

國立臺灣大學生命科學院漁業科學研究所



碩士論文

Institute of Fishery Science

College of Life Science

National Taiwan University

Master thesis

斑石鯛人工孵化繁殖與飼料中不同含量蛋白質對斑石鯛幼魚
成長與體組成之影響

Artificial Breeding, Rearing and Dietary Protein Levels on
Juvenile Growth of Spotted Knifejaw, *Oplegnathus punctatus*

林宗翰

Tsung-Han Lin

指導教授: 廖文亮 博士

冉繁華 博士

Advisor: Wen-Liang Liao, Ph.D,

Fan-Hua Nan, Ph.D.

中華民國 106 年 7 月

July, 2017

國立臺灣大學碩士學位論文
口試委員會審定書

斑石鯛人工孵化繁殖與飼料中不同含量蛋白質
對斑石鯛幼魚成長與體組成之影響

Artificial Breeding, Rearing and Dietary
Protein Levels on Juvenile Growth of Spotted
Knifejaw, *Oplegnathus punctatus*

本論文係林宗翰君（學號 R04b45003）在國立臺灣大學
漁業科學研究所完成之碩士學位論文，於民國 106 年 7 月 3
日承下列考試委員審查通過及口試及格，特此證明

口試委員：

廖文亮 (指導教授)

冉繁華 (指導教授)

沈士新

王亦松

漁業科學研究所所長 _____

謝辭



本論文承蒙指導教授 廖文亮博士、冉繁華博士於研究期間的指導，使學生於課業知識及為人處事方面受益良多，並於論文撰寫期間之批閱及斧正，使本論文得以順利完成，在此獻上最深的謝意。

口試期間承蒙海洋大學 沈士新博士、台灣大學 王永松博士於百忙之中細心校閱，不吝指正並惠賜卓見，使本論文更趨完備，特此致上最深謝意。

感謝涂智欽技士，自大二至今教導我許多活生物養殖知識並提供珍貴建議，使實驗順利進行，如父親般之照顧讓我找回學習方向；感謝漁科所同學漢唐、紹葳、博婷、郁閔於課堂生活上之交流與照顧；感謝學長政廷、宗樺、義峰在研究期間之陪伴以及實驗的鼎力相助，一起交流專業知識、度過低潮與失敗，謝謝你們對我的包容，榮幸有你們陪伴；感謝佳瑜學姊於研究期間之照顧與論文修正，希冀未來可以與各位一起精進養殖實務，共創美好未來；感謝養殖場幹部譽高、宇聰、坤諳、俊維、傑元、韋軒、舒甯、祖賢於養殖生物照顧及實驗操作之配合協助，彼此互相照應與養殖技術切磋，使我實驗順利完成。

最後感謝大學期間結識的大陸交換生暨好友一晗在我低潮時拉我一把，讓我有機會獲得更多學識資訊及人生哲理；謝謝兄弟藝臻和我一起分享生活點滴、人生規畫之建議、一起同甘共苦；謝謝土豪可望、白芍麗芳等友人在台灣及大陸期間的交流與相助，感謝你們的一路陪伴與支持，讓我在人生低潮時找到自己的核心價值、生活目標與自信心，願你們一同分享我的喜悅與成就。

中文摘要

本實驗分為二個部分：實驗一為開發斑石鯛人工孵化繁殖技術。實驗二為飼料中添加不同蛋白質對斑石鯛幼魚成長與體組成之影響。

實驗一對斑石鯛種魚藉由人工催熟使其性腺成熟，並培育斑石鯛，建立斑石鯛胚胎發育、仔稚魚形態發育及人工孵化繁殖餌料生物投餵序列。生殖季期間以塑膠軟管檢視種魚成熟度後，施打 HCG 1000 I.U./kg、LHRH - A2 20 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 促進其成熟後於傍晚昏暗時將斑石鯛雌魚取出擠卵後，再以斑石鯛精子進行人工授精，平均受精率為 $71.20 \pm 0.10\%$ ，受精卵為淡黃色、單一油球之浮性透明卵，受精卵平均直徑為 $1.03 \pm 0.04\text{ mm}$ ，油球徑為 $0.23 \pm 0.01\text{ mm}$ 。水溫 $23 \pm 1\text{ }^\circ\text{C}$ 下，受精後 3 hr 40 min 進入桑椹期；受精後 7 hr 50 min 進入原腸期；受精後 14 hr 25 min 進入神經胚期，受精後 15 hr 10 min 進入器官形成期；受精後 29 hr 30 min 胚胎孵化，剛孵出仔魚體標準長 $1.96 \pm 0.01\text{ mm}$ ，具一橢圓卵黃囊，長徑 $1.05 \pm 0.01\text{ mm}$ ；短徑 $0.65 \pm 0.01\text{ mm}$ ；油球徑 $0.21 \pm 0.01\text{ mm}$ ，孵化後第 3 天卵黃囊完全吸收，魚體標準長 $3.65 \pm 0.05\text{ mm}$ 。仔魚一開口可攝食輪蟲與橈腳類無節幼蟲，隨成長投餵較大體型之橈腳類幼生及成蟲，孵化後第 21 天進入稚魚期，第 23 天後增加餵食豐年蝦無節幼蟲，第 28 天除餵食餌料生物並開始以少量商業飼料馴餌，至第 44 天進入幼魚期，魚體標準長 $25.98 \pm 3.70\text{ mm}$ ，黑色



圓點數量增加，體色由乳白色轉為黑褐色，此時已可完全投餵商業人工飼料。斑石鯛仔魚與稚幼魚發育在水溫 26 ± 1 °C 下，第 44 天完成變態。

實驗二以紅魚粉為蛋白質來源，鱈魚肝油與玉米油為油脂來源，配製等油脂 (7%) 等能量之六組不同蛋白質 (35%、40%、45%、50%、55%、60%) 飼料投餵平均初重約 16 g 斑石鯛幼魚 8 週。結果顯示水溫 29 ± 1 °C 下，斑石鯛幼魚增重率在 $227.79 \pm 46.2\%$ - $477.47 \pm 24.42\%$ 之間，SGR 在 2.10 ± 0.26 - 3.13 ± 0.08 之間，FCR 在 1.05 ± 0.13 - 1.67 ± 0.49 之間，各成長指標隨著飼料蛋白質含量增加而增加，並在蛋白質含量 55% 組有最高增重率 ($477.47 \pm 24.42\%$)，與蛋白質含量 35% - 50% 組有顯著差異 ($p < 0.05$)，折線回歸求得最適蛋白質含量為 57.58%。增重率、飼料轉換率及特殊成長率在蛋白質含量 35% - 55% 時會隨著蛋白質含量增加而改善。蛋白質效率 (PER) 在 1.61 ± 0.24 - 1.91 ± 0.38 之間，隨著飼料蛋白質含量上升而下降，並在蛋白質含量 60% 組為最低 (1.61 ± 0.24)，各組之活存率最佳為 96%，飼料蛋白質含量 35% 組別之活存率為 36%，低於飼料蛋白質含量 40% - 60% 組別。

關鍵詞:斑石鯛、人工孵化繁殖、胚胎發育、仔稚魚發育、蛋白質需求

Abstract

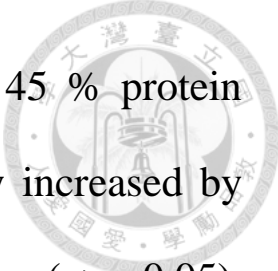


This study aims to promote artificial rearing and breeding techniques of *Oplegnathus punctatus* via record of embryonic ontogeny, larval and juvenile development and establishment of a feeding program for the species, and then assigned to experiment II to know the effect of dietary protein level on the growth and body composition of *O. punctatus* juvenile.

