

黃體激素釋放激素 在促進虱目魚成熟排卵上之探討*

鄭 敬 善·廖 一 久

臺灣省水產試驗所東港分所

摘 要

一般魚類催熟是在卵黃形成 (Vitellogenesis) 末期行之，其目的為促進卵母細胞之最後成熟 (Final oocyte maturation) 及排卵。為達成此項目的使用之方法為注射：1. 腦下腺抽出物，2. HCG，3. 腦下腺與 HCG 混合物及 4. 黃體激素釋放激素及其類似物 (LHRH-a)。本試驗是以 LHRH-a 微粒及畢固酮膠管植入 4~10 齡虱目魚，以促進其成熟並排卵，所得結果概述如下：

一、處理組雄魚 15 尾達到成熟階段，而對照組僅 2 尾達到成熟，比例分別為 25% 及 4%，有顯著差異，顯示 LHRH-a 對雄魚有正面的效果。

二、6 尾成熟雌魚，平均卵徑為 0.76 mm，再經 250 μ g LHRH-a 液狀注射後，分別於 24~72 小時內自然產卵，平均卵徑為 1.16 mm，唯均未受精。其原因可能為：1. 雄魚不夠成熟，2. 雄魚之精巢經激素處理 2~3 天後反呈再吸收現象，3. 卵粒未充分成熟即因藥物刺激而排卵，4. 其他環境因素所造成。

三、LHRH-a 與腦下腺抽出物或 HCG 功能與機制不盡相同，故在促進魚類成熟排卵過程中，配合使用他種激素（如畢固酮），將可增進效果。

四、本試驗所得之結果數據，尚無法佐證 LHRH-a 在促進虱目魚成熟、排卵上較其他激素更為有效，然而使用 LHRH-a 有二項優點：1. 以 LHRH-a 微粒植入魚體，因其藥效持續性較久，所以可避免種魚少受驚嚇。2. 藥效可自行依照種魚本身之生殖生理狀態而調整。

最後，探討以 LHRH-a 促進成熟、排卵在水產養殖現階段之重要性。

* 東港分所研究報告 B-55 號 (Contribution B No. 55 from the Tungkang Marine Laboratory)

內 容

一、前言.....	189
二、材料與方法.....	189
三、結果與討論.....	190
四、謝辭.....	195
五、引用文獻.....	195

一、前 言

虱目魚 (*Chanos chanos*) 為東南亞最重要的經濟養殖魚類之一。由於天然魚苗日益匱乏，人工繁殖研究普遍受到重視。近年來，在研究人員努力嘗試下，促使虱目魚成熟、排卵獲致初步成功 (Vanstone *et al.*, 1977; Chaudhuri *et al.*, 1978; Liao *et al.*, 1979; Lee and Weber, 1983; 林, 1984)。一般均使用腦下腺抽出物 (鯉魚、鮭魚、烏魚) 或人類絨毛性腺激素 (Human Chorionic Gonadotropin, 簡稱 HCG) 注射使虱目魚達到最後成熟階段，再以人工擠壓成熟卵及精液予以授精 (Vanstone *et al.*, 1977; Kuo *et al.*, 1979; Liao *et al.*, 1979)。以此方法容易造成驚嚇，甚而影響其生殖週期，嚴重時會導致死亡。一種合成的黃體激素釋放激素類似物 (Luteinizing Hormone-Releasing Hormone Analogue, 簡稱 LHRH-a) 植入種魚以促進成熟的方法，對於種魚的確保及受精率的提高有良好的效果 (Lee *et al.*, 1986a, 1986b)。

硬骨魚類及其他脊椎動物的下視丘 (Hypothalamus) 是控制腦下腺激素 (Gonadotropin, 簡稱 GtH) 分泌的器官，而下視丘的腦下腺激素釋放素 (Gonadotropin Releasing Hormone, 簡稱 GnRH) 的功用與哺乳類的 LHRH 相同。LHRH 為脫肽物 (Decapeptide)，近年來，有二百種以上的 LHRH 超活力類似物 (Superactive Analogue) 被合成，其效力超過原來的 LHRH 甚多。主要功用為使 GtH 產生細胞活性化，以促進腦下腺 GtH 的分泌，進而促進卵黃形成 (Vitellogenesis) 並誘發成熟及排卵。

