

## 日本鰻人工繁殖的探討

# Annotation on the Artificial Propagation of Japanese Eel

韓玉山<sup>1</sup>、張賜玲<sup>2</sup>、廖一久<sup>2</sup>、曾萬年<sup>3</sup>

<sup>1</sup> 國立臺灣大學動物學研究所

<sup>2</sup> 行政院農業委員會水產試驗所

<sup>3</sup> 國立臺灣大學漁業推廣委員會

### 英文摘要

The Japanese eel (*Anguilla japonica*) is an important aquaculture species in Taiwan. However, the elvers (glass eels) needed for aquaculture production are still dependent on catches from the wild, where production is continuously declining because of over-fishing and environmental degradation. Thus, artificial propagation becomes the key point for the sustainability of the eel aquaculture industry. The main problems for the artificial propagation include: (1) the insufficient knowledge on the mechanisms of eel maturation; (2) the unstable fertilization and hatching rates of eel eggs by long-term induced maturation; and (3) the unknown culture conditions for larval rearing.

日本鰻為台灣重要的養殖魚種之一。根據農委會統計資料，自 1968 年以後，由於養鰻技術之研發成功與推廣，台灣之日本鰻養殖規模逐年上升，並順利銷售至日本市場。日本鰻產量於 1992 年到達高峰，年產量超過 6 萬公噸，產值亦達百億以上 (Fig. 1) (Liao, 2001)。然而，隨者大陸地區養鰻業之興起，以及鰻線價格居高不下，導致台灣養鰻產業的競爭優勢逐漸式微。自 1992 年以降，台

灣之鰻魚產量快速下降，1999 年之鰻魚產量僅達 1 萬 6 千多公噸 (Fig. 1)。由於鰻魚為目前廣泛養殖的魚種中，唯一尚必須利用野生苗作為種苗來源的魚種，因此，養鰻產業極度依賴天然鰻線之供給，形成產業發展上之主要瓶頸。尤其近年來，受到河川污染、水庫建造、棲息地被破壞，氣候變遷以及天然鰻線過漁等諸多因素的影響，導致鰻線產量之長期趨勢有更為下降之現象 (Tzeng et al., 1995)。因此，進行日本鰻人工繁殖技術的研發，為鰻魚養殖產業永續發展之關鍵所在，對於鰻魚生態保育上，亦具有積極的意義。

日本鰻具有獨特的生活史 (Fig. 2)，其產卵場推測應在西太平洋的馬里亞納群島附近 (Tsukamoto, 1992 ; Liao et al., 1996, 1999)。柳葉形仔鰻 (*Leptocephalus*) 隨著北赤道洋流向東亞大陸棚漂送，約經 4-6 個月之成長，變態為透明流線型之玻璃鰻 (Glass eel)，並向沿岸河口聚集。當玻璃鰻身上長出色素後即稱為幼鰻 (Elver)，在河流或是河口域中棲息、成長，此時稱為黃鰻 (Yellow eel)，經過 5-8 年的成長，鰻魚在降海產卵前會進行一連串的生理變化，稱為銀化 (Silvering)，體表可見背部與胸鰭變黑、吻部變寬、眼睛與胸鰭變大、以及腹部呈現銀黑色 (Fig. 3)。其餘生理變化包括生殖腺發育加速、消化道萎縮、表皮增厚、魚鰾變大內壁變厚、視網膜錐狀色素細胞漸被桿狀色素細胞取代、骨骼肌之組成與性質改變等等 (Han et al., 2001)。筆者等曾進行野生鰻的調查，發現其銀化的啟動，集中在夏秋兩季，而銀鰻出現高峰則在冬季 (十一月至二月)。銀鰻降海回到出生地產卵，繁殖下一代，完成其生活史 (Tesch, 1977 ; Tzeng et al., 2000)。