In the first trial, used the injection of hCG 1000 IU/kg BW and LHRH - α 20 μ g / kg treatment to induce spawning of female *O. punctatus* and were artificially fertilized from April to May 2017. The fertilized pelagic eggs are transparent with diameter of 1.03 ± 0.04 mm and single oil globule with diameter of 0.23 ± 0.01 mm. The eggs hatched in 30 hours after fertilization at 23 ± 1 °C. The newly-hatched larvae are 1.96 ± 0.01 mm in standard length. From 3 to 33 dph the larvae can be fed with rotifers and copepods enriched with *Nannochloropsis oculata* and *Tetraselmis chui*, bigger copepods and nauplii can be fed as larvae grows up. Metamorphosis occurred in 28 dph and artificial feed was mixed with artemia to train the larvae to accept. After 44 dph, the larvae

developed into juvenile stage with 26 mm in standard length.

In the second trial, *O. punctatus* juvenile with initial weight 16 g fed on six diets with same energy and lipid level (7 %) but different dietary protein levels of 35, 40, 45, 50 %, 55 % and 60 % for eight weeks. The result showed the weight gain were between 227.79 ± 46.24 % - 477.47 ± 24.42 %, specific growth rate (SGR) were between 2.10 ± 0.26 - 3.13 ± 0.08 , feed conversion ratio (FCR) were between 1.05 ± 0.13 - 1.67 ± 0.49 . Fish fed diet with 55 % protein has the highest weight gain (477.47 ± 24.42 %), and was significant higher than diets with 35 - 50 % protein ($p < 0.05$). Based on the weight gain using broken-line model analysis showed the optimal dietary protein level for *O. punctatus* juvenile with initial weight of 16 g cultured under 29 ± 1 °C is 57.58 %. Weight gain, SGR were between 2.10 ± 0.26 - 3.13 ± 0.08 and were improved with dietary protein increased from 35 % to 55 %. SGR in diets with 55 % protein was significant higher than diets with 35 - 50 % protein ($p < 0.05$). FCR were between 1.05 ± 0.13 - 1.67 ± 0.49 and improved with dietary protein increased. Fish fed 55 % has lowest FCR ($1.05 \pm$



0.13) and significant lower than groups fed 35 - 45 % protein diets. Coefficient factor (CF) was not significantly increased by dietary protein level among 40 - 60 % groups ($p > 0.05$). Hepatosomatic index (HSI) and viscerosomatic index (VSI) was not generally affected with dietary protein. Crude protein in muscle increased with increasing dietary protein. Crude lipid and Ash in muscle was not significantly affected with dietary protein among 40 - 60 % groups.

Key words: *Oplegnathus punctatus*, spotted knifejaw, artificial breeding, embryonic development, larval development, dietary protein requirement.

目錄



口試委員審定書	i
謝辭	ii
中文摘要	iii
英文摘要	v
目錄	viii
表目錄	ix
圖目錄	xi
前言	1
文獻整理	3
材料方法	27
結果	38
討論	50
結論	72
參考文獻	73

表目錄



Table 1. The optimal protein level and protein source of fish.	103
Table 2. Composition of experimental diets for juvenile spotted knifejaw of experiment 2.	108
Table 3. Embryonic development of <i>Oplegnathus punctatus</i> from fertilization to newly hatched larvae at 23 ± 1 °C.	109
Table 4. The initial, final weight, weight gain, FCR, SGR, FI, PER (mean \pm S.D.) and survival of <i>Oplegnathus punctatus</i> of experiment 2 in 8 weeks.	111
Table 5. CF, VSI and HSI of spotted knifejaw (<i>Oplegnathus punctatus</i>) of experiment 2 in 8 weeks.	112
Table 6. Proximate analysis of muscle of spotted knifejaw (<i>Oplegnathus punctatus</i>) of experiment 2 in 8 weeks.	113

圖目錄



Figure 1. Broodstock of spotted knifejaw (<i>Oplegnathus punctatus</i>).....	114
Figure 2. Oocyte of spotted knifejaw (<i>Oplegnathus punctatus</i>) before hormonal treatment.	114
Figure 3. Morphological changes of female spotted knifejaw (<i>Oplegnathus punctatus</i>) after hormonal treatment.	115
Figure 4. Cloaca of mature female spotted knifejaw (<i>Oplegnathus punctatus</i>) before spawning.	115
Figure 5. Embryonic development of <i>Oplegnathus punctatus</i> from fertilization to high blastula stage at 23 ± 1 °C.....	116
Figure 6. Embryonic development of <i>Oplegnathus punctatus</i> from low blastula stage to organogenesis at 23 ± 1 °C.....	117
Figure 7. Embryonic development of <i>Oplegnathus punctatus</i> from organogenesis to Pre-hatching stage at 23 ± 1 °C.....	118
Figure 8. The morphological changes of <i>Oplegnathus punctatus</i> in larval stage at 26 ± 1 °C.....	119

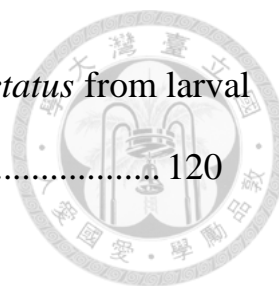


Figure 9. The morphological changes of *Oplegnathus punctatus* from larval stage stage to Metamorphosis stage at 26 ± 1 °C 120

Figure 10. The morphological changes of *Oplegnathus punctatus* from Metamorphosis stage to juvenile stage at 26 ± 1 °C 121

Figure 11. The development of caudal fin skeletons in *Oplegnathus punctatus* from 2 dph to 21 dph stage at 26 ± 1 °C 122

Figure 12. Development of vertebral column, dorsal fin and anal fin in *Oplegnathus punctatus* from 11 dph to 21 dph stage at 26 ± 1 °C. 123


Figure 13. Feeding program and growth of *Oplegnathus punctatus* at 26 ± 1 °C from 0 to 54 days post-hatch..... 124

Figure 14. Broken - line regression of weight gain (y) on dietary protein level (x) of juvenile *Oplegnathus punctatus* (initial TW > 16 g) in experiment II in 8 weeks 125

前言



斑石鯛 (*Oplegnathus punctatus*) 屬於條鰭魚綱 (Actinopterygii)、新鰭魚亞綱 (Neopterygii)、鱸形目 (Perciformes)、鱸亞目 (Percoidei)、石鯛科 (Oplegnathidae)、石鯛屬 (*Oplegnathus*) 的魚類 (沈, 1993), 全世界共有七種石鯛。台灣物種名錄資料顯示, 台灣海域所產的石鯛屬只有條石鯛 (*O. fasciatus*) 與斑石鯛 (*O. punctatus*) 兩種。石鯛主要分布於太平洋和印度洋沿岸, 包括台灣、日本、韓國、中國、夏威夷等熱帶、亞熱帶的沿近海礁岩岸及珊瑚礁區 (林等, 2013)。斑石鯛, 牙齒尖利, 可以咬碎貝類、龍蝦、海膽等的堅硬外殼, 食用價值極高, 肉質細膩, 口感獨特, 富含多種氨基酸與不飽和脂肪酸, 在日本料理中具有「刺身絕品」之譽 (尤等, 2015)。大陸市場上流通的斑石鯛苗 8 cm 可達 16 元人民幣, 每公斤售價約 600 元人民幣以上, 屬高經濟價值魚種, 因此建立斑石鯛人工繁養殖及魚苗培育技術則相當重要。全球氣候變遷影響下, 澎湖 2008 及 2011 年冬天, 出現歷年來少見的淺海寒災, 受到冬季強勁的東北季風及持續性的低溫海水影響, 不管是澎湖海域的野生魚類, 或是箱網養殖魚類都傳出大量凍死的災情。兩次寒害凍死的魚類多達 64 科 183 種 (呂, 2012; Hsieh *et al.*, 2008), 其中未見石鯛科魚種, 可知石鯛可耐受澎湖冬季的低溫海水, 因此石鯛有潛力成為未來海洋箱網養殖的新興對象魚種之一 (林等, 2013)。