LHRH-a 應用在魚類對促其成熟、排卵已有顯著的效果，如鯉魚 (*Cyprinus carpio*) (Breton and Weil, 1973)、鱒魚 (*Salmo trutta*) (Crim and Cluett, 1974) 及香魚 (*Plecoglossus altivelis*) (Hirose and Ishida, 1974)。金魚 (*Carassius auratus*) 在 $12 \pm 1^\circ\text{C}$ 時，無排卵現象，若施以 LHRH-a 處理，則可順利排卵 (Yamamoto and Yamazaki, 1967)。上述 LHRH-a 的使用均以注射行之，但由於 LHRH 兼具有持續性的功能，因此，可製成膽固醇微粒 (Cholesterol pellet) 植入魚體行之 (Kent *et al.*, 1980)。以 $9 \sim 23.5 \mu\text{g}/\text{kg}$ 體重的 LHRH-a 劑量之膽固醇微粒植入鱸魚 (*Lates calcarifer*) 可促其成熟排卵 (Harvey *et al.*, 1985)。

筆者等在東港分所以 LHRH-a 膽固醇微粒植入虱目魚以促進其成熟排卵，本文即闡述該試驗的結果，並與其他有關這方面的論述作一比較。

二、材料與方法

2 mg 之黃體激素釋放激素類似物 (des-Gly¹⁰-[O-Ala⁶]-LHRH ethylamide) 溶於

0.3 ml 酒精中，再溶入 190 mg 的膽固醇，均勻攪拌後置於 37°C 的恒溫箱約一小時，烘乾之粉末與 10 mg 的可可油 (Cocoa butter) (當做黏着劑) 調和。於 80×60×60 mm 的壓克力板鑿七個大小為 2.7 mm 的洞，將調和好的粉末緊填於洞中，則可製成重量約 23 mg，長度約 24 mm 的微粒，每顆微粒含有約 200 μg 的 LHRH-a。另外，以 10 mg 的甲基睪固酮 (17 α -Methyltestosterone) 溶於 0.1 ml 酒精和 0.9 ml 的蓖麻油 (Castor oil) 中，混合均勻後分別抽取 25 ml 混合液放入長 2 cm 的特製膠管 (Silastic tube, 0.58 in ID×0.77 in OD) 中，則可製成每個約含 250 μg 的睪固酮膠管。

供試魚選取 4、5、6、7、8 及 8~10 齡等六個年齡羣，每組隨機取 10 尾植入 200 μg LHRH-a 微粒及 250 μg 睪固酮膠管，同時取 6 尾作為對照組，植入僅含膽固醇的微粒。每組魚分別置於直徑 8.4 m 的圓型水泥飼育池，每天飼以含粗蛋白 (Crude protein) 42% 的人工自配飼料。試驗期間的水溫為 27±1°C，鹽度為 32±2‰。試驗自一九八六年三月二十五日開始進行，每四週做一次定期的成熟度檢查和藥物植入。供試魚以濃度 300 ppm 的苯乙醇 (2-phenoxyethanol) 予以麻醉，每尾魚以剪鰭 (Fin clip) 方式以資識別，並以軟管由生殖孔抽取卵或精子以檢視供試魚的成熟度。LHRH-a 或膽固醇微粒植入魚體後，即置於清純海水中等待其復甦。發現成熟之種魚時，隨即移入直徑 4 m 的八角池，依成熟度之不同施以不同劑量之液狀 LHRH-a 注射待產。

三、結果與討論

判定雄魚是否已成熟，是以手擠壓腹部，有白色精液自生殖孔流出即視為成熟。經過三次的激素植入後，發現 LHRH-a 處理組有 15 尾雄魚達到成熟，而對照組僅有 2 尾成熟 (如表一)。其成熟比率分別為 25% 及 4%，有顯著的差異。至於雌魚成熟的判斷，是以軟管自生殖孔抽取卵粒，其卵徑平均值超過 0.6 mm 者視為成熟。在激素植入後的三次成熟度檢查，僅在 LHRH-a 處理組中，發現 4 尾雌魚達成熟階段，而對照組亦有 3 尾成熟，兩組間並無明顯的差異。

在本試驗中，4 齡雄魚、雌魚均未發現有成熟者，此與 Lam (1984)、Liao and Chen (1984) 等指出雌魚在 5 齡以上始能刺激其成熟者相吻合。此次 5、6、7 齡雌魚亦未有成熟者，然而 Lee *et al.* (1986b) 以 LHRH-a 及睪固酮膠管植入法催熟 7 齡虱目魚，結果成功地促進成熟並排卵 (如表二)。有如此之不同反應，是否由於 LHRH-a 的藥效問題或其他環境因子 (如水溫、光照等) 的影響有以致之，仍待進一步的探討。本試驗中的 7 尾成熟雌魚，均為 8 齡以上，而且 8 齡以上的成熟雄魚，無論在精液量或精子活力上均比 7 齡以下之成熟雄魚充沛，因此，有關虱目魚之催熟，年齡應是極為重要的考慮因素。