不論是捕獲之野生或人工飼養之鰻，皆無法在人為環境下自然

成熟。以目前採捕到的最成熟的野生銀鰻，其雌魚之性腺僅達油滴期( oil droplet stage )或是初級卵黃球期 (Primary yolk globule stage) 而已，生殖腺指數 (Gonadosomatic index, GSI) 約為 1-3 % 之間，與產卵時 GSI 可達 40 % 相比，仍處於早期發育階段。雄鰻的情況亦是，其精巢只有初級精原細胞 (Primary spermatocyte)，GSI 只有 0.1-0.3 % 左右 (Han et al., 2002)。此一特徵使得鰻魚人工催熟必須依賴長期注射異源性促性腺激素 (Gonadotropin, GTH)，方能強迫鰻魚生殖腺的進一步發育、成熟。探討鰻魚人工繁殖迄今未能突破的原因，有三大難關，茲分述如下：

## 一、對鰻魚性成熟的機制瞭解不足

魚類生殖內分泌的調控非常複雜，但中心的主軸則為下視丘—腦下垂體—性腺 (Hypothalamus- Pituitary- Gonad, HPG)，其中下視丘所分泌之促性腺激素釋放素 (Gonadotropin releasing hormone, GnRH) 會刺激腦下垂體分泌促性腺激素，促性腺激素有 GTH I 及 GTH II 兩型，其中 GTH I 可刺激雌鰻卵母細胞與雄鰻精原細胞之增生，GTH II 則負責刺激雌鰻卵巢合成雌性素 (Estradiol-17 $\beta$ , E2) 與排卵，以及刺激雄鰻精巢產生雄性素 (Testosterone, T)，GTH I/II 兩者相輔相成，共同完成生殖腺的成熟 (Li and Ford, 1998)。而在此一主軸上，有各式各樣其他的因子亦參與調控此一主軸的活動，有些因子可刺激此一主軸，另一些因子則抑制之。日本鰻即使在銀鰻階段，其血中 GTH I/II 之含量仍很低，僅能支持生殖腺低度的發育，顯示鰻魚生殖主軸上的抑制仍未完全被解除。由近年的一些實驗結果，可看出一些端倪，Kagawa et al. ( 1998 ) 將母鰻由淡水移

至海水中飼養 3 個月，即可有效促進其卵巢之自然發育，顯然鹽度為此一主軸之刺激因子之一；又法國學者曾將歐洲鰻下沉至深海 850 米蓄養 3 個月，發現其腦下垂體中 GTH 含量增加了 20 倍以上 (Fontaine et al., 1987)，顯示水壓亦為刺激此主軸的因子之一；由於種鰻會洄游數千公里之遙回到產卵場，鰻魚在仔魚階段對其所生活的大洋環境很可能有 imprinting (印痕)，此一印痕可能會影響鰻魚的成熟活動，在大洋環境下方可解除此抑制，而活化 HPG 主軸。另外，銀鰻的體脂肪很高，用來支持其後之長距離洄游與生殖腺發育所需之能量。目前於哺乳動物中發現，脂肪細胞所分泌之瘦素 (Leptin)，與 GTH 之合成與分泌有密切關係，魚類中 Leptin 之存在已被間接證實，咸信應與鰻魚生殖內分泌之調控有關 (Johnson et al., 2000)。綜上所述，由於吾人對鰻魚性成熟之生理機制，或是更精確地說，對其生殖主軸 HPG 之調控機制，尚未完全瞭解，因此尚無法找出使其自然成熟的方法。

## 二、鰻魚之催熟過程冗長，導致受精率與孵化率之不穩定

由於種鰻無法在人工環境下自然成熟，因此，注射異源性 GTH 成為不得已的手段。雖然鰻魚的人工催熟試驗，源於 1934 年在法國進行的歐洲鰻，但迄今幾乎都集中在日本鰻的身上。日本學者 Yamamoto 和 Yamauchi (1974) 早自 1973 年即已成功地利用鮭魚腦下垂體抽出物 (Salmon pituitary extracts, SPE) 注射日本鰻，獲得受精卵並孵出仔魚的紀錄。迄今，日本鰻已建立一套較為標準化的

