

## 牙鯧的誘導產卵及幼苗發育

陳玉萍\* · 陳鏗元 · 劉恩良 · 何源興

行政院農業委員會水產試驗所東部海洋生物研究中心

### 摘要

本研究利用溫差刺激順利誘導牙鯧 (*Paralichthys olivaceus*) 種魚於人工飼養環境下自行產卵，其受精率為 81.2%。受精卵為圓形透明之浮性卵，平均卵徑為  $0.94 \pm 0.01$  mm，油球徑為  $0.16 \pm 0.01$  mm。在水溫  $22 \pm 1^\circ\text{C}$  下受精卵約 32 小時孵化，剛孵化之魚苗平均全長為  $2.12 \pm 0.03$  mm。第 3 日齡仔魚平均全長為  $3.47 \pm 0.76$  mm，開始投餵輪蟲，並添加微藻以穩定水質及滋養輪蟲。第 6 日齡平均全長為  $4.58 \pm 0.18$  mm，此時可混投豐年蝦，豐年蝦需經營營養強化。第 18 日齡平均全長為  $5.82 \pm 0.21$  mm，頭部冠狀幼鰭開始生長，持續投餵營養強化之豐年蝦。第 24 日齡平均全長為  $8.38 \pm 0.11$  mm，此時游泳姿勢傾斜，眼睛相對位置開始改變。第 38 日齡平均全長為  $13.88 \pm 1.26$  mm，眼睛位於同一側完成變態階段，開始進入底棲生活。將海水鹽度設定在 5 - 40 psu 之間，在不同鹽度下，各實驗組受精卵之孵化率有顯著差異 ( $p < 0.05$ )，以鹽度 30 psu 組的孵化率  $77.8 \pm 1.4\%$  較佳。仔魚在孵化後 72 hr，20 及 30 psu 實驗組有較佳活存率，分別為 72% 與 75%。

關鍵詞：牙鯧、誘導產卵、胚胎發育、育苗、鹽度

### 前言

牙鯧 (*Paralichthys olivaceus*) 在分類上為鰈形目牙鯧科牙鯧屬，又名扁魚、皇帝魚、半邊魚、比目魚。主要棲息近海底層，喜沙質、泥沙或是岩礁底質，具有潛沙習性，棲息深度為 10 - 200 m (陳與劉, 2008)。主要分布於西太平洋區，包括韓國、日本、臺灣至南中國海。臺灣的西南、北部及澎湖海域皆可發現其蹤跡 (何等, 2015)。屬於冷溫性底棲魚類，其適溫範圍為  $2 - 27^\circ\text{C}$ ，最適生長水溫為  $15 - 25^\circ\text{C}$ ，水溫低於  $10^\circ\text{C}$  以下不太攝食 (康與趙, 2001)；水溫達  $28^\circ\text{C}$  且持續時間較長時，則會出現大量死亡現象 (王等, 2004)。牙鯧體呈卵圓形；兩眼均在左側，兩眼間具骨脊，上眼稍較下眼稍前，上眼前方微凸；口大，上頷延伸至下眼後緣，上頷下方有一突起，上下頷齒大而呈犬齒狀；背鰭起點在上眼前緣上方；胸鰭短於頭長，中部具分枝；

尾鰭呈楔形；體暗灰褐色，有許多環紋及小暗點 (臺灣魚類資料庫, 2017)。

亞洲國家如中國、韓國及日本等早期即開始投入牙鯧繁養殖相關研究，中國於 1960 年開始在人工育苗和增殖放流方面取得較大的進展 (木等, 1997)；日本則於 1970 年就開始大量培育牙鯧種苗、養殖和放流 (黃, 1997)；韓國於 1980 年開始進行比目魚類繁養殖研發及種苗生產，其中又以牙鯧為主要養殖物種 (陳與劉, 2008)。目前臺灣市面上所販售之鰈形目魚類，包括比目魚、鰈魚、鰻魚及其他扁魚類，經漁業年報統計顯示主要以生鮮、冷藏或是冷凍方式由中國、格陵蘭、加拿大等國家進口，近幾年進口量達 6,000 mt 以上，進口值高達 10.5 億新臺幣。有鑑於國人對鰈形目魚類接受程度高，如果國內能建立鰈形目魚類繁養殖及量產技術，便可減少甚或停止對進口魚源之仰賴。

天然海域中魚類的繁殖受到外在環境中季節變化、水文條件、光照週期等因素所影響 (清水, 2006)。在人工培育的環境下，在繁殖季節時可利用人工催熟 (注射性腺激素等) 方式或是藉由改

\*通訊作者 / 臺東縣臺東市知本路 2 段 291 巷 299 號，  
TEL: (089) 514362 轉 208; FAX: (089) 514366; E-mail:  
ypchen@mail.tfrin.gov.tw

變外在環境如溫差、光照、鹽度及水流等刺激來達成繁殖之目的，例如大菱魷 (*Scophthalmus maximus*) 就是利用溫度刺激成功誘導產卵 (Nissling *et al.*, 2006)。本研究利用溫度控制自行培育的種魚，誘導其自然產卵，並觀察胚胎發育及仔稚魚培育等期能建立牙魷之人工繁殖技術。

## 材料與方法

### 一、種魚培育與產卵

種苗 (平均體重  $2.16 \pm 0.05$  g, 平均體長  $6.30 \pm 0.14$  cm) 於 2014 年由韓國進口並於東部海洋生物研究中心知本種原庫進行培育。種苗飼育於 12 mt 圓形 FRP 水槽，每日上午及下午投餵比目魚浮性飼料 (粗蛋白質不低於 50%；粗脂肪不低於 8%) 各 1 次，投餵至牙魷飽食並沉於池底不再上游至水面攝食為止。飼育時採流水方式，水深為 50 – 60 cm，水溫維持在 22 – 24°C，鹽度範圍為 33 – 35 psu，養殖槽上方屋頂設有玻璃採光罩，平日以蘭花網遮蓋池面約 60% 面積。培育時需定期清理池底，以去除底部污物，維持池底乾淨。

經三年培育後，雌魚體重為  $3,186 \pm 164.4$  g，體長為  $57.3 \pm 1.5$  cm；雄魚體重約  $1,491 \pm 67.6$  g，體長為  $46.8 \pm 1.9$  cm (Fig. 1)。種魚於 2016 年 12 月開始調降水溫進行飼育，每週調降 2 – 3°C，直至 13°C。種魚於 13°C 水溫中培育 2 個月後，發現雌魚腹部膨脹，伏於底部鮮少游動，其生殖孔呈現紅色；雄魚外觀則無明顯變化。調降水溫的過程中，持續投餵人工配合飼料，且飼料中額外添加營養物質如卵磷脂、膽固醇、Vitamin E 與 Vitamin C 等。



Fig. 1 Three-year-old broodstock of *Paralichthys olivaceus*.