儘管前述 LHRH-a 在多種魚類促進成熟排卵上有良好的效果，然而亦見失敗的前例。Fontaine (1976) 指出，LHRH-a 對歐洲鰻 (*Anguilla anguilla*) 的成熟無任何刺激作用。鱒魚的卵黃形成初期施以 LHRH-a 處理，結果血液中的 GtH、雌性激素及卵黃形成素 (Vitellogenin) 之含量也均無明顯的變化 (Crim and Idler, 1978)。另外，未成熟虹鱒的腦下腺對 LHRH-a 亦無任何反應 (Crim and Evans, 1980)。高橋 (1982)

表一 在不同年齡羣間之成熟虱目魚尾數

Table 1. Numbers of mature milkfish in different age groups

Age of fish (yrs)**	Mar. 26*		Apr. 23*		May 21*		Jun. 18	
	male	female	male	female	male	female	male	female
Expt. fish**								
4	0	0	0	0	0	0	0	0
5	0	0	0	0	1	0	4	0
6	0	0	2	0	3	0	3	0
7	0	0	1	0	3	0	2	0
8	0	0	3	1	3	0	3	0
8-10	1	0	3	0	3	2	3	1
Control**								
4	0	0	0	0	0	0	0	0
5	0	0	0	0	1	0	0	0
6	0	0	0	0	2	0	1	0
7	0	0	0	0	1	0	0	0
8	0	0	0	1	1	1	0	1
8-10	0	0	2	0	2	0	1	0

* Experimental fish were implanted with pellets containing 200 μg LHRH-a. Control fish were implanted with cholesterol pellets.

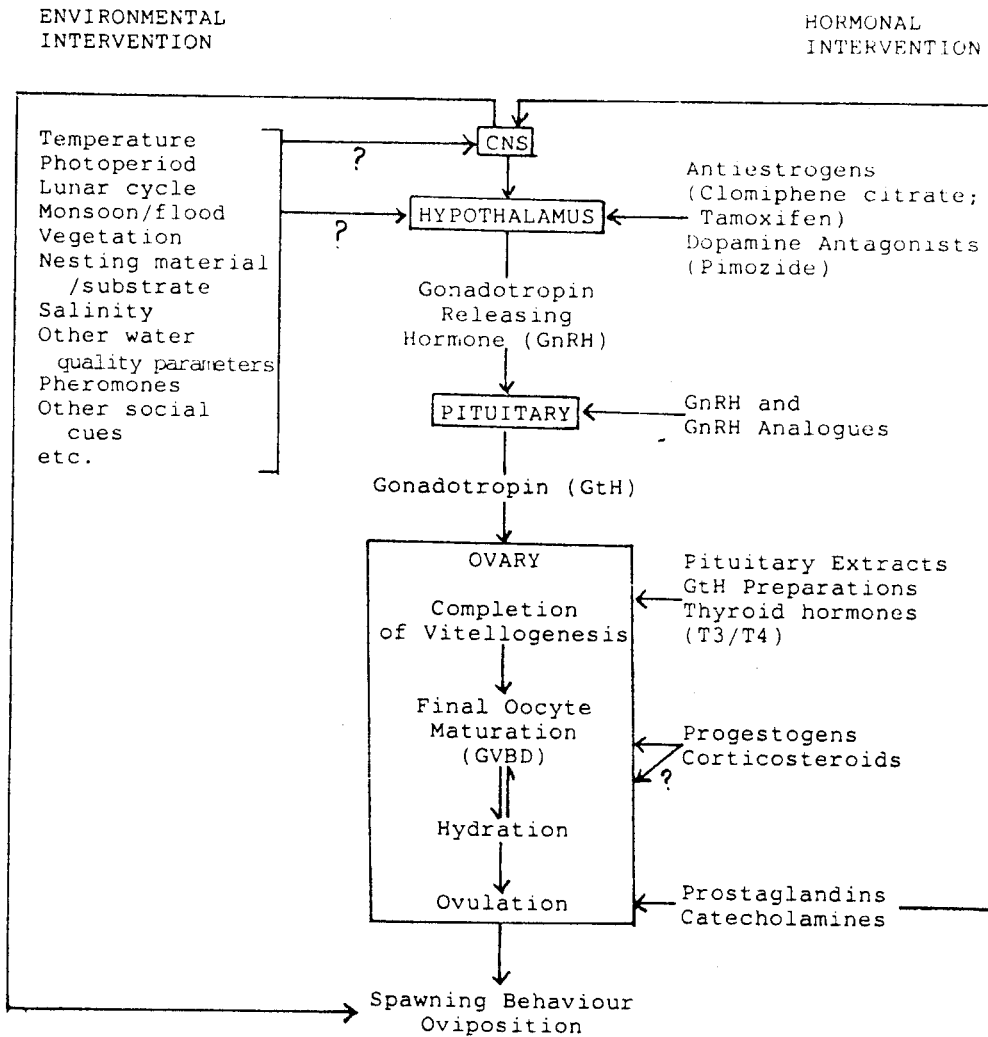
** Each age group has 10 experimental fish and 6 control.