人工催熟流程，如 Fig. 4 所示，雄鰻以人類絨毛膜促性腺激素 (Human Chorionic Gonadotropin, HCG) 注射，每週一次，約 10-14 週即可獲得大量有活動力之精子。雌鰻則每週注射 SPE，約經 8-13 週，卵子可達三級卵黃球期 (卵徑約為 800  $\mu\text{m}$ )，此時再注射一針 SPE 作為誘導，24 小時後再注射  $17\alpha,20\beta$ -dihydroxy-4-pregnen-3-one (DHP, 排卵素) 作為卵子最後成熟誘導劑，約經 15 到 21 小時後可進行人工受精 (Fig. 4)。由上述過程可知，此種人工催熟方法極為人為化設計，以異源性激素直接刺激生殖腺的發育。然而性腺的發育是需要精準的調控，過猶不及，異源性激素的注射顯然不易達到此一要求，因此卵質的優劣可想而知不太穩定。一般對其他魚類採行的人工催熟方法，係先使其能自行發育至成熟階段，然後再以高劑量的異源性激素促使其進入最後成熟階段，而達到排卵的目的，在此情況下卵的品質無虞。至於鰻魚則否，要達到自行發育至成熟階段，仍無妙方，只能依靠長期多次的注射異源性促性腺激素催熟。利用此種方式催熟所得到之卵粒，可能本身即有缺陷，因此即使能受精孵化，仔魚的正常發育也許已受到某種影響。

### 三、仔魚飼育所須之條件尚未掌握

得到受精卵後，孵化及仔魚的培育即成為另一種重要的課題。由於迄今尚未撈獲任何已成熟的野生種鰻、鰻卵及初期卵黃囊期的仔魚 (Tsukamoto, 2001)，導致對其仔魚生存所需的環境條件及仔魚攝餌的習性，都未能掌握。歐洲鰻最長的飼育紀錄為 3.5 天 (Prokhorchik, 1986)，美洲鰻 6 天 (Liao and Chang, unpublished)，日本鰻則為 253 天 (Tanaka, 1999)。根據 Tanaka et al. (2001) 所用

的飼料，係以冷凍乾燥的鯊魚卵製成膏狀飼料，並添加黃豆蛋白、維生素、礦物質與磷蝦萃取物。仔魚在孵化後 14 天可長至 9.4 mm，100 天後則可長至 22 mm，然而存活百日以上的柳葉形鰻比例不到 1%，最高紀錄者僅成長至 31 mm，但已費時超過 200 日 (Fig. 2)，早已超過日本鰻正常柳葉期約 120-180 天的範圍 (此時體長已達約 60 mm)。因此，仔魚的培育，顯然仍有諸多問題待解。由於天然仔魚不可能攝食如此類型之飼料，人工培育之仔魚可能有某些方面之缺陷。若缺陷不在仔魚本身，則可能是人工培育環境並無法滿足仔魚之生長需求，這些都需進一步的探討改進。

## 結語

挑戰鰻魚的人工繁殖，不僅具有產業發展的經濟意義，更象徵著生殖科技的不斷突破與探索，以目前日本鰻人工繁殖的進展來說，較著重於異源性激素之配方與施打方法之改進，以及仔魚飼料配方與育苗方法之改良，而較少著墨於瞭解鰻魚生殖主軸如何被調控，尤其是與環境因子的互動模式。如果能夠解開這些奧祕，也許不需靠異源性激素即可促其自然成熟、產卵，而獲得之受精卵與仔魚將大大提高其存活的機率，這可能就是突破鰻魚人工繁殖關鍵之處。

## 參考文獻

- Fontaine, Y. A., Dufour, S., Alinat, J., Leloup-Hatey, J. and Quérat, B. (1987) Deep sea immersion, gonadotropin and sex steroids in the European eel (*Anguilla anguilla* L.). *Gen. Comp. Endocrinol.* 66,

27-28.