水產養殖業最重要的成本主要有二項，分別是飼料成本及種苗成本（鄭，2006），其中最昂貴的主要成分為蛋白質（Shiau and Lan, 1996），其中魚粉為水產飼料之主要成分，為飼料中動物性蛋白質的主要來源，其價格高低都直接影響生產成本。現今因氣候變遷導致國際魚粉價格不段攀升，飼料成本提高而獲利減少，飼料配方中首重蛋白質含量，若飼料蛋白質過低將造成水生生物生長下降，含量過高則使生物將過多蛋白質作為能量消耗而無法合成體蛋白造成蛋白質利用上的浪費。因此本研究分為二個部分：實驗一探討斑石鯛人工孵化繁殖技術，觀察其胚胎發育仔稚魚之發育過程並建立餌料生物投餵次序，並將培育之幼苗育成。實驗二以魚粉做為主要飼料蛋白來源，配置不同蛋白質含量，等油脂等能量的飼料投餵斑石鯛，探討其幼苗成長率及體組成的影響，以推估飼料最適蛋白質添加量。

文獻整理



一、斑石鯛 (*Oplegnathus punctatus*) 之簡介

1. 斑石鯛的分類及形態特徵

輻鰭魚綱 Class Actinopterygii

新鰭魚亞綱 Subclass Neopterygii

鱸形目 Order Perciformes

鱸亞目 Suborder Percoidei

石鯛科 Family Oplegnathidae

石鯛屬 Genus *Oplegnathus*

斑石鯛 *Oplegnathus punctatus*

(沈，1993)

斑石鯛，又俗稱斑鯛、黑金鼓 (張等，2015)，英文名為 Spotted knifejaw。斑石鯛外型延長呈橢圓形，側扁而高。頭小，前端鈍尖。吻短，眼大側位。頷齒癒合成鸚鵡喙狀，鋤骨和齶骨均無齒。前鰓蓋骨後緣具鋸齒；鰓蓋骨上具 1 扁小棘。體被細小櫛鱗，吻部、眼間隔及頰部無鱗，各鰭基底均被小鱗；背鰭單一，硬棘 XII，軟條數 17；臀鰭硬棘 III，軟條數 12 - 13；尾鰭截形。體灰褐色，有銀白光澤。頭部、體側、胸鰭及各奇鰭基部分佈許多黑斑，幼魚的體色較淡呈褐色；各鰭暗色，最大體長 86 cm (沈，1993)。斑石鯛肉質細膩，口感獨特，



富含多種氨基酸與不飽和脂肪酸，食用價值極高，在日本料理中具有刺身絕品之稱 (尤等，2015)。文獻指出，斑石鯛肌肉中多不飽和脂肪酸百分比含量為 35.24 %，DHA 和 EPA 含量分別為 12.4 % 和 3.72 %；肌肉中礦物質元素 Ca，Mg 和 P 的含量分別為 720，1510 $\mu\text{g/g}$ 和 9930 $\mu\text{g/g}$ ，微量元素中鋅的含量最高 (15 $\mu\text{g/g}$)，其次為鐵 (4.9 $\mu\text{g/g}$)。斑石鯛肌肉中富含必需氨基酸且 DHA 和 EPA 及礦物質元素含量豐富，是營養價值較高的優質食用魚類 (王等，2016)。


2. 地理分佈

斑石鯛分佈於太平洋區，包括夏威夷群島、關島、澳洲、菲律賓、臺灣、日本，及中國大陸沿海等。臺灣北部、東部、西部、南部及離島之岩礁，珊瑚礁區皆產。模式種產地於日本長崎 (沈，1993)。

3. 生態習性

斑石鯛為溫熱帶沿近海魚類，棲於近海珊瑚岩礁 20 - 100 m 海底區域，幼魚隨著海藻漂移。斑石鯛為肉食性，齒銳利，可咬碎貝類、龍蝦或海膽等堅硬之外殼 (沈，1993；尤等，2015)，因此又俗稱海膽鯛、黑嘴、硬殼仔 (林等，2013)，斑石鯛在天然海域中全年皆產，主要漁法為底拖網、延繩釣及手釣，全年皆產，無明顯盛漁期。台灣南部地區較多，產量不大 (沈，1993)。

4. 生長特性



斑石鯛生存水溫為 6 - 32 °C，適宜生長水溫為 22 - 28 °C，其生命力強，生長速度快、抗逆性強，適於箱網、池塘及工廠化等養殖環境 (尤等, 2015)。文獻指出，以中國海南省三亞地區養殖斑石鯛為例，斑石鯛經過半年飼養體重可達 500 g (張等, 2015)。另有文獻指出，日齡 68 天的斑石鯛稚魚 (全長 5.3 ± 0.3 cm，體重 3.6 ± 0.7 g)，在平均水溫 25.3 °C 條件下，投餵配合飼料，經過 254 天的養殖，平均體重可達 659 g，養殖活存率 94%，餌料係數 1.67 (川辺與木村, 2007b)，斑石鯛生長迅速，初重 3.6 g 種苗經過 10 - 12 個月養殖，體重可達 450 - 500 g (尤, 2015)。

5. 生殖特性

石鯛為雌雄異體 (區等, 2014)，5 - 6 齡魚即可達成熟體型，在全長 43.4 - 59.1 cm，體重 1.9 - 5 kg 即可成功自然產卵，生殖期介於 4 月底至 6 月底，水溫 21.1 - 24.6 °C 之春末夏初之際 (川辺與木村, 2007a)。斑石鯛性成熟時，雄魚身體斑紋消失體色轉為黑色，並出現白斑；雌性個體身體斑紋明顯且身體轉為灰褐色，且二性別成熟者嘴喙皆轉白色。雄魚成熟體型較雌魚大 (道津與夏苜, 1967)。藉由種魚餌料添加大豆卵磷脂、磷蝦、冷凍魷魚、竹筴魚及綜合維生素進行營養強化即可使之自然產卵 (川辺與木村, 2007a)。藉由延長光照週期及人工升溫處理可將其生殖季提前至 2 個月 (熊井, 2005)。



6. 斑石鯛幼苗培育


王 (2015) 報告指出，斑石鯛受精卵於水溫 22 ± 1 °C 及海水鹽度 29 ± 0.5 ppt 的孵化條件下，經過 32 hr 左右孵化。孵化的幼苗全長 3.49 ± 0.12 mm，至第三天魚苗全長 3.81 ± 0.12 mm，此時卵黃囊消失，消化道形成，肛門與外界接通；上下頷開啟，仔魚開口並攝食輪蟲，第四天魚鰾開始發育，17 dph (days post hatch) 稚魚全長 5.66 ± 0.21 mm，此時在投餵餌料時，其搶食行為增加。消化能力加強，開始由輪蟲向豐年蝦、橈腳類等生物餌料過渡，50 dph 幼魚全長 43.00 ± 0.52 mm，此時的幼魚體型接近成魚，幼魚體被櫛鱗，與成魚型態一致，文獻指出，以海洋擬球藻、濃縮小球藻、 β -胡蘿蔔素及酵母二次培養後之輪蟲投餵斑石鯛幼苗可改善其孵苗後期 (15 dph) 活存率低的問題 (藤田等, 1999；織田等, 2000；高野瀨等, 1999, 2000, 2002)，川辺與木村 (2007b) 指出，斑石鯛後期培育階段，尚須適當調整幼苗蓄養密度以及餌料營養強化，可有效降低幼苗殘食以及營養不良現象。

7. 斑石鯛養殖現狀

斑石鯛之自然產卵由日本近畿大學首次成功，並指出斑石鯛生長速度較條石鯛快 (原田等, 1979)。此後於鹿兒島縣栽培漁業中心藉由生餌投餵斑石鯛種魚，每年皆可採集大量受精卵做為孵化繁殖 (富安等, 1994, 1995)。宮下 (2000) 指出，斑石鯛具備：(1). 成長速度快 (2). 市