表二 激素處理組與對照組間之成熟虱目魚尾數比較 (Lee *et al.*, 1986b)Table 2. Number of maturing fish in different groups (after Lee *et al.*, 1986b)

Group no.	Treatment	Maturing		Not maturing	Total	% of maturing fish
		Female	Male			
1	LHRH-A and testosterone	5	9	2	16	88
2	Sham control	0	1	3	4	25
2	LHRH-A	3	3	10	16	38
	Sham control	0	0	4	4	0
3	LHRH-A	2	1	7	10	30
	Sham control	0	0	4	4	0
4	Control	0	0	24	24	0

指出，LHRH-a 對日本大肚魚 (*Oryzias latipes*) 是否有效果，與其生殖腺之狀態無關，而與腦下腺的 GtH 產生能力有關。事實上，LHRH-a 與腦下腺抽出物或 HCG 的功能與機制 (Mechanism) 不盡相同 (如圖一)，因此，在促進魚類成熟排卵時，配合使用他種激素 (如甲基睪固酮)，將可增加其效果 (Lee *et al.*, 1986b)。

在本試驗中，有 6 尾雌魚達到卵巢成熟階段且順利排卵。平均卵徑為 0.76 mm 時，移入直徑 4 m 的八角池，每池一尾，同時，雌魚經 250 μg LHRH-a 液狀注射後，在 24 小時至 72 小時之間自然產卵。同時，每池移入先施以 300 IU HCG 注射之雄魚



圖一 激素與環境因子對於促進魚類成熟與排卵之交互關係 (Lam, 1985)
 Fig. 1. Hormonal and environmental intervention in induced fish spawning (after Lam, 1985).

3~4 尾。產卵時之平均卵徑為 1.16 mm (如表三)，其中第二尾由於產卵數量太少未予計算，其餘 5 尾產卵數目介於 43,700~649,600 粒間，但所有經由自然產卵所得之卵均未受精。虱目魚初期卵徑在 0.66 mm 以上 (半淡鹹水 0.72 mm 以上) 才能以激素促進其排卵 (Kuo, 1985)。許多研究者嘗試於卵徑 0.66 mm 以下進行多次催熟，均告失敗 (Liao *et al.*, 1979; Kuo *et al.*, 1979; Juario *et al.*, 1979)。然而，此次表三之第一尾卵徑在 0.64 mm 時予以注射處理，却能於 48 小時後順利自然產卵 (卵數 489,000，平均卵徑 1.13 mm)，可見 LHRH-a 微粒的影響相當顯著。又，依據 Lee *et al.* (1986b) 指出，虱目魚最適催熟卵徑為大於 0.80 mm (如表四)，而順利排卵受精時之卵徑為 1.248 ± 0.045 mm。不過，此次試驗催熟時之卵徑為 0.76 ± 0.08 mm，產卵時之卵徑為 1.16 ± 0.02 mm，二者之間有差異。

虱目魚已被證實為多次成熟、產卵的魚類 (Asynchronism) (林, 1984; Lee *et al.*,

表三 1986年東港分所飼養之虱目魚產卵記錄
Table 3. Record on spawning of milkfish in TML in 1986

Fish No.	Age	Hormone treatment		Egg dia. (mm) before	Eggs collection		
		Date	Injection or implantation dosage		Date	Est. No.	Diameter (mm)
1	9	Mar 25	Implantation*	0.635	May 15	489,000	1.130
		May 6	250 μ g LHRHa				
		May 13	Liquid				
2	9-10	May 27	Implantation*	0.742	May 25	Scarce	—
		Apr. 24	250 μ g LHRHa				
		May 21					
		May 24					
3	8-10	Mar. 27	Implantation*	0.847	Jun 21	42,700	1.185
		Apr. 24	250 μ g LHRHa				
		May 21	(China)				
		Jun 18					
4	8	Jun 18	250 μ g LHRHa (China)	0.785	Jun 21	499,500	1.175
5	8-10	May 24	1.0 ml Hoe 766 (500 μ g LHRHa)	0.830	May 25	649,600	1.175
6	8-10	May 24	0.5 ml Hoe 766 (250 μ g LHRHa)	0.728	May 25	399,600	1.151
Mean \pm SE				0.761 \pm 0.78			1.163 \pm 0.022