- Han, Y. S., Tzeng, W. N., Huang, Y. S. and Liao, I C. (2001) Silvering in the eel: changes in morphology, body fat content, and gonadal development. *J. Taiwan Fish. Res.* 9(1 &2), 119-127.
- Han, Y. S., Liao, I C., Huang, Y. S., He, J. T., Chang, C. W. and Tzeng, W. N. (2002) synchronous changes of morphology and gonadal development of silvering Japanese eel *Anguilla japonica*. *Aquaculture* (in press).
- Johnson, R. M., Johnson, T. M. and Londraville, R. L. (2000) Evidence for leptin expression in fishes. *J. Exp. Zool.* 286, 718-724.
- Kagawa, H., Inuma, N. Tanaka, H., Ohta, H. and Okuzawa, K. (1998) Effects of rearing period in seawater on induced maturation in female Japanese eel, *Anguilla japonica*. *Fishery Science* 64, 77-82.
- Li, M. D. and Ford, J. J. (1998) A comprehensive evolutionary analysis based on nucleotide and amino acid sequences of the  $\alpha$ - and  $\beta$ -subunits of glycoprotein hormone gene family. *Journal of Endocrinology* 156, 529-542.
- Liao, I C., Kuo, C. L., Tzeng, W. N., Hwang, S. T., Wu, C. L., Wang, C. H. and Wang, Y. T. (1996) The first time of leptcephali of Japanese eel *Anguilla japonica* collected by Taiwanese researchers. *Journal of Taiwan Fisheries Research* 4(2), 107-116.
- Liao, I C., Liao, S. G., Tzeng, W. N. and Kuo, C. L. (1999) Investigation on *Anguilla japonica* leptcephali by Fisheries Researcher 1. In *Studies on the Life Cycle of Eel*. (Aida, K. and Tsukamoto, K., eds). *Kaiyo Monthly, Special Issue* 18, 27-33. (in Japanese)
- Liao, I C. (2001) A general review on aquaculture in Asia: A focus on anguillid eel. In: I C. Liao (compiled) *Keynote Addresses, The 5th and 6th Asian Fisheries Forums*. AFS Special Publication No. 11, pp. 39-54.
- Prokhorchik, G. A. (1986) Postembryonic development of the freshwater eel, *Anguilla anguilla* under controlled conditions. *Vopr. Ikhtiol.* 26, 802-807.

- Tanaka, H. (1999) Early life cycle of artificial hatched eel. In Abstracts of the Symposium on Conservation Strategy and Management Status of Eel Resources, p. 16. Ocean Research Institute, University of Tokyo.
- Tanaka, H., Kagawa, H. and Ohta, H. (2001) Production of leptocephali of Japanese eel (*Anguilla japonica*) in captivity. *Aquaculture* 201, 51-60.
- Tesch, F. W. (1977) *The Eel. Biology and management of anguillid eels.* London: Chapman and Hall.
- Tsukamoto, K. (1992) Discovery of the spawning area for Japanese eel. *Nature* 356, 789-791.
- Tsukamoto, K. (2001) The spawning biology of eel. *Aquabiology* No.133, 23, 123-129. (In Japanese)
- Tzeng, W. N., Cheng, P. W. and Lin, F. Y. (1995) Relative abundance, sex ratio and population structure of the Japanese eel *Anguilla japonica* in the Tanshui River system of northern Taiwan. *Journal of Fish Biology* 46, 183-201.
- Tzeng, W. N., Lin, H. R., Wang, C. H. and Xu, S. N. (2000) Differences in size and growth rates of male and female migrating Japanese eels in Pearl River, China. *Journal of Fish Biology* 57, 1245-1253.
- Yamamoto, K. and Yamauchi, K. (1974) Sexual maturation of Japanese eel and production of eel larvae in the aquarium. *Nature* 251, 220-222.