### 二、受精卵與胚胎發育

牙魷產卵期間每日晚間於培育槽之維生系統出水口架設 80 網目之浮游生物網收集受精卵。將受精卵先放入 32 網目中去除雜質後，通過網目之卵粒利用水瓢帶動水流產生漩渦，再讓水體靜置 15 分鐘後其死卵會沉於底部，受精卵會上浮至中上層，將受精卵與未受精卵分別收集秤重以了解種魚產卵量與受精率。另外，取出一對雌雄種魚，輕壓腹部擠出卵子與精子，將卵放入海水中並加入精液使其受精，之後利用海水清洗受精卵 2 – 3 次，最後利用浮游生物網收集受精卵並放入 5 L 燒杯中進行胚胎發育之觀測。觀測受精卵時，利用吸管吸取受精卵至凹槽玻片中，利用光學顯微鏡 (OLYMPUS, BX - 41) 觀察，量測 30 粒受精卵之卵徑與油球徑，並記錄受精卵胚胎發育過程直至完全孵化。

### 三、仔魚形態變化與形質測量

將約 50,000 粒受精卵放入 500 L FRP 培育槽中孵化，採微量打氣，鹽度為 26 – 32 psu，並利用溫控系統將水溫控制於  $22 \pm 1^\circ\text{C}$  使其受精卵孵化，剛孵化之仔魚會浮於水域中上層，而未孵化或是死卵會沉於底部則需加以去除，可利用底部開關排出或是利用虹吸方式小心吸取。仔魚孵化後 60 hr (3 天) 內開始以輪蟲 (*Brachionus plicatilis*) 作為仔魚之初期餌料，每天需補充輪蟲，其投餵密度為 10 – 12 隻/ml；培育至第 5 天開始混合投餵豐年蝦，使用豐年蝦投餵前先用滋養液 (DC Super Selco, IVEN) 進行營養強化，投餵密度為 2 – 5 隻/ml；培育第 18 天混合投餵橈足類作為仔魚餌料；第 27 天後開始兼投人工仔魚飼料。培育期間每日換水 1/3 並添加擬球藻 (*Nannochloropsis oculata*) 以穩定水質，待仔魚完全變態沉於底部後即不再添加藻水，開始少量流水養殖。試驗期間每日由培育水槽中隨機撈取仔魚 6 尾，以生物解剖顯微鏡 (OLYMPUS, SZX10) 觀測仔稚魚外觀型態變化，並搭配數位影像量測分析軟體 (DP2 - BSW, OLYMPUS) 量測仔稚魚全長 (total length, TL)、標準體長 (standard length, SL)、頭長 (head length, HL)、吻長 (snout

**Table 1** Embryonic development of *Paralichthys olivaceus* at  $22 \pm 1^\circ\text{C}$ 

Time after fertilization (h:min)	Developmental stage
00:00	
01:00	2-cell stage
01:25	4-cell stage
01:45	8-cell stage
02:00	16-cell stage
02:20	32-cell stage
02:35	64-cell stage
04:40	Morula stage
10:40	Blastula stage
12:00	Gastrula stage
16:00	Optic vesicles appeared
20:30	Optic lens and tail formed, tail freed from yolk sac
27:00	Heart-beat began and heart rate was about 60 – 66 time/min
32:00	Hatching, $2.12 \pm 0.03$ mm in total length

length, SnL)、眼徑 (eye diameter, ED)、體高 (body depth at pectoral-fin, BDP) 等各部位形質。量測後將仔稚魚保存於 75% 酒精中，以利進行後續研究。將保存於 75% 酒精之仔稚魚取出放置於玻片上，使用 O.C.T. Compound (Tissue-Tek®, SAKURA) 加以固定，以生物解剖顯微鏡觀察仔稚魚眼睛相對位置變化情形並記錄。

#### 四、鹽度對受精卵胚胎發育之影響

取 2 細胞分裂時期之受精卵，使用塑膠吸管隨機取 50 粒受精卵分別放置於鹽度 5、10、20、30 及 40 psu 之 1 L 燒杯中，每組採三重複，孵化水溫為  $22 \pm 1^\circ\text{C}$ ，各處理組皆不予打氣，記錄其受精卵孵化率與孵化後 24、48 以及 72 hr 之仔魚存活率。

#### 五、統計分析

本實驗以標準差 (S.D.) 來表示誤差值。使用單因子變異數檢定 (Oneway ANOVA) 來進行統計分析，並以 Scheffe 法做事後比較各處理組差異之顯著性 ( $p < 0.05$ )。