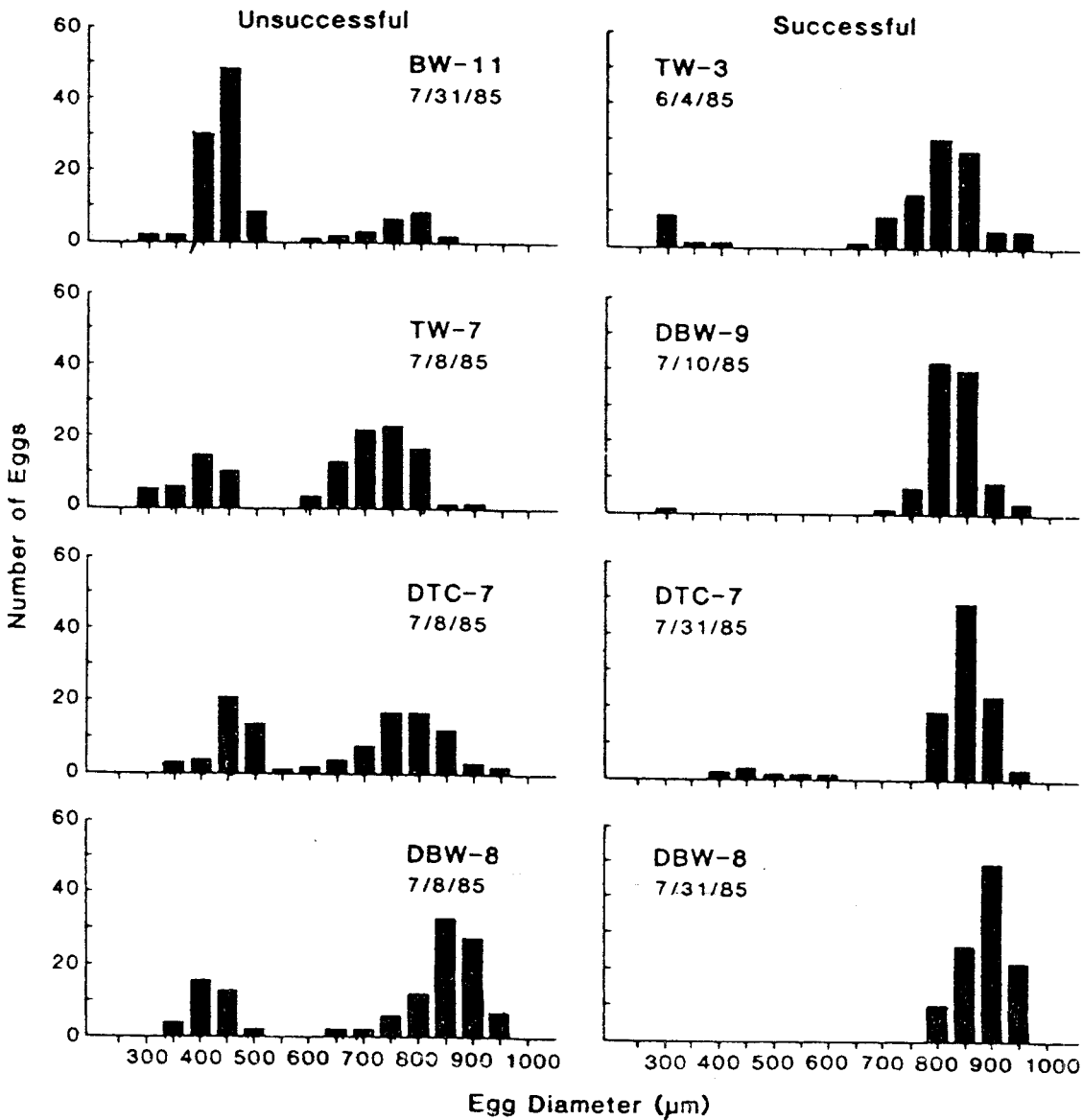
* Implantation of 200 μ g LHRH-a and 250 μ g 17 α -methyltestosterone.