場價格昂貴 (3). 飼料效率佳等優點，因此未來推廣斑石鯛之人工繁養殖極具市場潛力，石橋 (2000) 指出，斑石鯛除了可作為單養物種，亦可與鰺魚 (*Seriola quinqueradiata*) 作為混養對象。然而，斑石鯛養殖過程中有諸多瓶頸待克服，文獻指出，斑石鯛幼苗養殖過程容易受貝尼登吸蟲 (*Neobenedenia Girellae*)、海水白點蟲 (*Cryptocaryon irritans*) 及卵圓鞭毛蟲 (*Amyloodinium ocellatum*) 感染 (張等, 2015; 范, 2016; 川辺與木村, 2007b)。當飼養水溫超過 23 °C 時，斑石鯛幼苗容易感染上皮囊腫症 (Epitheliocystis disease)，另外對神經壞死病毒 (NNV)、斑石鯛虹彩病毒 (SKIV) 具感染性 (中村等, 1988; 高野瀨等, 2001; Egusa *et al.*, 1987; Dong *et al.*, 2010)。因斑石鯛生長快速，養殖過程需針對不同階段調整蓄養密度，其中過高蓄養密度容易造成斑石鯛魚苗生長停滯，並且因個體間成長速率差異而發生殘食 (愛媛県水産試験場, 1994; 川辺與木村, 2007a,b)，富安等人 (1994) 指出，斑石鯛幼苗培育時期容易因餌料營養不良造成幼苗畸形，近年日本針對斑石鯛繁養殖之飼育水槽、受精卵採集、受精卵消毒、飼育水溫、種魚及幼苗餌料之投餵流程、幼苗中間育成皆已詳細紀載 (原田等, 1979; 川辺與木村, 2007a,b)。中國於 2014 年首次於山東萊州明波水產有限公司藉由人工調控促進斑石鯛種魚性腺成熟，使其排卵受精且成功培育幼苗，並在中國南北方推廣規模化養殖 (王, 2015)，更發展至中國海南省熱帶地區養殖 (張




等, 2015), 養殖方式主要有箱網養殖及室內循環水養殖 (尤等, 2016)。文獻指出, 中國海南三亞地區養殖斑石鯛試驗為例, 蓄養水溫高於 31 °C 時, 斑石鯛攝食性減弱且易染海水白點蟲症 (張, 2015)。目前斑石鯛研究主要為病害檢測、分子生物學、胚胎發育、換肉率與肌肉營養成分分析及養殖模式研究 (尤等, 2015; 張等, 2015; 王等, 2016; 奉等, 2016; Dong *et al.*, 2010; Shuang *et al.*, 2013)。然而, 其幼苗最適生長營養配合飼料需求尚未有基礎研究。

四、魚類孵化繁殖

1. 種魚培育

種魚 (Broodstock) 為水產養殖產業中, 以生產子代為主要用途的成熟個體, 在人工管控之蓄養環境中生產子代以取代野外採集來源, 或以放流來增加野外資源量。種魚來源有野外捕捉 (Wild caught, WC) 及人工培育 (Captive breeding, CB)。魚類由於受到產季環境等因素導致產卵質與量不穩定, 對其人工孵化繁殖是主要障礙 (Kjorsvik *et al.*, 1990)。野外捕捉個體對人為飼養環境會產生不適應, 因此需要一至二年的人工馴化與滋養, 方可將產能有效提升, 種魚繁殖表現亦與其年齡與產齡有很大關係, Bromage *et al.* (1988) 指出虹鱒 (*Oncorhynchus mykiss*) 於第二次產季產下之發眼卵活存率相對第一次產季較高。種魚馴養在人工環境下, 光週期、水溫及微生物等因素會對受精卵品質產



生影響 (Brooks *et al.*, 1997; Wang *et al.*, 2010)。其中光週期與溫度是控制溫帶地區魚類生殖週期的主要因素 (Wang *et al.*, 2010)。飼料中的必需脂肪酸種類與含量是影響種魚繁殖表現的因素之一，投餵生餌或種魚專用飼料可提升種魚產能 (Watanabe *et al.*, 1984a, b)。

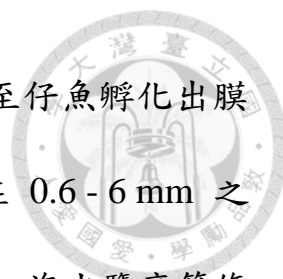
2、受精卵

水生動物胚胎發育過程中以大洋浮性卵 (Pelagic egg) 為型態之一，其具備較薄的片狀絨毛膜及均勻的卵黃，可在較短時間內孵化 (Lønning *et al.*, 1988)。Ikeda *et al.* (1991) 指出，黑鯛 (*Acanthopagrus schlegelii*)、嘉鱾 (*Pagrus major*) 等魚之浮性卵，產卵後受精卵在 24 °C 下，約 20 hr 孵化；不同種間浮性卵外型與構造幾乎一致，難以區分種類，僅能依據卵徑判別，或以孵化法 (Rearing method) 判斷魚花種類，浮性卵具備略小於海水的比重，在鹽度 30 ppt 以上之海水中可漂浮於水面，並隨潮汐及海流漂移，可有效均勻分散於環境中或遷徙至其他海域，漂浮於水面亦可避免底棲掠食者捕食 (盧，2016)。

3. 魚類早期發育各階段劃分


根據報告指出，魚類的早期發育階段可分化為胚胎期、仔魚期、稚魚期 (變態期)、幼魚期四個階段 (徐，1984；于，2008；何，2011；Kendall *et al.*, 1984; Falk-Petersen, 2005)。

(1). 胚胎期 (The egg stage, embryo stage)



胚胎期指精卵結合為合子後，受精卵快速分裂直至仔魚孵化出膜的發育過程。海水硬骨魚的卵多為浮性卵，卵徑大小在 0.6 - 6 mm 之間 (于，2008)，受到遺傳因素、孵化水溫、水流速度、海水鹽度等條件影響，各種魚類的胚胎發育時間不盡相同，如牙鯨 70 hr 左右，條石鯛 30 hr 左右，而鮭鱒類通常持續幾週，狼魚的胚胎期則需要持續幾個月 (Pavlov, 1986)。根據胚胎發育的場所以及胚胎期營養物質的來源，魚類的生殖方式主要有卵生、卵胎生、胎生。卵生方式普遍存在於大多數魚類中，將成熟的配子排到水中，體外受精，以卵黃囊內存儲的有機物質作為營養來源維持胚胎發育過程；卵胎生方式多見於鯊、鰻、魷、鱈等繁殖力較低的軟骨魚類，卵胎生的胚胎發育所需營養物質由卵黃提供，呼吸則靠母體；胎生方式主要存在於板鰓類中，胚胎發育過程的營養不僅依靠卵黃囊供應，同時依賴於類似哺乳動物的胎盤狀衍生物與母體發生物質交換 (樓，1996)。依據 Kimmel *et al.* (1995) 對斑馬魚胚胎發育過程的描述，一般可將魚類胚胎發育劃分為：


- (1). 合子期 (Zygote period)，精卵結合，形成受精卵；
- (2). 卵裂期 (Cleavage period)，受精後短時間內合子快速分裂形成多細胞；
- (3). 囊胚期 (Blastula period)，分為低囊胚和高囊胚階段；
- (4). 原腸期 (Gastrula period)，發生原腸作用，三胚層形成；
- (5). 器官形成期 (Segmentation period)，重要功能器官原基出現；
- (6). 孵化期 (Hatching



period), 胚胎為最後的破膜孵化做準備 (Kimmel *et al.*, 1995)。硬骨魚的卵母細胞在最終的成熟階段，會吸收周圍的水分，發生水合作用而變充盈有浮性。諸如鱈魚、鮭魚類等海水魚類，其卵細胞經過水合作用後水分可高達 92 %，因此卵細胞的浮性主要來自於含水量，而非油脂類 (Craik and Harvey, 1984)。受精結束後的短暫時間內，細胞質移向動物極一端成為胚盤，並進行盤狀卵裂。經過數次分裂之後，細胞成團狀無法記數，並進入囊胚期，隨著發育的進行，胚盤的部分細胞與卵黃邊緣融合，形成具有多核結構的卵黃多核層。卵黃囊在胚環下包作用下進入體腔，在卵黃多核層的介導下，於胚胎發育過程提供能量 (Timmermans, 1987)。原腸期是形成動物內部生理結構和外部形態的重要階段。囊胚期之後，胚環局部增厚為胚盾，胚環沿卵黃囊下包，形成卵黃栓，即未來的胚孔，原腸作用開始。原腸胚時期，胚胎細胞高度重組為三胚層並形成胚體的早期結構 (Lilianna Solnica-Krezel, 2005)。