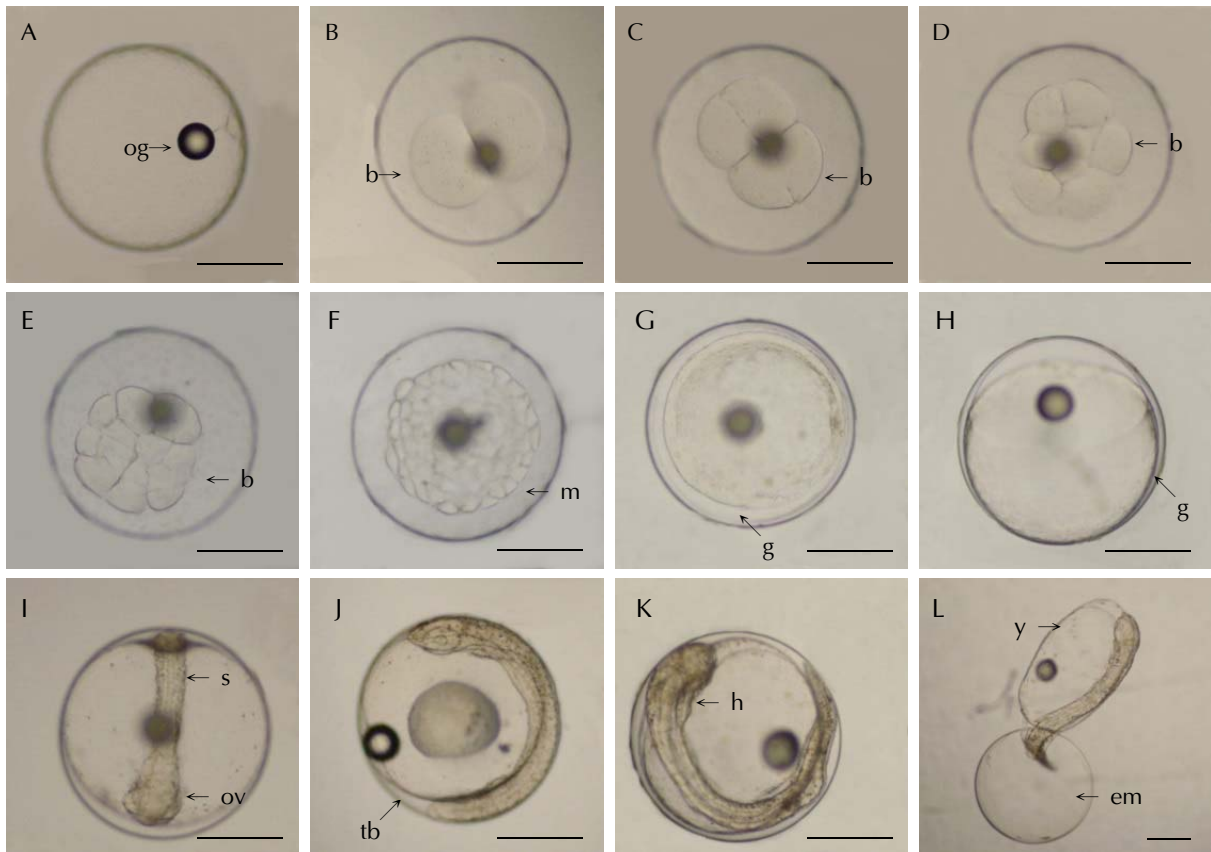
## 結 果

### 一、溫度誘導自行產卵

此批試驗種魚共計 12 尾，雌魚 3 尾，雄魚 9 尾。觀察雌魚腹部開始膨脹後，種魚池提高水溫至  $18^\circ\text{C}$  約 24 hr，可在維生循環系統出水口所架設之 80 網目上收集到受精卵。本試驗觀察到牙鯢會於夜間產卵，卵會浮於水面中上層，並藉由維生系統集中於出水口處。3 尾雌魚連續生產共計為 10 天，收集受精卵約 307 g 及未受精卵 71 g，平均受精率為 81.2%。

### 二、胚胎發育

受精卵為分離、圓球形之浮性透明卵 (Fig. 2A)，受精卵平均卵徑為  $0.94 \pm 0.01$  mm，具單一油球，平均油球徑為  $0.16 \pm 0.01$  mm。受精卵之胚胎發育過程如 Table 1 及 Fig. 2 所示，在水溫  $22 \pm 1^\circ\text{C}$  及鹽度 35 psu 下，受精後 1 hr 為 2 細胞期 (Fig. 2B)；1 hr 20 min 為 4 細胞期 (Fig. 2C)；1 hr 45 min 為 8 細胞期 (Fig. 2D)；2 hr 為 16 細胞期 (Fig. 2E)；4 hr 40 min 為桑實期 (Morula stage)；



**Fig. 2** Embryonic development of *Paralichthys olivaceus* at  $22 \pm 1^\circ\text{C}$ . A: Fertilized egg; B: 2-cell stage; C: 4-cell stage; D: 8-cell stage; E: 16-cell stage; F: Morula stage (m); G: Gastrula stage (g); H: Blastopore shut, and embryo formed; I: Optic vesicles appeared (ov); J: Tail-bud appeared; K: Embryo movement; L: Newly hatched larva; b: blastomeres; em: egg membrane; h: heart; og: oil globule; s: somites; tb: tail-bud; y: yolk. Bar = 0.5 mm.

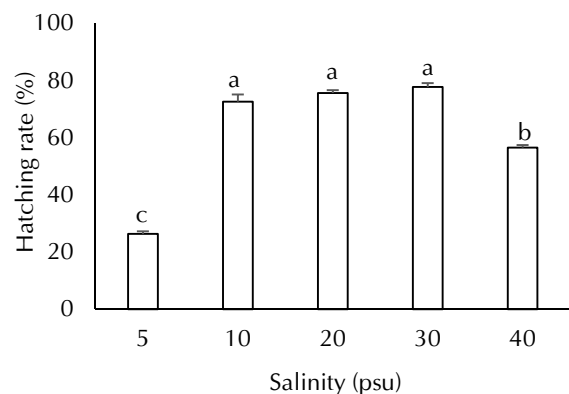
Fig. 2F)；12 hr 為原腸胚期 (Gastrula stage； Fig. 2G)；12 hr 30 min 為胚體形成，胚囊覆蓋卵黃三分之二 (Fig. 2H)；16 hr 為眼胞形成 (Fig. 2I)；20 hr 30 min 為頭部及尾芽逐漸形成 (Fig. 2J)；27 hr 為後尾部已形成且卵黃囊與胚體分離，開始出現扭動 (Fig. 2K)；32 hr 後仔魚脫離卵膜孵化 (Fig. 2L)。

### 三、鹽度對孵化及仔魚活存之影響

將發育至 2 - 8 細胞期之受精卵移至不同鹽度下觀察其孵化率，其結果如 Fig. 3 所示。不同鹽度對胚胎孵化率有顯著差異 ( $p < 0.05$ )，其中以 10, 20 及 30 psu 處理組有較佳的孵化率 (10 psu : 72.7%；20 psu : 75.7%；30 psu : 77.8%)，而 5 psu 與 40 psu 組之孵化率則分別為 26.4% 與 56.5% (與 10, 20 及 30 psu 三個處理組達到顯著差異)。

Figure 4 為不同鹽度下牙鰾仔魚孵化後 24 -

72 hr 活存率變化。5, 10 與 40 psu 處理組活存率在 24 hr 後低於 50%，其中 5 與 40 psu 處理組在 48 hr 後的活存率則降為 0%。反觀 20 與 30 psu 處理組在 72 hr 後的仔魚活存率分別為 72 與 75%。



**Fig. 3** The hatching rates of *Paralichthys olivaceus* in different salinities. Data with different letters represent significant differences among treatments at the same time point ( $p < 0.05$ ).