表四 注射前之卵徑，以及產出之卵徑和卵數 (Lee *et al.*, 1986b)
Table 4. Egg size before injection, spawned eggs and number of eggs released in fertilized and unfertilized spawns (after Lee *et al.*, 1986b)

Fish ID	FL (cm)	Weight (kg)	Egg size (mm) (before)	Egg size (mm) (spawned)	No. of eggs released	Fertilization rate (%)
Fertilized spawns						
DBC-4*	67.0	4.90	0.790	1.269	770,000	95.0
BW-4	66.0	4.85	0.804	1.214	380,000	95.0
DBW-8	66.0	4.00	0.860	1.189	390,000	94.0
DBC-3	62.5	4.55	0.843	1.296	268,000	97.0
BW-4	66.0	4.85	0.826	1.225	520,000	94.0
DBW-9	62.0	3.85	0.859	1.232	184,000	14.0
TW-3	68.5	5.20	0.891	1.311	555,000	95.0
Mean \pm S. E.			0.839 \pm 0.035	1.248 \pm 0.045	400,000	
Unfertilized spawns						
TW-3*	68.5	5.20	0.785	1.202	59,000	0
DBC-8	62.0	4.10	0.887	1.264	236,000	0
DTC-7	62.0	3.65	0.830	1.147	61,500	0
TW-3	68.5	5.20	0.861	1.243	89,000	0
TW-12	64.0	4.40	0.806	1.125	90,000	0
TW-3	68.5	5.20	0.816	1.181	152,000	0
DBC-6	59.5	3.15	0.791	N/A	100	0
DBW-8	66.0	4.00	0.939	N/A	150,000	0
Mean \pm S. E.			0.839 \pm 0.053	1.194 \pm 0.054	104,700	

* Spawned with pellet implant. All others spawned with injections.

1986b), 因而在同一卵巢內含有二種以上大小不同的卵型。一般順利的排卵為卵粒單型分布 (Single modal distribution) 時行之, 而少數雌魚於雙型分布 (Bimodal distribution) 時亦會排卵, 但其小型卵粒的卵徑不超過 0.35 mm (如圖二, Lee *et al.*, 1986b)。本試驗的 6 尾產卵雌魚並未出現卵粒雙型分布。推測 5 尾順利排卵但未能受精的原因可能是: 1. 雄魚不够成熟, 2. 雄魚經過檢查 2~3 天後, 其精巢反呈再吸收現象, 3. 卵粒未充分成熟, 即因藥物刺激而排卵, 4. 其他環境因素, 如飼育池、產卵池之面積太小、水質不適等等所造成。



圖二 注射 LHRH-a (250 μg) 後的虱目魚個體卵徑頻度分佈圖 (Lee *et al.*, 1986b)
 Fig. 2. The observed egg size frequency distribution from individuals in which final maturation and spawning were attempted utilizing a single LHRH-a injection (250 μg). Successful spawns are presented in the right column and unsuccessful in the left (after Lee *et al.*, 1986b).

目前有關卵質方面的研究甚少，此項問題在水產養殖上為重要的一環，較簡單的步驟似應由受精率、孵化率及仔魚的活存率的評估着手。Crim *et al.* (1983) 發現以 LHRH-a 微粒刺激虹鱒所得的受精卵有很高的死亡率 (65%)。Billard *et al.* (1984b) 亦指出於虹鱒的產卵期間以 LHRH-a 和 pimozide 促其排卵，得到卵質不好的卵。大西洋鮭魚在產卵期前 45 天以 LHRH-a 促其排卵，所得的卵全為劣質卵 (Non-viable egg)，但在產卵期前 28 天處理之鮭魚，有一半雌魚排出好卵 (Crim and Glebe, 1984)。但 Lee *et al.* (1986b) 指出，以 LHRH-a 處理的虱目魚於 4~6 月開始產卵，其所排出的卵與正常產卵期 (6~8 月) 所排之卵並無顯著的差異。

至目前為止，尚無足夠的證據資料顯示 LHRH-a 比 HCG 或腦下腺抽出物對促進虱目魚成熟排卵較為有效，但使用 LHRH-a 有二個優點：1. 以微粒植入魚體，因其藥效持續性較久，故可避免種魚受到驚嚇。2. 藥效可自行依照種魚本身的生殖生理狀態而調整。至於虱目魚已能於池塘自然產卵、受精而孵化 (Lin, 1985) 之今天，是否借重 LHRH-a 促進虱目魚之成熟會有更好的效果，是一個值得討論的問題。不過，人為的應用激素，以促使虱目魚成熟、排卵，仍有二點極為重要的意義：1. 可提前或在生殖季節外促其成熟並達排卵，尤為重要者，可達成成熟過程的同步化。2. 可預期提供卵細胞或仔魚，以利推動基礎試驗，如卵質研究，或生物技術試驗，如孤雌生殖、多倍體等研究。因此，探討 LHRH-a 對虱目魚促進成熟的機制，以及確立 LHRH-a 之用量、用法，仍兼實質上及學術上之重要意義。尤其，針對他種魚類之促進成熟排卵上，探討 LHRH-a 所扮演的機制，仍有其必要性。