(2). 仔魚期 (The larval stage)

仔魚期是從胚體孵化出膜到鰭膜消失，各運動器官功能完善的階段為止，此階段主要依賴浮游方式生活。根據卵黃囊是否退化，仔魚期可分為前期仔魚 (有卵黃囊, pre-larval stage) 和後期仔魚 (卵黃囊消失, post-larval stage)(于, 2008; 王, 2015)。前期仔魚未開口，口、肛



門未與外界接通，無法攝取外源食物，只依賴卵黃囊、油球作為營養來源供其生長發育，身體呈現透明，眼部色素較淺，前期仔魚期由於攜帶卵黃囊，又稱之為卵黃囊期 (The yolk sac stage)(Falk-Petersen, 2005)，卵黃囊期持續的時間在各種海水魚中不一致，條石鯛為孵化後 4 天 (于，2008；何 2011)，條斑星鰈孵化後 7 天 (柳等，2009)，大菱鯪孵化後 4 天 (佟，2010)。仔魚階段的個體，鰓仍處於發育過程中，需要依靠皮膚細胞與外界環境進行離子交換和氣體交流，來維持滲透壓平衡和呼吸作用 (Peter, 2007)；後期仔魚卵黃囊、油球消失，開口攝食，仔魚開始巡遊運動。初孵仔魚的眼睛一般無色素沉著，作為視覺性捕食者，隨著仔魚開口攝食，視杆細胞和視錐細胞功能逐漸完善並具有視覺功能 (O'Connell C.P., 1981; Blaxter, 1986)。剛孵化出來之仔魚在吸收完卵黃囊內營養後，其營養來源改為向外界攝取，而這些外在營養物質，稱為營養源 (Kohno *et al.*, 1990; 1997)。營養源大致上分為二大類，一種為天然餌料；水域中的天然餌料係指水生動、植物或動、植物的屍體以及一些微生物和有機碎屑等，這些有機物質中，具生命現象並且可當作餌料的動物或植物均統稱為餌料生物；另一種為人工飼料：已選擇優良的完全配方飼料替代餌料生物，提供魚苗所需的各種營養 (鄧，2008)。


(3). 稚魚期 (The Transformation stage)



多數硬骨魚發育過程中，仔魚和幼魚之間有一個明顯的體型結構變化的階段，稱為稚魚期。又稱變態期 (Metamorphosis)(Falk-Petersen, 2005)。在鯡鱈類，變態期非常明顯，伴隨著器官的不對性分佈並開始底棲生活。變態期主要有兩個變化：(1). 仔魚形態特徵的消失；(2). 幼魚特徵的出現，包括：色素樣式、體型、鰭變化（如鯡科和鯷科）、發光器官的形成、背棘、頭棘的退化（鮭科、金鱗魚科）、眼睛的遷移（鯡鱈類）、鱗的形成 (Kendall *et al.*, 1984)。硬骨魚在稚魚期，最大的特點是快速的生長和發育，此時的生長主要表現為肌肉組織中蛋白的沉澱和肌肉成分和形態的變化使此時魚體形態結構明顯改變，魚鰭條的進一步發育完善，促使稚魚的游泳能力增強，稚魚期不僅其外部形態結構上會發生明顯變化，個體的內部生理器官的功能趨近完善，如內分泌系統消化系統、循環系統、免疫系統、性別決定、分化的關鍵時期。因此稚魚階段有時亦稱為前幼魚階段 (王, 2015; Hubbs, 1943; Inui *et al.*, 1985; Miwa and Inui, 1991; Yamano *et al.*, 1991; Miwa *et al.*, 1992; Tanaka *et al.*, 1995; Padrós and Crespo, 1996; Fournier *et al.*, 2000; Gavlik *et al.*, 2002; Gisbert *et al.*, 2004; Applebaum *et al.*, 2004; De Assis *et al.*, 2004; Perez-Casanova *et al.*, 2006)。

(4). 幼魚期 (Juvenile)

幼魚時期之個體和成年個體除了體型大小外，在外部形態各方面均保持一致。幼魚期的個體性腺尚未成熟，不具備一般的副性徵，幼



魚期的長短和棲息場所、季節等外部環境的變化有著重要的關係。條石鯛稚魚經常棲息於沿海水域，隨著海藻漂移，長成後遷移至岩礁地帶 (Mundy, 2005)。Tamaki (1995) 指出條石鯛稚魚期具群遊性，在一定水域不分散而成群生活，棲息於海藻區域時會形成較大之族群；岩礁地區則相反，小族群會定棲於同一棲地；大族群則具遷移行為，若成群條石鯛長時間棲息於同一地區，則會轉成數個小族群定棲。幼魚期的個體會利用所攝取的營養物質進行蛋白儲備，使個體快速的生長發育，由於天敵的捕食、種內的殘食、疾病發生、環境變化等外在因素影響，幼魚階段也是死亡率高的時期 (王，2015)。

五、植物性餌料生物

微藻種類繁多，廣泛的存在於淡水、半淡鹹水及海水中，可行光合作用且為整個生物圈中重要的初級生產者 (De Pauw and Pruder, 1984)，目前普遍使用於醫學保健食品、污染防治及水產養殖中。微藻在分類上依據所含的光合成色素、儲藏物質及細微構造可分為九大門：藍綠藻們 (Cyanophyta)、綠藻門 (Chlorophyta)、金褐藻門 (Chrysophyta)、隱藻門 (Cryptophyta)、矽藻門 (Bacillariophyta)、裸藻門 (Euglenophyta)、定鞭藻門 (Haptophyta)、綠鞭藻門 (Prasinophyta)、甲藻門 (Pyrrophyta or Dinophyta)。本實驗一所使用之微藻分別為金藻門的海洋擬球藻 (*Nannochloropsis oculata*) 與綠藻門的周氏扁藻




(*Tetraselmis chui*)。

1. 海洋擬球藻

海洋擬球藻(*Nannochloropsis oculata*)屬金藻門(Chrysophycophyta)、針眼點藻綱 (Eustigmatophyceae)、真眼點藻目 (Eustigmatales)、單株藻科 (Monodopsidaceae)。為小球體細胞，無細胞壁、鞭毛、眼點及葉綠柄 (girdle lamella)構造；直徑為 2 - 5 μm 。溼重檢測下其蛋白質含量占 50 %、EPA 30 %；內含色素為葉綠素 a 及類胡蘿蔔素。養殖方面多應用於壺形輪蟲滋養及海水魚苗之投餵；亦可直接投餵當作牡蠣、文蛤、淺蜆及真參幼生餌料。培養之鹽度範圍 20 - 35 ppt；光度為 1000 - 12000 Lux 間；溫度 10 - 35 $^{\circ}\text{C}$ ，以 25 - 31 $^{\circ}\text{C}$ 最佳，pH 值 7.5 - 8.8 (蘇，1999；趙等，2002)。

2. 周氏扁藻

周氏扁藻 (*Tetraselmis chui*) 屬綠藻門 (Chlorophycophyta)、綠色鞭毛藻綱 (Prasinophyceae)、綠色鞭毛藻目 (Prasinocladales)、綠色鞭毛藻科 (Prasinocladaceae)，直徑為 8 - 16 μm 。藻體型態為橢圓或卵圓形，細胞內有一杯狀並呈現綠色之色素體，其為葉綠體，細胞後端有一蛋白核。杯狀缺口處伸出四根等長鞭毛，具備橙紅色眼點。乾重下蛋白質可達 74 %，碳水化合物為 21 %，脂質僅含 4 %。18:1 n-9 含量為 33 %；EPA 含量不高，僅為 4 %。內含色素為葉綠素 a、b、 β 胡蘿蔔素




及管藻黃素 (Siphonoxanthin)。養殖應用方面常見魚投餵輪蟲及海水魚苗；亦有投餵魚貝介類之軟體動物及種苗培育，培養溫度為 15 - 30 °C，以 25 °C 最佳；鹽度 10 - 40 ppt 下皆能增殖，30 ppt 下增殖效果最佳。光照強度為 500 - 10000 Lux 間 (蘇，1999；趙等，2002)。