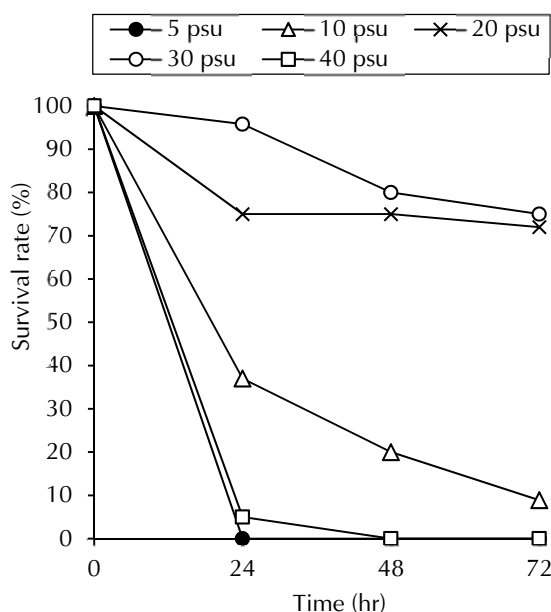


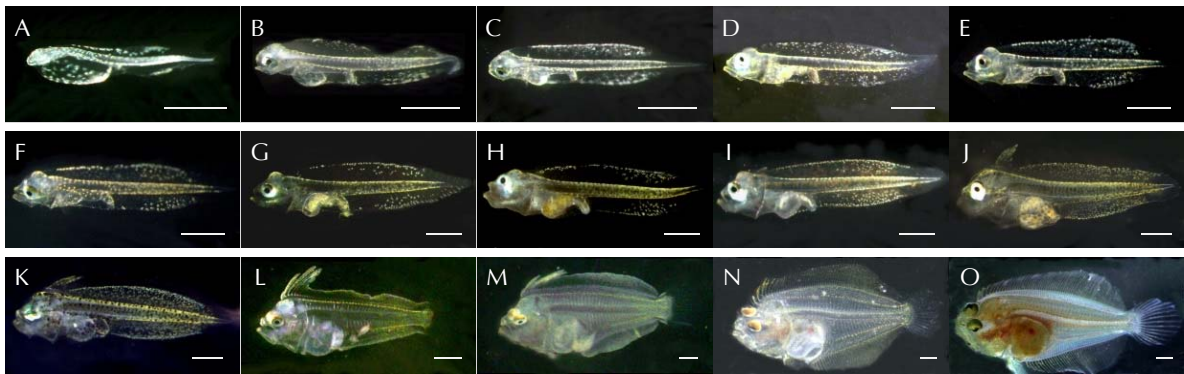
Fig. 4 Survival rates of *Paralichthys olivaceus* larvae at different salinities over 72 hr.

#### 四、仔魚形態與形質變化

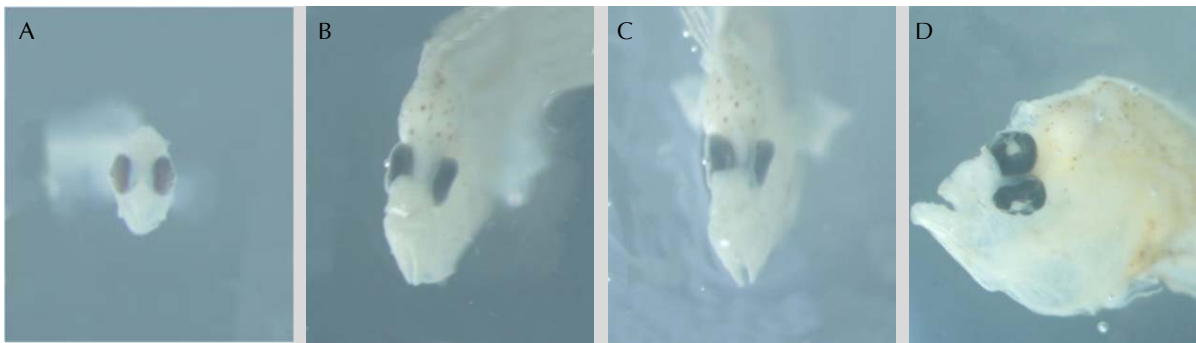
牙鯧仔魚形態變化如 Fig. 5 及 Fig. 6 所示。剛孵化的仔魚平均全長為  $2.12 \pm 0.03$  mm (Fig. 5A), 仔魚體呈現透明狀, 量測腹部卵黃囊長徑為 0.91 mm, 油球徑為 0.16 mm, 此時仔魚具有卵黃囊因而懸浮於中上水層, 培養池中添加擬球藻以穩定水質; 孵化後第 2 日 (Fig. 5B), 仔魚平均全長為  $3.39 \pm 0.33$  mm, 部分仔魚已開口但卵黃囊尚未消失因此未開口攝食, 卵黃囊長徑約為 0.53 mm, 鰭部呈透明, 眼睛色素逐漸形成; 孵化後第 3 日 (Fig. 5C), 仔魚平均全長為  $3.47 \pm 0.76$  mm, 尚有卵黃囊, 卵黃囊長徑為 0.31 mm, 大部分仔魚已開口, 但尚未攝食; 孵化後第 4 日 (Fig. 5D, 6A), 仔魚平均全長為  $4.33 \pm 0.34$  mm, 此時卵黃囊已吸收殆盡, 腸道已通, 仔魚已開始捕捉輪蟲等原生動物, 消化道中已有輪蟲碎片, 仔魚眼睛呈現兩側對稱; 孵化後第 5 日 (Fig. 5E) 及第 6 日 (Fig. 5F) 仔魚平均全長分別為  $4.51 \pm 0.06$  mm 及  $4.58 \pm 0.18$  mm, 仔魚活動力強, 對外物接近反應靈敏, 持續投餵輪蟲, 可增加投餵經滋養之豐年蝦並且於培育水槽中定期添加擬球藻; 孵化後第 11 日 (Fig. 5G) 及第 13 日 (Fig. 5H), 仔魚平均全長分別為  $5.37 \pm 0.44$  mm 及  $5.44 \pm 0.08$  mm, 可觀測到仔魚消化道前端彎曲; 孵化後第 18 日 (Fig. 5I, 6B), 仔魚平

均全長為  $5.82 \pm 0.21$  mm, 頭部後方冠狀鰭條開始生長, 體幅開始變寬, 仔魚兩眼之相對位置尚未改變, 此時除投餵營養強化豐年蝦外可由室外餌料生物培育池中撈取橈足類進行投餵; 孵化後第 20 日 (Fig. 5J) 及第 22 日 (Fig. 5K), 仔魚平均全長分別為  $6.56 \pm 0.03$  mm 及  $6.62 \pm 0.14$  mm, 冠狀鰭條明顯變長, 消化道呈現環狀; 孵化後第 24 日 (Figs. 5L, 6B), 仔魚平均全長為  $8.38 \pm 0.11$  mm, 冠狀鰭條明顯生長, 背鰭開始出現, 此時游泳姿勢稍微傾斜, 仔魚頭部骨骼開始變形, 右邊眼睛之相對位置開始改變; 孵化後第 27 日 (Fig. 5M), 仔魚平均全長為  $10.15 \pm 0.17$  mm, 背鰭與臀鰭明顯生長, 此時兼投人工配合飼料; 孵化後第 31 日 (Figs. 5N, 6C), 仔魚平均全長為  $11.35 \pm 0.05$  mm, 此時仔魚的雙眼更為接近, 魚體外觀漸與成魚相似, 開始出現貼著池壁情形; 孵化後第 38 日 (Figs. 5O, 6D), 仔魚平均全長為  $13.88 \pm 1.26$  mm, 其仔魚眼睛已移至同一側, 伏於池底, 已完成變態階段開始進入底棲生活。