## Figure Legends

Figure 1. 台灣之日本鰻養殖發展階段圖。Introduction stage: 導入期；Developmental stage: 發展期；Growth and prosperous stage: 成長興盛期；Decline stage: 衰退期。摘自 Liao, 2001.

Figure 2. 日本鰻的生活史圖。外圈為天然鰻魚生活史，內圈為人工

繁殖對照圖，虛線代表未知。摘自 Liao et al., 2001.

Figure 3. 日本鰻黃鰻與銀鰻比較圖。

Figure 4. 日本鰻的人工催熟流程圖。BW: 體重；HCG: 人類授毛絨毛膜促性腺激素；SPE: 鮭魚腦下垂體抽出物；DHP: 排卵素；ASP: 人工精液血清。摘自 Ohta et al., 1997.

Fig. 1

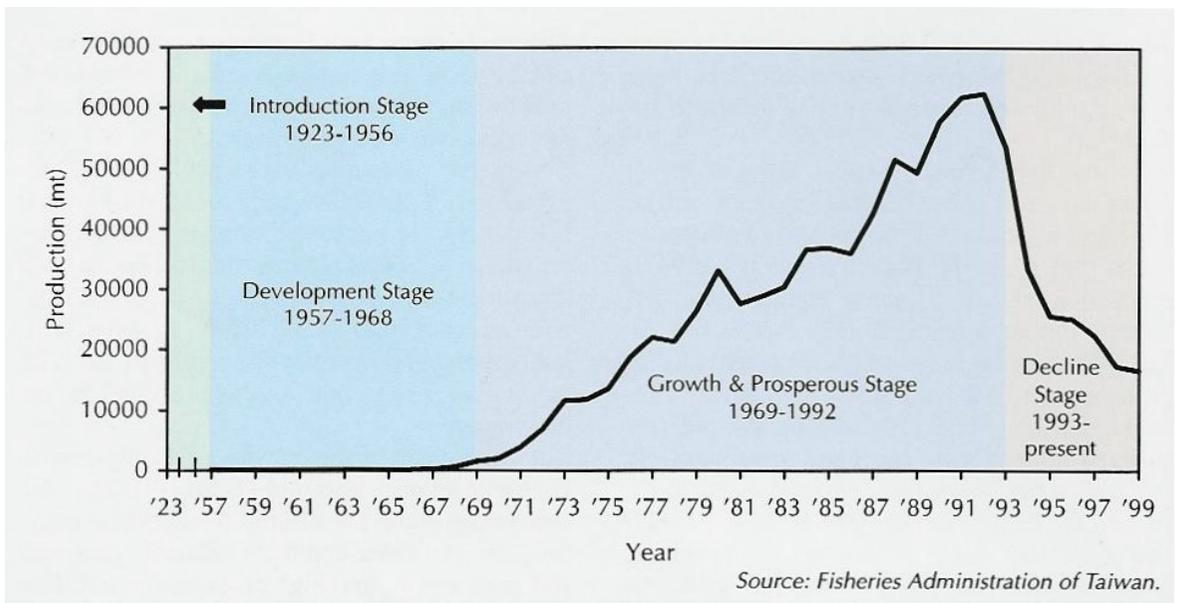


Fig. 2

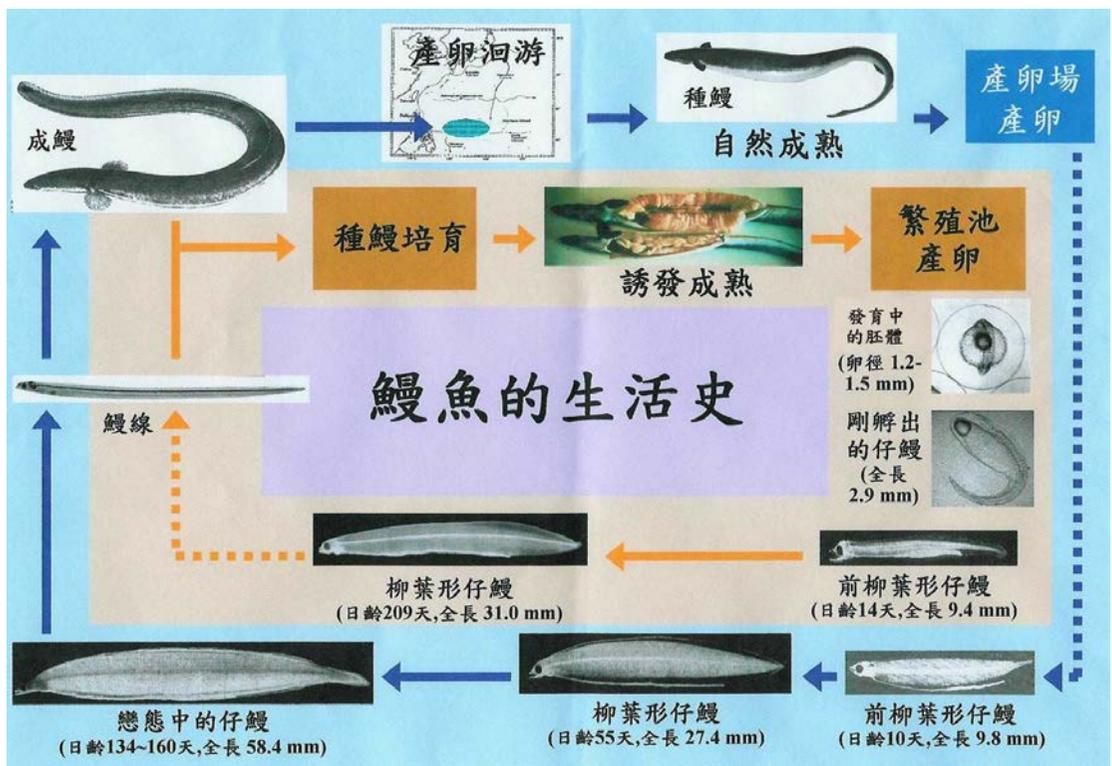


Fig. 3

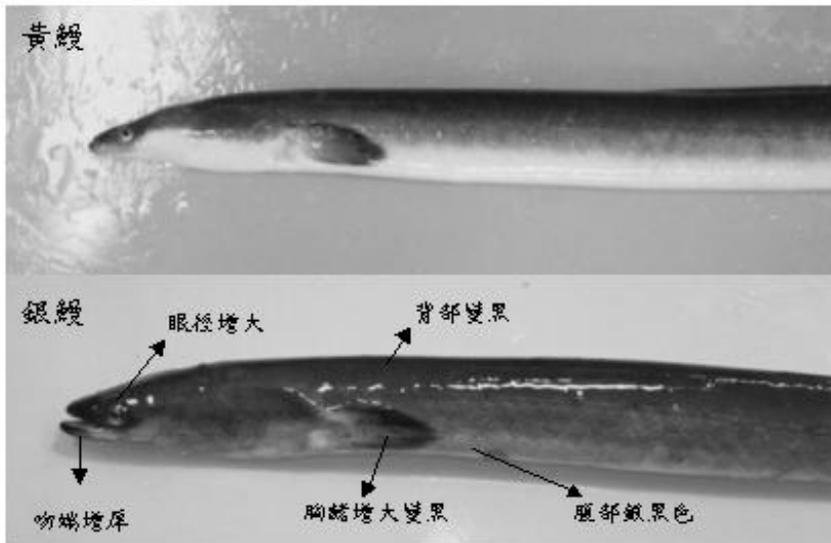


Fig. 4