六、動物性餌料生物


水產種苗的人工繁殖過程中，由於剛孵化的魚蝦貝幼苗由於消化系統分化不全，大多數剛孵化的魚、介、貝幼苗無法消化及代謝配方飼料，因此種苗幼生的營養是許多魚介貝類生產工業化的瓶頸，雖在魚苗初期階段已有開發專用配合飼料，尚無法完全取代天然餌料生物 (Watanabe and Kiron, 1994)，因為天然浮游動物體內富含可消化的營養，並含大量消化酵素，可幫助魚苗分解其攝食的食物。適當的餌料的選擇標準為營養成分及消化酵素含量高、配合幼生之適口性、營養需求，來源容易取得以及短時間可大量生產供應，以食用或研究中之動物性餌料如輪蟲、豐年蝦、橈腳類、枝角類、線蟲、絲蚯蚓等，其中最普遍應用的種類為輪蟲、橈腳類及豐年蝦 (蘇，1999)。

1. 褶皺臂尾輪蟲 (*Brachionus plicatilis*)

褶皺臂尾輪蟲屬袋型動物門 (Aschelminthes)、輪蟲綱 (Rataoria)、壺型動物目 (Brachionoida)、壺型輪蟲科 (Brachionoidae) 之壺型輪蟲屬，為一種小型動物性浮游生物，因其頭部有一轉輪狀之纖毛冠



(ciliated corona) 而得名。臂尾輪蟲 (*Brachionus plicatilis*) 長約 123 - 292 μm ，寬約 114 - 199 μm (Snell and Carrillo, 1984)，其大小適中、可高密度培養、生產快速、對水溫及溫度耐受度高且游泳緩慢，為幼苗不可或缺之餌料生物。趙等人 (2002) 實驗證實將其應用於鯛魚、草蝦、斑節蝦及蟬類等水產生物均有良好之繁殖成果。影響輪蟲增殖之因素有食物、溫度、鹽度、光、養殖環境及輪蟲生理狀況等，其中直接影響魚苗活存率之關鍵因數為其攝食之食物。輪蟲以濾食為主，大型輪蟲可濾食約 5 - 25 μm 之食物，極小輪蟲可濾食約 2 - 20 μm 的食物，只要是小於 25 μm 的微藻、酵母、蛋白質為膠囊飼料、有機碎屑等皆可被輪蟲濾食 (趙等, 2002)。整體而言，餵食輪蟲的餌料大小以 15 μm 以下更為理想 (張, 1997)。輪蟲的營養成分主要來自被攝入的微藻、酵母或細菌 (Fulks and Main, 1991)，然而單獨使用酵母培養的輪蟲來投餵魚苗，會因為缺乏高度不飽和脂肪酸而有營養缺乏情形，造成魚苗畸形或死亡率上升，此問題可利用滋養液或微藻進行二次培養做營養強化或與微藻一起投餵來改善輪蟲品質 (Øie *et al.*, 1994; 蘇等, 1998)。近幾年已有多位學者已發現 HUFA 對海水魚蝦苗的活存及成長亦相當重要 (Kitajima *et al.*, 1980; Yone, 1980; Immanuel *et al.*, 2001)，特別是 $\omega 3$ 高度不飽和脂肪酸 DHA (22:6 $\omega 3$)、EPA (20:5 $\omega 3$) 含量對魚苗發育階段為不可缺少的重要物質 (Southgate and Lou, 1995)，並且其



無法自行合成，必須依賴外界供應，故屬於發育過程中之必需脂肪酸 (Villegas *et al.*, 1990)。海水微藻可為輪蟲提供蛋白質、能量、多元不飽和脂肪酸 (PUFA; polyunsaturated fatty acid)、維生素、固醇類及色素 (Tredici *et al.*, 2009)，海洋擬球藻生長快速、容易培養特性為海水魚繁殖應用最重要的微藻，其富含 EPA，但較缺乏 DHA，因此在幼苗培育時仍須搭配餵食其他種類微藻為佳 (Tucker, 1998)。根據輪蟲的培養與收穫方式可分為：批次式、連續式和半連續式三種養殖方法 (張，1997；Snell, 1991; Fulks and Main, 1991)。

2. 短腳異劍水蚤 (*Apocyclops royi*)


短角異劍水蚤屬於節肢動物門 (Arthropoda)、甲殼綱 (Crustacea)、劍水蚤目 (Cyclopoida)、劍水蚤科 (Cyclopoidae)、劍水蚤亞科 (Cyclopinae)、異劍水蚤屬 (*Apocyclops*) (鄭等，2009)。最小發育階段之橈腳類體型約 125 μm 左右，成蟲體型約 1 - 2 mm，為海洋中野生魚苗之重要蛋白質來源，並含豐富且完整之必需脂肪酸組成 (Tucker, 1998)。建立新物種之繁殖技術時，常使用橈腳類作為餌料 (Conceição *et al.*, 2010)。目前台灣的橈腳類生產模式以室外養殖池為主，生產方式有二：(1). 專業生產者：以魚漿、飼料、豆粉、雞糞等作水的方法培養，池中混養少量的魚蝦，(2). 兼業生產者：自魚、蝦養殖池中直接捕撈。捕撈時需在養殖池的水車前架設定置網，利用水車轉動的水流，



將池中的橈腳類帶入網內。由於橈腳類夜晚有浮游於池水中上層的習性，一般業者大都在天亮前完成捕撈作業，隨即載送給繁殖業者在清晨時投餵魚苗。短角異劍水蚤體型小、容易採集與培養，在良好環境下，短時間可成熟生殖，是非常有潛力的品種（鄭等，2009）。目前培育海水魚苗的橈腳類多來自室外養殖池，品質與產量均不穩定，有時還會引入其他病菌、病毒及寄生蟲等，可利用益生菌的代謝產物滋養橈腳類，以減少感染，或以臭氧與二氧化氯充分將收穫後的橈腳類充分清洗後，亦可以微藻充分滋養後，再行餵養，對魚苗健康與品質都有正面助益（鄭與陳，2009）。許多研究指出，以橈腳類幼生做為仔稚魚餌料可提升其活存率（陳與蘇，2005；鄭與陳，2009；江等，2012；呂，2015）。橈腳類無節幼蟲含高度的 EPA 與 DHA，為魚類必須不飽和脂肪酸，有利於魚苗吸收利用，因此可促進成長與提升活存率與免疫力（鄭與陳，2009）。

3. 豐年蝦 (*Artemia*)


豐年蝦屬節肢動物門 (Arthropoda)，鰓足亞綱 (Branchiopoda)，無甲目 (Anostraca)，豐年蝦科 (Artemiidae)，豐年蝦屬 (*Artemia*)，豐年蝦分佈於全世界高鹽度水域，對鹽度的適應範圍極廣，半淡鹹水至 90 ppt 皆可存活，目前主要產地為美國、蘇聯、中國和加拿大。市售豐年蝦耐久卵依產地和品系的不同，其孵化率、孵化時間、無節幼蟲大小、




成長速率和營養組成都有所不同。一般耐久卵在水溫 28 °C，低鹽度 0 - 20 ppt 下約 20 - 40 hr 孵化成無節幼蟲 (nauplii instar I, 430 - 515 μm)，此時不會攝食。在 6 - 8 hr 後蛻變成二齡幼蟲 (instar II, metanauplii)，並開始開口進食 50 μm 以下的食物顆粒，如微藻、酵母、細菌、原生動物和有機懸浮顆粒等 (邱，2005)。剛孵出的無節幼蟲營養組成豐富，富含類胡蘿蔔素和高度不飽和脂肪酸，適合作為水產種苗的營養來源 (Murugan *et al.*, 1995；Tsushima and Matsuno, 1999)。隨著豐年蝦品種不同，無節幼蟲營養組成也不同，其中 DHA 和 EPA 的含量更直接影響仔魚的成長率和活存率。當蛻變成二齡幼蟲後，乾重減少 20 %；脂肪酸減少 26 %；總能量減少 27 %，使其漸失去營養價值。利用豐年蝦之濾食行為，使用藻類、酵母或是乳化油來強化其營養組成 (蘇，1999；Léger *et al.*, 1986)。