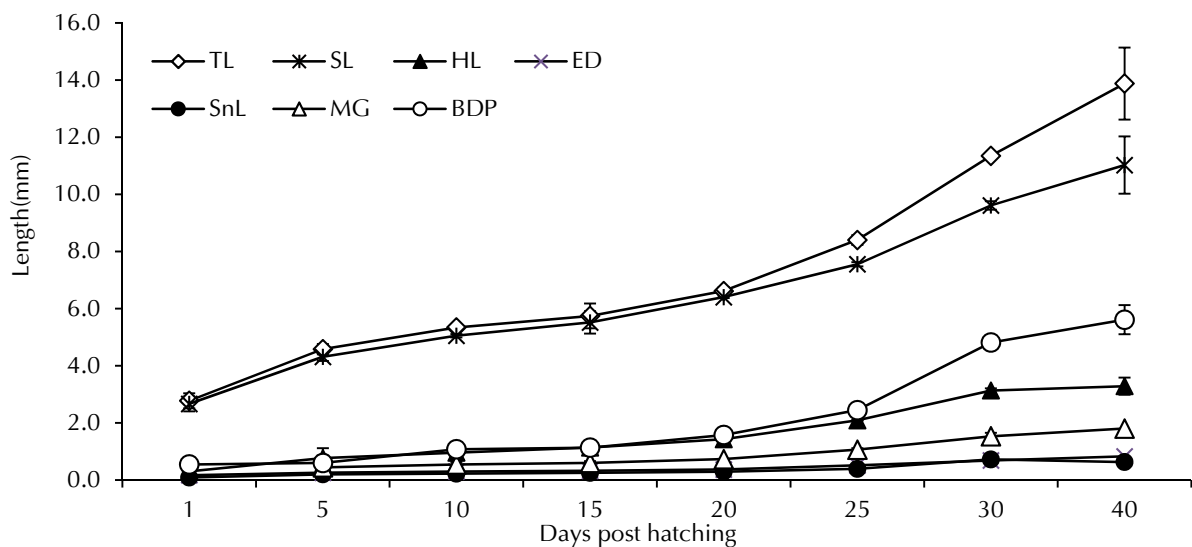
仔魚各日齡之部位形質變化如 Fig. 7 所示, 而幼苗各成長階段的投餵情況如 Fig. 8 所示。第一天平均全長為  $2.12 \pm 0.03$  mm、平均標準體長  $2.02 \pm 0.03$  mm、平均頭長  $0.30 \pm 0.02$  mm、平均眼徑  $0.17 \pm 0.01$  mm、平均吻長  $0.01 \pm 0.03$  mm 及平均體高為  $0.55 \pm 0.08$  mm。第 6 天時口徑增加, 仔魚游泳能力增強, 有明顯弓尾攝食動作, 提供輪蟲及豐年蝦以供捕食, 此時平均全長為  $4.58 \pm 0.18$  mm、平均標準體長  $4.31 \pm 0.14$  mm、平均頭長  $0.77 \pm 0.09$  mm、平均眼徑  $0.26 \pm 0.02$  mm、平均吻長  $0.20 \pm 0.03$  mm 及平均體高為  $0.60 \pm 0.01$  mm。第 20 天消化道已經逐漸形成, 此時口徑也增加, 食性改變投餵豐年蝦及橈足類, 此時平均全長為  $6.62 \pm 0.14$  mm、平均標準體長  $6.40 \pm 0.03$  mm、平均頭長  $1.43 \pm 0.12$  mm、平均眼徑  $0.37 \pm 0.04$  mm、平均吻長  $0.30 \pm 0.05$  mm 及平均體高為  $1.58 \pm 0.09$  mm。第 27 日起開始投餵人工飼料。第 40 天的仔魚外觀已與成魚相似, 平均全長為  $13.88 \pm 1.26$  mm、平均標準體長  $11.03 \pm 1.00$  mm、平均頭長  $3.29 \pm 0.30$  mm、平均眼徑  $0.83 \pm 0.08$  mm、平均吻長  $0.72 \pm 0.10$  mm 及平均體高為  $5.61 \pm 0.50$  mm, 其全長與體高分別為孵化第 1 天的 6.5 倍與 10 倍。



**Fig. 5** The morphological changes of the *Paralichthys olivaceus* at the larval and fry stages. A: Newly hatched larva  $2.12 \pm 0.03$  mm in TL (total length); B: 2 DPH  $3.39 \pm 0.33$  mm in TL; C: 3 DPH  $3.47 \pm 0.76$  mm in TL; D: 4 DPH  $4.33 \pm 0.34$  mm in TL; E: 5 DPH  $4.51 \pm 0.06$  mm in TL; F: 6 DPH  $4.58 \pm 0.18$  mm in TL; G: 11 DPH  $5.37 \pm 0.44$  mm in TL; H: 13 DPH  $5.44 \pm 0.08$  mm in TL; I: 18 DPH  $5.82 \pm 0.21$  mm in TL; J: 20 DPH  $6.56 \pm 0.03$  mm in TL; K: 22 DPH  $6.62 \pm 0.14$  mm in TL; L: 24 DPH  $8.38 \pm 0.11$  mm in TL; M: 27 DPH  $10.15 \pm 0.17$  mm in TL; N: 31 DPH  $11.35 \pm 0.05$  mm in TL; O: 38 DPH  $13.88 \pm 1.26$  mm in TL. Bar = 1mm.



**Fig. 6** Eye migration during the metamorphosis of *Paralichthys olivaceus* larvae. A: Symmetrical on both sides of the head, 4 DPH; B: Eyes begin to move, 24 DPH; C: Head deformation and eyes begin to close, 31 DPH; D: Eyes migrate to the left, 38 DPH.



**Fig. 7** Morphometrics of *Paralichthys olivaceus* larvae. BDP: body depth at pectoral base; ED: eye diameter; HL: head length; SL: standard length; SnL: snout length; MG: mouth gape; TL: total length.

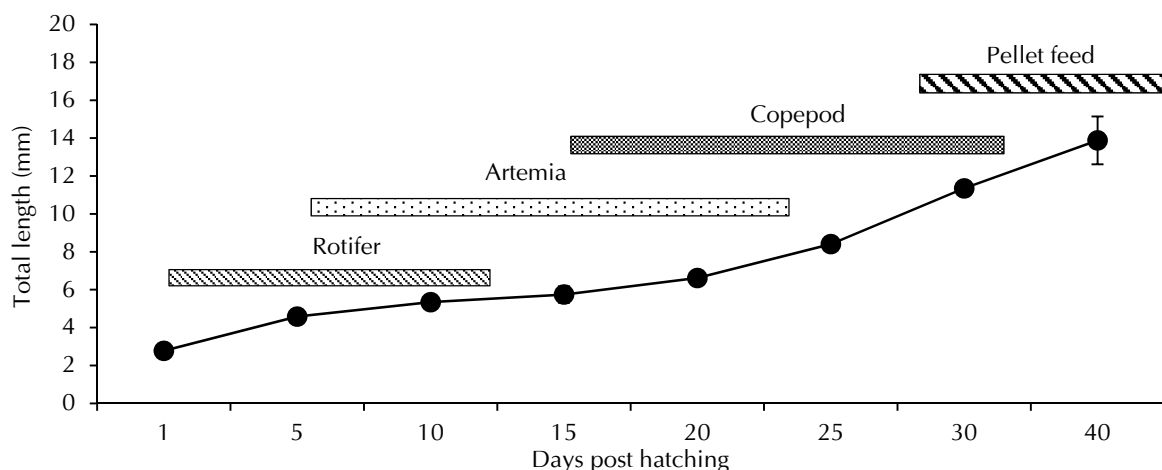


Fig. 8 Feeding scheme and growth in larval rearing of *Paralichthys olivaceus*.