四、謝辭

本試驗承夏威夷海洋研究所李正森博士鼎力協助，日本北里大學鈴木敬二博士提供寶貴意見及東港分所同仁，尤其趙乃賢小姐、陳紫娛小姐、余磊光君及洪彩敏小姐諸多協助，一併致謝。

又，本試驗部分經費係由美國國務院國際開發總署 (USAID) (DAN-4161-A-00-4055-00) 計畫項下支付，謹此誌之。

五、引用文獻

- 林烈堂 (1984). 魚塢養成虱目魚種魚之人工繁殖研究，中國水產，第 378 期，3-24。
- 高橋裕哉 (1982). 卵黃形成と精子形成。日本水產學會編，魚介類の成熟、産卵の制御。恒星社厚生閣刊，日本，東京。49。
- Billard, R., Reinaud, P., Hollenbecq M. G. and Breton, B. (1984b). Advancement and synchronisation of spawning in *Salmo gairdneri* and *S. trutta* following administration of LRH-a combined or not with pimozide. *Aquaculture*, 43: 57-66.
- Breton, B. and Weil, C. (1973). Effects du LH/Fsh-Rh synthetique et d'extraits hypothalamiques du carpe sur la seretion d'hormone gonadotropein *in vivo* chez la carpe (*Cyprinus carpio* L.). *C. R. Acad. Sci. Ser. D.*, 277: 2061-2064.
- Chaudhuri, H., Juario, J. V., Primavera, R., Meteo, R., Samson, R., Crus, E. and Jarabejo, E. (1978). Observations on artificial fertilization of eggs and the embryonic and larval development of milkfish *Chanos chanos* (Forsskal).

- Aquaculture*, **13**: 95-113.
- Crim, L. W. and Cluett, D. J. (1974). Elevation of plasma gonadotropin concentration in response to mammalian gonadotropin releasing hormone (GRH) treatment in the male brown as determined by radioimmunoassay. *Endocr. Res. Commun.*, **1**: 101-110.
- Crim, L. W. and Idler, D. R. (1978). Plasma gonadotropin, estradiol, and vitellogenin and gonad phosphitin levels in relation to seasonal reproductive cycles of female brown trout. *Ann. Biol. Anim. Bioch. Biophys.*, **18**: 1001-1005.
- Crim, L. W. and Evans, D. M. (1980). LHRH-stimulated gonadotropin release from the rainbow trout pituitary gland: an *in vitro* assay for detection of teleost gonadotropin releasing factor(s). *Gen. Comp. Endocrinol.*, **40**: 283-290.
- Crim, L. W., Sutterlin, A. M., Evans, D. M. and Weil, C. (1983). Accelerated ovulation by pelleted LHRH-a analogue treatment of spring-spawning rainbow trout (*Salmo gairdneri*) held at low temperature. *Aquaculture*, **35**: 299-307.
- Crim, L. W. and Glebe, B. D. (1984). Advancement and synchrony of ovulation in *Atlantic salmon* with pelleted LHRH analog. *Aquaculture*, **43**: 47-56.
- Fontaine, M. (1976). Hormone and control of reproduction in aquaculture. *J. Fish. Res. Board Can.*, **33**: 922-939.
- Harvey, B., Nacario, J., Crim, L. W., Juario, J. V. and Marte, C. L. (1985). Induced spawning of sea bass, *Late calcarifer*, and rabbitfish, *Siganus guttatus*, after implantation of pelleted LHRH analogue. *Aquaculture*, **47**: 53-59.
- Hirose, K. and Ishida, R. (1974). Effects of cortisol and human chorionic gonadotropin (HCG) on ovulation in ayu *Plecoglossus altivelis* (Temminck and Schlegel) with special respect to water and ion balance. *J. Fish. Biol.*, **6**: 557-564.
- Juario, J. V., Natividad, M., Quintio, G. and Banno, J. (1979). Experiments on the induced spawning and larval rearing of the milkfish, *Chanos chanos* (Forsskal) in 1979. *SEAFDEC Aquaculture Dept. Quarterly Res. Rep.*, **3**: 1-3.
- Kent, J. S., Vickery, B. H. and McRae, G. I. (1980). The use of a cholesterol matrix pellet implant for early study on the prolonged release in animals of agonist analogues of leutinizing hormone-releasing hormone. Proc. Controlled Release of Bioactive Materials.
- Kuo, C. M., Nach, C. E. and Watanabe, W. O. (1979). Induced breeding experiments with milkfish, *Chanos chanos* (Forsskal) in Hawaiian waters. *Aquaculture*, **16**: 247-252.
- Kuo, C. M. (1985). A review of induced breeding of milkfish. In: C. S. Lee and I. C. Liao (eds.), *Reproduction and Culture of Milkfish*. Oceanic Institute, Hawaii, USA, pp. 57-77.
- Lam, T. J. (1984). Artificial propagation of milkfish: present status and problems. In: J. V. Juario, R. P. Ferraris and L. V. Benitez (eds.), *Advances in Milkfish Biology and Culture*. Island Publishing House, Metro Manila, Philippines, pp. 21-39.
- Lam, T. J. (1985). Induced spawning in fish. In C. S. Lee and I. C. Liao (eds.), *Reproduction and Culture of Milkfish*. Oceanic Institute, Hawaii, USA, pp. 14-56.
- Lee, C. S., Tamaru, C. S., Banno, J. E., Kelley, C. D., Bocek, A. and Wyban, J. A. (1986a). Induced maturation and spawning of milkfish, *Chanos chanos* Forsskal, by hormone implantation. *Aquaculture*, **52**: 199-205.