七、蛋白質之生理功能

蛋白質是魚體組織中主要的物質，約占乾重之 65 - 70 % (Wilson and Halver, 1986)。不僅是生物體各組織的組成，同時也可以代謝產生能量，也參與許多重要生理功能，例如：構成與維持魚體的體組織(體組織蛋白質更新、修復及維持體蛋白現狀)；生長 (生物體蛋白質的增加)；作為部分能量來源以及組成機體各種激素如賀爾蒙、酵素等具有特殊生物學功能的物質。魚類必須不斷攝取蛋白質以獲得胺基酸，藉



以構成魚體的組織及新陳代謝，因此飼料中提供蛋白質或胺基酸是不可或缺的 (李，1998; Jobling and wandsvik, 1983)。蛋白質基本結構是由二十多種氨基酸結合而成，而各個胺基酸之間藉由肽鍵(peptide bond)相互鍵結。當魚類消化蛋白質釋放游離胺基酸，以主動運輸經小腸上皮吸收，經由門脈系統 (portal vein system) 運送到肝及其他組織，再將這些胺基酸加以合成，作為魚體維持現狀或是提供成長所需 (Bowen, 1987)。另一方面，亦可經由體內代謝或異化作用 (catabolism) 而產生能量 (Walton and Cowey, 1982)。蛋白質亦為飼料中最重要之營養物質之一，而水產養殖產業所用飼料價格約佔總成本 40 - 60 %，其中又以蛋白質來源之支出較高 (Akiyama *et al.*, 1985)，飼料中蛋白質之品質取決於胺基酸組成與平衡，優良的蛋白質來源，需具有魚體生長所需的氨基酸種類與含量，而不適當之蛋白質來源，造成魚類利用不佳影響生長，這些不能消化吸收之蛋白質代謝產物排除魚養殖池中，亦造成細菌繁衍、水質含氮廢物過高等不良後果，進而影響魚類生長 (Li and Lovell, 1992; Lovell, 1996)。飼料中蛋白質含量過多，魚體會將蛋白質代謝為能量用或以脂肪儲存；然而蛋白質代謝必須提供額外能量先進行去胺作用 (deamination)，排除多餘無法用於生長的氨基酸；若飼料中蛋白質含量太少，則不足供給魚體生長所需 (Winfrey and Stickney, 1981; Jauncey, 1982; Wilson, 1989)。將銀鱸 (*Bidyanus bidyanus*) 和何氏



棘鯔稚魚 (*Spinibarbus hollandi*) 分別餵以蛋白質含量不足之餌料，其成長較差且魚體蛋白質含量低於正常組 (Yang *et al.*, 2002; Yang *et al.*, 2003)。因此，研究飼料中蛋白質的含量對養殖生物的成長以及養殖成本是一重要且決定養殖效益的重要因素之一。


八、魚類蛋白質的最適營養需求

魚類最適蛋白質需求量研究起源於 1958 年 De Long *et al.*以酪蛋白-明膠作為蛋白來源對國王鮭 (*Oncorhynchus tshawytscha*) 之研究報告。陸續有許多學者以不同蛋白質來源及含量對不同魚類進行實驗，以決定各種魚類之最適蛋白質需求量相關研究，整理於 Table 1。魚類因成長環境與陸生動物差異甚大，故其對各種營養物質需求亦與陸生動物有差異。一般而言，魚類比陸上蓄養之動物需要更多蛋白質，如家畜及家禽食物中之蛋白質含量約為 12 - 25 %，能促進成長，而魚類對食物中蛋白質需求達 35 - 55 %，有最大成長率 (Bowen, 1987)。

魚類對蛋白質需求量受以下因素影響：

1. 魚種食性

肉食性魚類對蛋白質的需求量比草食性或雜食性的魚類高 (Yoshimatus *et al.*, 1992)，例如：瑪拉巴石斑魚 (*Epinephelus malabaricus*) 及河鱸 (*Perca fluviatilis*) 對蛋白質的需求分別為 50.2 % 及 36.8 - 43.6 % (Fiogbe *et al.*, 1996; Shiau and Lan, 1996)，雜食性魚類如黑鯛




(*Sparus macrocephalus*) 及大頭鰱 (*Aristichthys nobilis*) 對蛋白質需求
量為 41.4 % 及 30 % (Santiago and Reyes, 1991; Zhang *et al.*, 2010), 草
食性魚類如鯉魚 (*Cyprinus carpio*) 的蛋白質需求為 34.1 % (Liu *et al.*, 2009)。另外在消化酶方面, 肉食性魚類之消化蛋白酶活性比草食性
及雜食性魚類為高 (Reimer, 1982)。

2. 魚體大小

魚體成長階段不同有不同蛋白質需求量, 稚魚通常將蛋白質用於
成長, 所以有較高量的蛋白質需求, 隨著魚體增大而減少 (Millikin,
1982; Watanabe *et al.*, 2000), 例如初重 1.5 g 的馬拉巴石斑 (*Epinephelus
slamonides*) 之蛋白需求為 54 % (Chen and Chen, 1986), 初重 3.8 g
的馬拉巴石斑之蛋白質需求為 47.8 % (Chen and Tsai, 1994); 初重 3.1
g 之牙鯨 (*P. olvaceus*) 對蛋白質需求為 50 %, 初重 22.7 g 之牙鯨
對蛋白質需求則為 45 % (Lee *et al.*, 2002)。初重 1.56 g 及 9.49 g 之
花魚 (*Hemibarbus maculatus*) 對蛋白質需求分別為 37.4 % 及 35.5
% (Chen *et al.*, 2010), 初重 114 g 與 14 g 之鰱魚 (*Ictalurus punctatus*)
蛋白質需求分別為 25 % 及 35 % (Page and Andrews, 1973)。

3. 生長環境

魚類蛋白質需求會受水溫變化的影響, 大鱗鮭魚 (*chinook salmon*)
在 8 °C 及 14 °C 下之最適蛋白質需求分別為 40 % 及 55 % (De




Long *et al.*, 1958) ; Millikin (1982; 1983) 指出條紋狼鱸 (*Morone saxatilis*) 於 20 °C 下蛋白質需求為 47 % ; 24 °C 下蛋白質需求為 55 % 。亦有學者探討鹽度對魚類最適蛋白質需求量影響 ; Zeitoun *et al.* (1973) 指出虹鱒 (*Salmo gairdneri*) 之最適蛋白質需求量 , 鹽度 10 ppt 最適蛋白質需求為 40 % , 鹽度 20 ppt 最適蛋白質需求為 45 % ; 然而餵食吳郭魚 (*Tilapia, O. niloticus* × *O. aureus*) 24 % 蛋白質飼料時 , 無論是淡水 (Shiau *et al.*, 1987) 或海水 (Shiau and Huang, 1989) 試驗 , 其增重率皆無差別。

4. 飼料組成

飼料中能量含量會影響魚類對蛋白質之攝取 (Kaushik and Médale, 1994) , 當飼料能量不足時 , 魚體會代謝蛋白質作為能量使用 , 使蛋白質無法完全利用於成長或維持 ; 飼料中能量過高時 , 會造成魚類容易產生飽食感而減少攝食 , 造成攝取的蛋白質無法達到最佳成長 , 可藉由添加碳水化合物或脂質來達到蛋白質節約效應 (protein-sparing effect) (Hernandez *et al.*, 1995) 。

九、魚粉概況

水產飼料為養殖主要生產成本 (Pandian, 1989; Cheng *et al.*, 2003) , 其中魚粉為人工飼料中蛋白質主要原料 , 亦是最昂貴的成分 (Akiyama *et al.*, 1991; Lim, 1996; Lemos *et al.*, 2000; Martinez *et al.*, 2002) , 也是成