## 討 論

牙鯨屬冷溫性魚類，在亞洲地區屬於高經濟價值之魚種。本研究利用以溫差刺激種魚自行產卵，不需經過注射外源性腦下垂體及純化激素刺激生殖腺發育，可達到人工繁殖目的，及使用不同鹽度處理找到最佳之受精卵孵化率與仔魚存活率，以建立牙鯨繁殖模式可作為產業量產種苗之參考。

自然海區牙鯨性成熟年齡雌魚 4 齡 (體長 40 cm 以上)，雄魚為 3 齡 (30 cm 以上) (黃, 1997)，人工培育種魚可比天然海域親魚提早一年性成熟。另有報告指出雌性牙鯨性成熟年齡為 3 齡；雄魚為 2 齡，其繁殖群體主要為 3 - 4 齡 (陳與劉, 2008)，本研究之牙鯨種魚是由幼魚開始培育，經培育 3 年後其體重與體長已達種魚階段，經解剖後可發現種魚生殖腺已發育完成，因此人工飼育之牙鯨經 3 年後即達性成熟可進行繁殖。牙鯨不論是天然捕捉種魚或是人工養殖種魚都能於養殖池內自行產卵 (黃, 1997)，另外也有利用注射腦下垂體及性腺激素來誘導排卵 (康與趙, 2001)。當牙鯨達繁殖年齡後可以利用光照與溫度控制條件下使其牙鯨成熟時間提前或是延後；在降溫期間配合延長光照周期，約 45 - 50 天後種魚可以順利產卵 (陳與劉, 2008)。牙鯨在天然海域中，秋天水溫下降時會移至較深海域中越冬，於春天時游回近岸淺水海域進行產卵繁殖，因此本研究模擬天然海域之水溫條件，利用溫控系统將水溫降低至

13°C，經 2 個月後即可觀察到種魚腹部膨脹進而利用溫差刺激以取得受精卵，與其他冷溫性魚類如條斑星鯧 (*Verasper moseri*) (肖等, 2008) 及半滑舌鰻 (*Cynoglossus semilaevis*) (陳與劉, 2008) 相似，均具有性腺發育與生殖產卵在低水溫環境下進行及利用物理因子變化取得受精卵。另鯨鰈類其生殖腺皆屬於一次成熟分批產卵型 (Leclercq, 1994; 柳等, 2006)，本試驗也觀察到於產卵期間可於出水口收集到收受精卵，產卵期達 10 天。

牙鯨受精卵為圓球形之浮性透明卵，受精卵平均卵徑為  $0.94 \pm 0.01$  mm，具單一油球，平均油球直徑為  $0.16 \pm 0.01$  mm，與田等 (2004) 研究中經自然產卵，在產卵水溫 14 - 16°C 下，測得平均卵徑  $0.8 \pm 0.01$  mm，及星突江鯧 (*Platichthys stellatus*) 平均之卵徑 0.89 - 0.94 mm (Orcutt, 1949; 陳與劉, 2008)、石鯧 (*Kareius bicoloratus*) 平均之卵徑 0.9 - 1.1 mm (陳與劉, 2008)、大菱鯨平均之卵徑 0.98 - 1.00 mm (門等, 2004; 陳與劉, 2008) 相近，但比其他底棲性之鯧形目如半滑舌鰻平均卵徑 1.18 - 1.31 mm (萬等, 2004)、條斑星鯧平均卵徑  $1.70 \pm 0.02$  mm (肖等, 2008)、大比目魚 (*Hippoglossus hippoglossus* L.) 平均卵徑 2.92 mm (Lonning *et al.*, 1982) 等魚類卵徑來的小。

吳與張 (1993) 研究指出，牙鯨屬冷溫性魚類，受精卵孵化水溫範圍廣，10.0 - 24.0°C 的範圍內皆可孵化。本研究之牙鯨受精卵在水溫  $22 \pm 1$ °C 下，經 32 hr 可孵化。田等 (2004) 試驗研究中牙鯨之受精卵在 14 - 16°C，鹽度 22.9 psu 海水中則

需 93 hr 左右孵化。在康與趙 (2001) 試驗報告中發現，在水溫 14.5 - 15.6°C，牙鯨孵化所需時間為 69 hr；水溫 17.0 - 19.6°C，牙鯨孵化所需時間為 52 hr。林等 (2006) 研究中顯示，牙鯨受精卵在水溫 14 - 20°C，溫度越高其孵化速度越快，孵化率也相對提高，在水溫 20°C 下孵化時間為 51 hr，孵化率可達 95%。因此受精卵孵化時間與水溫呈負相關，溫度越高孵化時間越短，溫度低則孵化時間延長。而其他鰈形目魚類，如條斑星鰈在水溫  $8 \pm 0.3^\circ\text{C}$ ，受精卵需 216 hr 孵化，胚胎發育速度隨水溫升高而加快 (肖等, 2008)；大菱鯨之受精卵在水溫 13°C 需 116 hr 孵化，在 15°C 孵化時間縮短為 96 hr (門等, 2004)，也有相同情形。

本研究結果顯示將受精卵置於低鹽度 (5 psu) 下的孵化率越低，與 Wang *et al.* (2015) 的試驗及半滑舌鰨 (徐等, 2005) 及大菱鯨 (Nissling *et al.*, 2006) 等試驗結果相似。本研究顯示，牙鯨受精卵孵化鹽度為 20 - 30 psu，而在 30 psu 孵化率最高，當鹽度低於 20 psu 時，仔魚孵化率低，孵化之仔魚沉於底部且尾部捲曲、魚體畸形，孵化後即變白死亡；孵化後 3 天也以鹽度 20 - 30 psu 之仔魚活存率最高。吳與張 (1993) 研究報告中也提及，牙鯨孵化率高低受到鹽度之影響，在海水鹽度 28 - 33 psu 條件下，鹽度越高孵化速度越快且孵化率相對提高。牙鯨仔魚不全然屬於廣鹽性魚類，海水的鹽度有助於提高仔魚浮力 (Moustakas *et al.*, 2004)，仔魚在高滲透壓及低滲透壓的環境中需轉移更多的能量來參與滲透壓的調節，導致於影響活存率 (Fielder *et al.*, 2005)。

