen and Penghu islands. *Tachypleus tridentatus* in both islands are still facing threat to its survival. The objectives of this study were to induce wild horseshoe crabs natural spawning under a designed system. Spawning occurred from June 6 to September 10 2007, and spawning peak period was July (53%). Water temperature ranged between 26.2 and 31.2 °C. There were 74,504 horseshoe crab's eggs collected. Eggs were then moved to the circulating water system for hatching-out. There were 18,460 1st instar larva and 624 larva molted into 2nd instar stage. Only 43 individuals were successfully molted into 3rd instar larva. After 231 days of hatching-out, it still had two that successfully molted into 4th instar larva.

Key words: *Tachypleus tridentatus*, natural spawning, hatching out, Penghu

*Correspondence: 266 Village Shieh-Li, Makong, Penghu 880, Taiwan. TEL: (06) 995-3416 ext. 233; FAX: (06) 995-3058; E-mail: mj0816@ms36.hinet.net