- Lee, C. S., Tamaru, C. S., Kelly, C. D. Kelly and Banno, J. E. (1986b). Induced spawning of milkfish, *Chanos chanos*, by a single application of LHRH-analogue. *Aquaculture*, **58**: 87-98.
- Lee, C. S. and Weber, G. M. (1983). Preliminary Studies on the maturation of milkfish *Chanos chanos* in an environmentally controlled system. Paper presented during the Second International Milkfish Aquaculture Conference, Iloilo, Philippines, 4-8 October.
- Liao, I. C., Juario, J. V., Kumagai, S., Nakajima, H., Natividad, M. and Buri, P. (1979). On the induced spawning and larval rearing of milkfish, *Chanos chanos* (Forsskal). *Aquaculture*, **18**: 75-93.
- Liao, I. C. and Chen, T. I. (1984). Gonadal development and induced breeding of captive milkfish in Taiwan. In: J. V. Juario, R. P. Ferraris and L. V. Benitez (eds.), *Advances in Milkfish Biology and Culture*. Island Publishing House, Metro Manila, Philippines, pp. 41-51.
- Lin, L. T. (1985). My experience in artificial propagation on milkfish—studies on natural spawning of pond-reared broodstock. In C. S. Lee and I. C. Liao (eds.), *Reproduction and Culture of Milkfish*. Oceanic Institute, Hawaii, USA, pp. 185-203.
- Vanstone, W. E., Tiro, L. B. Jr., Villaluz, A. C., Barnes, D. C. and Duenas, C. E. (1977). Breeding and larval rearing of milkfish *Chanos chanos* (Pisces: Chanidae). *SEAFDEC Aquaculture Department Tech. Rep.*, **3**: 3-17.
- Yamamoto, K. and Yamazaki, F. (1967). Hormonal control of ovulation and spermiation in goldenfish. *Gumma Symp. Endocrinol.*, **4**: 131-145.

A Study on the Induced Maturation and Spawning of Milkfish *Chanos chanos* by LHRH-analogue

Ching-Shan Cheng and I-Chiu Liao

*Tungkang Marine Laboratory, Tungkang,
Pingtung, Taiwan 92804, R. O. C.*

Milkfish, *Chanos chanos*, has been cultured for many years. It is a popular fish, particularly in the Southeast Asian region. In recent years, attempts have been made to improve milkfish culture. To induce spawning in captivity is one of the many attempts for improvement. Many methods have been tried. The use of injections of pituitary extract and human chorionic gonadotropin has been tried for many years. Although some success has been achieved, several problems still remain and current research is oriented in that direction.

In this study, luteinizing hormone-releasing hormone analogue (LHRH-a) was tested. Milkfish from 4-10 years of age were used. Six spawners over 8 years of age were induced to mature and spawned naturally. The procedure included 2-3 implantations and followed by liquid injections. On the other hand, very few spawners below 8 years of age were found to have matured.

Although no fertilized eggs were found, LHRH-a proved to be effective in inducing maturation for breeding of milkfish. Ecological characteristics and environmental factors are also significant considerations when inducing maturation in milkfish. However, it is apparent that age must be given considerable importance when attempting to induce maturation.

The significance of related researches cannot be discounted. These also were briefly discussed in relation to the present experiment.