剛孵化之仔魚其營養來源來自於卵黃囊，當卵黃囊吸收完後即會開口攝食，是否順利攝食為仔稚魚培育的首要關鍵階段 (陳與劉, 2008)。張與謝 (1997) 研究指出，海水魚仔魚最佳的餌料生物大小為其仔魚開口口徑的三分之一至一半左右，因此觀察牙鯨仔魚可發現孵化至第 4 天後黃囊消失並開始開口攝食，量測仔魚口徑為 411  $\mu\text{m}$ ，相較於其他魚類如條石鯛開口口徑 239  $\mu\text{m}$  (江等, 2014) 較大，因此本研究於仔魚開口攝食階段即利用浮游生物網撈取篩選 S 型輪蟲 (大小約 150 ~ 200  $\mu\text{m}$ ) 來投餵，經觀察仔魚消化道中可見餌料生物碎片，因此投餵輪蟲可使牙鯨仔魚順利過料。另以輪蟲及豐年蝦作為牙鯨仔魚餌料生物時，需先

使用藻類 (如擬球藻) 及乳化油脂來進行營養強化 (角野等, 2008；林等, 2006)，另外 Chen *et al.* (2005) 研究中也指出，使用牛磺酸來滋養輪蟲有助於牙鯨仔魚成長。然仔魚培育至變態階段前後 (約孵化後 35 天左右) 出現大量死亡情形，和陳與劉 (2008) 提及牙鯨仔魚在此階段其生理及攝食行為處於一大轉變期，且在轉入底棲生活階段時容易出現大量死亡之情形相同。導致高死亡率之原因推測為水質變化過當或是餌料生物營養不足等因素，未來將再持續探討以克服變態階段高死亡率問題。

所有的脊椎動物在胚胎時期皆會經歷內臟器官左右不對稱期，但是鰈形目魚類相當特別，因為在仔魚孵化一段時間之後，魚體會再經歷一次器官不對稱之重塑 (Takahashi, 1985; Okada *et al.*, 2001)。鰈形目魚類其仔魚變態進入底棲生活，其主要特點是眼睛會移動到頭部的相對側和原本直立之泳姿轉變為橫向，此種轉變伴隨著顛面重建和色素沉著發生在同一側等魚體內部及外部不對稱之情形 (Schreiber, 2013)。有研究顯示鰈形目魚類變態方式與兩棲動物一樣是由甲狀腺激素 (thyroid hormone) 的控制影響而發生，眼睛移動之機械力牽引將導致顛骨的不對稱性及前額骨的扭曲 (Okada *et al.*, 2003; Schreiber, 2005; Bao *et al.*, 2011; Sun *et al.*, 2015)。本研究觀察到牙鯨仔魚剛孵化後其體型與一般硬骨魚類一樣屬於兩側對稱，當仔魚培育發育至一段時間後魚體開始發生變化，在仔魚培育至第 22 天 (平均全長為  $6.62 \pm 0.14 \text{ mm}$ ) 時，魚體游泳姿勢開始傾斜，傾斜角度隨著眼睛相對位置的偏移逐漸增加，進而進入變態階段，直至培育至第 31 天 (平均全長為  $11.35 \pm 0.05 \text{ mm}$ ) 右眼位置與左眼相近，魚體呈扁平狀，沉至池底進入底棲生活。

本研究記錄牙鯨利用溫差誘導產卵、受精卵孵化週期及仔魚型態變化及培育，結果顯示，牙鯨種魚於水溫 13°C 下飼育，可促使其生殖腺發育，2 個月後可達成成熟階段。此時再提高水溫至 18°C，則可誘導其自行產卵。受精卵在水溫  $22 \pm 1^\circ\text{C}$  下，以鹽度 30 psu 組的孵化率最佳，約達  $77.8 \pm 1.4\%$ 。仔魚孵化後 72 hr，同樣以 30 psu 組有較高的活存率，約達 75%。未來將持續探討如何促進仔魚成長及活存率。



## 謝 辭

本研究經費由行政院農業委員會水產試驗所 106 農科-10.3.1-水-A1 (7)計畫項下支助。計畫執行期間承蒙東部中心同仁協助，使本研究可順利完成，在此一併致謝。

## 參考文獻

- 木云雷, 劉悅, 王鑒 (1997) 牙鮭人工育苗試驗. 水產科學, 16(1): 13-17.
- 王春忠, 李寬意, 黃宗強 (2004) 無公害牙鮭養殖技術初步研究. 水產養殖, 25(6): 4-6.
- 田永盛, 陳松林, 嚴安生, 季相山 (2004) 牙鮭的胚胎發育. 水產學報, 28(6): 609-615.
- 江玉瑛, 吳雅琪, 何源興, 鄭明忠, 陳文義 (2014) 條石鯛胚胎發育與育苗研究. 水產研究, 22(1): 71-80.
- 林越超, 蔡良候, 曾慶民, 吳石坤, 何偉滢, 林玉群 (2006) 臺灣海峽野生牙鮭人工育苗技術研究. 海洋科學, 30(2): 91-93.
- 吳光宗, 張英 (1993) 牙鮭早期階段活存率研究. 海洋科學, 1: 13-17.
- 角野敦子, 高山敬介, 內山雅史, 並木重信 (2008) ヒラメ種苗生産. 種苗生産研究所勝浦生産開發室業務報告.
- 肖志忠, 于道德, 張修峰, 徐世宏, 馬道遠, 李軍 (2008) 條斑星鱈早期發育生物學研究-受精卵的型態、生態和卵胚發育特徵. 海洋科學, 32(2): 17-21.
- 門強, 雷霽霖, 王印庚 (2004) 大菱鮭的生物學特性和苗種生産關鍵技術. 海洋科學, 28(3): 1-4.
- 何平合, 何瓊文, 林沛立, 邵廣昭, 邱郁文, 莊守正, 陳天任, 張睿昇, 塗子萱, 趙世民, 鄭明修 (2015) 臺灣常見經濟性水產動植物圖鑑. 行政院農業委員會漁業署, 437 pp.
- 徐永江, 柳學周, 馬愛軍, 孫中之, 庄志猛 (2005) 半滑舌鰨胚胎發育及仔魚生長與鹽度的關係. 海洋科學, 29(11): 39-43.
- 柳學周, 孫中之, 馬愛軍, 梁友, 庄志猛, 蘭功剛 (2006) 半滑舌鰨親魚培育及產卵技術研究. 漁業科學發展, 27: 25-32.
- 清水昭男 (2006) 魚類の生殖周期と水温等環境条件との關係. 水産総合研究センター研究報告, 別冊, 4:1-12.
- 張賜玲, 謝介士 (1997) 金錢魚 *Scatophagus argus* 的初期發育及育苗研究. 水產研究, 5(1): 41-49.
- 陳四清, 劉東朴 (2008) 鮮鱈. 海水安全優質養殖技術叢書, 山東科學技術出版社, 中國.
- 康亞光, 趙春 (2001) 牙鮭魚養殖、育苗試驗報告. 河北漁業, 3: 33.
- 萬瑞景, 姜言偉, 庄志猛 (2004) 半滑舌鰨早期形態及發育特徵. 動物學報, 50(1): 91-102.
- 黃瑞 (1997) 牙鮭人工繁殖及養殖技術. 福建水產, 2: 55-59.
- 臺灣魚類資料庫 (2017) <http://fishdb.sinica.edu.tw>.
- Bao, B. L., Z. H. Ke, J. B. Xing, E. Peatman, Z. J. Liu, C. X. Xie, B. Xu, J. W. Gai, X. L. Gong, G. M. Yang, W.Q. Tang and D. M. Ren (2011) Proliferating cells in suborbital tissue drive eye migration in flatfish. *Dev. Boil.*, 351: 200-207.
- Chen, J. N., T. Takeuchi, T. Takahashi, T. Tomoda, M. Koiso and H. Kuwada (2005) Effect of rotifers enriched with taurine on growth in larvae of Japanese flounder *Paralichthys olivaceus*. *Nippon Suisan Gakkaishi*, 71(3): 342-347.
- Fielder, D. S., W. J. Bardsley, G. L. Allan and P. M. Pankhurst (2005) The effects of salinity and temperature on growth and survival of Australian snapper, *Pagrus auratus* larvae. *Aquaculture*, 250(1): 201-214.
- Leclercq, D. (1994) Turbot breedstock management: a key point to mid-term progress of the turbot industry. *Turbot Culture: Problems and Prospects. Proceedings of the Satellite Workshop of World Aquaculture '93, May 25-27, 1993, Torremolinos, Spain.*
- Lonning, S., E. Kjorsvik, T. Haug and B. Gulliksen (1982) The early development of the halibut, *Hippoglossus hippoglossus* (L.), compared with other marine teleosts. *Sarsia*, 67(2): 85-91.
- Moustakas, C. T., W. O. Watanabe and K. A. Copeland (2004) Combined effects of photoperiod and salinity on growth, survival, and osmoregulatory ability of larval southern flounder *Paralichthys lethostigma*. *Aquaculture*, 229(1): 159-179.
- Nissling, A., U. Johansson, and M. Jacobsson (2006) Effects of salinity and temperature conditions on the reproductive success of turbot (*Scophthalmus maximus*) in the Baltic Sea. *Fish. Res.*, 80(2): 230-238.
- Okada, N., Y. Takagi, T. Seikai, M. Tanaka and M. Tagawa (2001) Asymmetrical development of bones and soft tissues during eye migration of metamorphosing Japanese flounder, *Paralichthys olivaceus*. *Cell Tissue Res.*, 304(1): 59-66.

- Okada, N., Y. Tskagi, M. Tanaka and M. Tagawa (2003) Fine structure of soft and hard tissues involved in eye migration in metamorphosing Japanese flounder (*Paralichthys olivaceus*). *Anat. Rec.*, 273A: 663-668.
- Orcutt, H. G. (1949) The Life History of the Starry Flounder, *Platichthys Stellatus* (Pallas). Ph. D. Thesis, Stanford Univ., 27pp.
- Schreiber, A. M. (2005) Asymmetric craniofacial remodeling and lateralized behavior in larval flatfish. *J. Exp. Biol.*, 209: 610-621.
- Schreiber, A. M. (2013) Flatfish: an asymmetric perspective on metamorphosis. *Curr. Top. Dev. Biol.*, 103: 167-194.
- Sun, M. G., F. Wei, H. Li, J. Wu, X. Y. Chen, X. L. Gong, Y. S. Tian, S. L. Chen and B. L. Bao (2015) Distortion of frontal bones results from cell apoptosis by the mechanical force from the up-migrating eye during metamorphosis in *Paralichthys olivaceus*. *Mech. Dev.*, 136: 87-98.
- Takahashi, Y. (1985) Morphological and behavioral changes with growth in reared larvae and juveniles of a flounder *Paralichthys olivaceus*. *Aquiculture*, 33: 43-52.
- Wang, Y. J., Q. D. Guo, H. Zhao, H. J. Liu and W. Q. Lu (2015) Larval development and salinity tolerance of Japanese flounder (*Paralichthys olivaceus*) from hatching to juvenile settlement. *Aquacult. Res.*, 46(8): 1878-1890.

## Induced Spawning and Larval Rearing of Olive Flounder (*Paralichthys olivaceus*)

Yu-Ping Chen\*, Keng-Yuan Chen, En-Lieng Lau and Yuan-Shing Ho

Eastern Marine Biology Research Center, Fisheries Research Institute

### ABSTRACT

This study successfully induced spawning and fertilization of the olive flounder (*Paralichthys olivaceus*) in an artificial feeding environment using temperature stimulation, achieving a fertilization rate of 81.2%. The fertilized eggs of the fish were buoyant and semi-transparent, with an average diameter of  $0.94 \pm 0.01$  mm and an oil globule averaging  $0.16 \pm 0.01$  mm in diameter. These eggs hatched at 32 hr after fertilization (Temperature =  $22 \pm 1^\circ\text{C}$ ; salinity = 33 – 35 psu). The newly hatched larvae averaged about  $2.12 \pm 0.03$  mm in total length. The larvae ( $3.47 \pm 0.76$  mm) were fed with rotifers (*Brachionus plicatilis*) from the 3<sup>rd</sup> day post hatching (DPH). A microalgae (*Nannochloropsis oculata*) was added to stabilize the water quality and nourish the rotifers. The average total length of the 6 DPH fry was  $4.58 \pm 0.18$  mm. Artemia (*Artemia* spp.) were used as a feed additive for nutrition enrichment. The average total length of the 18 DPH fry was  $5.82 \pm 0.21$  mm. Then, the coronary fin on the head of each larva began to grow. At this time, we continued to use the artemia for nutrition enrichment. The average total length of the 24 DPH fry was  $8.38 \pm 0.11$  mm; their swimming was tilted and the relative position of their eyes began to change. When the eyes were on the same side at 38 DPH ( $13.88 \pm 1.26$  mm), the fry began to metamorphose to the benthic stage. The salinity level was then set to 5 – 40 psu. In the salinity test, it was found that a significantly higher hatching rate ( $77.8 \pm 1.4\%$ ) was obtained at 30 psu ( $p < 0.05$ ). Furthermore, through salinity tests with different incubation times (24, 48, or 72 hr), this study found that the 20 psu and 30 psu tests had an optimum survival rate of 72% and 75%, respectively, at 72 hr of treatment.

Key words: *Paralichthys olivaceus*, induced spawning, embryonic development, larval rearing, salinity

---

\*Correspondence: 299 Lane 291 Sec. 2 Zhiben Rd., Taitung, Taitung 950, Taiwan. TEL: (089) 514-362 ext. 208; FAX: (089) 514-366; E-mail: ypchen@mail.tfrin.gov.tw