長影響最大因素 (Andrew *et al.*, 1972; Balaz, 1973; Alava and Lim, 1983; Kureshy and Davis, 2002)。全世界主要魚粉生產國與輸出國分別為秘魯、智利、丹麥、冰島、挪威、南非、美國及日本。畜產及養殖產業的飼料費用佔其生產成本比例非常高，分別佔約 40 % 及 65 % (江和陳，2000)。整隻為切割之全魚或切割後之魚塊、魚雜，新鮮為分解者均可當魚粉原料，乾燥之即為魚粉。傳統以直火法製造，對魚粉品質影響大；今多利用蒸氣間接加熱法或是低溫真空乾燥法以保存魚粉營養。(林，2008)。魚粉的適口性佳、營養豐富、消化率高、胺基酸組成平衡，並具有 B2、B12 等維生素及未知生長因數 (UFG, unknow growth factor)(洪，1980)，然而，根據聯合國農糧組織 (Food and Agriculture Organization of the United Nations, FAO) 1961 - 2006 年的統計，魚粉產量維持魚每年 500 萬至 700 萬噸之間，直至 2008 年世界五大主要出口國 (秘魯、智利、美國、挪威、冰島) 的魚粉產量均有下降，比 2007 年減產約 100 萬噸，未來也無法使魚粉產量上升 (謝，2010)。國際魚粉及魚油組織 (International Fish meal and fish oil organization, IFFO) 指出 2014 年魚粉產量為 414 萬噸，其中 35 % 為魚類加工後的副產品。且比例持續上升，過去主要魚粉生產國秘魯的魚粉價格為每公噸 1200 美元，由於 2012 年秘魯鯷魚魚貨產量減少，導致魚粉在 2013 年 1 月達到每公噸 2150 美元 (國際漁產資訊 246 期, 2013)。從 2013 年

1 月到 2014 年 1 月價格約減少 20%，不過價格仍維持在高檔（國際漁產資訊 264 期，2014），養殖漁業產量的持續增使飼料魚粉的需求增加，因此針對不同魚種營養需求了解最適生長飼料蛋白質含量以提升養殖效益。



材料方法




一、實驗設計

本論文分為二個部分：實驗一、斑石鯛 (*Oplegnathus punctatus*)人工孵化繁殖技術建立；實驗二、不同蛋白質含量對斑石鯛幼魚成長之探討。

實驗一、斑石鯛 (*Oplegnathus punctatus*)人工孵化繁殖

1. 種魚培育與受精卵採集

本次孵化試驗種魚取自高雄市林園區合作養殖戶，使用以鱗片紋路鑑定 6 年齡斑石鯛種魚，檢疫 3 天後將種魚各自蓄養於 8 噸圓形玻璃纖維養殖槽，共 2 池，水溫維持在 20 ± 1 °C，鹽度範圍在 33 - 35 ppt，養殖缸上方設置蘭花網遮蓋池面約 90 % 面積。每週清潔養殖缸一次並於每日清晨抽底清除缸底髒物、更換海水以維持缸內水質穩定，每日以胭脂蝦 (*Aristaeomorpha foliacea*)、鯖魚 (*Scomber scombrus*)、南魷 (*Sthenoteuthis oualaniensis*) 及生鮮牡蠣等混合投餵 1 次。生殖季期間發現斑石鯛具備婚姻色時，以手指輕壓種魚腹部檢查是否有精液流出作為雄魚判斷依據；雌魚為腹部飽滿個體及以塑膠軟管插入生殖孔吸取是否有卵粒作為判斷依據。雄魚為體長 25 - 40 cm，體重 2.5 - 3.5 kg 之自然成熟個體；雌魚挑選體長 25 - 40 cm，體重 2.5 - 3.5 kg 之個體，先以塑膠軟管插入生殖孔吸取卵粒後觀察其成熟度，再以人類絨



毛膜促性腺激素 (HCG) 1000 I.U. / kg、促黃體素釋放素 (LHRH - A2) 20 μ g / kg 分別以生理食鹽水溶解後於背部肌肉採一次性注射催熟，24 hr 後再注射一次上述二種激素觀察腹部是否肥滿、生殖孔是否突出之個體作為採集成熟卵之依據。生殖季節傍晚晴朗時期將斑石鯛雌魚與雄魚麻醉後分別取卵與精子，將精子以少量海水稀釋後與卵混合，以毛筆緩慢攪動靜置 1 min，重複上述步驟 3 次後將卵以浮游生物網收集，以海水洗去多餘精子後在將上浮於中、表層受精卵置入 100 L 容器打氣，隔日清晨將受精與未受精卵分別收集秤重以瞭解斑石鯛人工受精率。

2. 餌料生物與人工飼料

實驗用之海洋擬球藻、周氏扁藻種原購自國立台灣海洋大學水生動物實驗中心，培養採半連續式培養 (Semi-continue culture)，經濾袋過濾後將海水按比例加入 Walne 培養液配方 (Walne, 1974)，置入 20 L 透明酒果筒以高溫高壓滅菌，待冷卻後再依比例添加藻種後打氣培養。光照週期維持 L 16 : D 8，照度 3000 - 5000 Lux，溫度維持 27 ± 0.5 °C，經 3 - 5 天呈現濃綠色時即可採收使用或繼續擴培。

輪蟲體型約 130 - 300 μ m，以 10 噸長方形玻璃纖維槽培養，加入經濾袋過濾海水後，以淡水將鹽度調至 25 ppt，水溫維持 27 ± 0.5 °C，添加發酵液後 3 - 4 天後水色轉紅褐色後接種輪蟲，以微打氣方式培養，



每日添加適量發酵液維持水色，一週後即可以 300 目浮游生物網收集輪蟲，依幼苗不同口徑大小使用不同網目 (150、120、100、80 網目) 篩選。

橈腳類培養方式參照輪蟲之培養方法，橈腳類需要較高溶氧，因此培育期間採強打氣方式養殖，溶氧維持 > 5 ppm，一週後即可以 300 目浮游生物網收集橈腳類，依幼苗不同口徑大小使用不同網目 (150、120、100、80 網目) 篩選橈腳類幼蟲及成蟲。

豐年蝦耐久卵為 Sanders 牌之 Great Salt Lake 品種 (*Artemia franciscana*)，去殼流程如下：將卵浸泡於微打氣之淡水 1 hr，靜置沉澱後，將上方懸浮卵倒除後收集下沉卵，以每克的耐久卵加入 13 ml 的漂白水溶液 (淡水/漂白水 = 1/1 比例配置) 作為去殼溶液，並攪拌觀察耐久卵顏色變化，顏色呈現橘色時，使用浮游生物網收集並以乾淨自來水清洗數次後再添加硫代硫酸鈉去除殘留氯，最後將卵風乾後存於 4°C 冰箱備用，孵化時將去殼卵放入強烈打氣之海水中，水溫 27°C 下約 16 - 18 hr 即可孵出無節幼蟲，孵化後即可採收並投餵幼苗，多餘豐年蝦存於 4°C 冰箱備用並於 12 hr 內用畢。

幼苗培育期間投餵之黑粒粉、海藻粉購自群冠公司。

3. 受精卵與胚胎發育

實驗期間共人工採卵 2 次，採集受精卵後置入 300 L 玻璃纖維桶



中以連續微打氣、止水狀態做為孵化環境，孵化期間取出部分受精卵置入 500 ml 燒杯中，燒杯外隔水加溫使溫度維持於 23 ± 1 °C，每隔 30 min 利用塑膠滴管自燒杯內吸取受精卵至凹槽玻片上並以水蓋過受精卵後，以複式顯微鏡觀察胚胎發育，並以數位相機拍照後再經影像分析軟體 (Image J) 分析並記錄受精卵之卵徑、油球徑與胚胎發育各期之時間與型態特徵。胚胎發育時期經歷時間，以顯微鏡視野中有 50 % 的受精卵胚胎從前一階段至下一階段所經歷的時間做判讀依據。

4. 仔稚魚孵化繁殖與型態觀察

採集受精卵後，隔日清晨將受精卵移入 4000 L、水溫 26 ± 1 °C、鹽度 35 ppt，pH 8.0 - 8.2 之方形玻璃纖維槽做為幼苗培育環境。仔魚餌料以經海洋擬球藻及周氏扁藻滋養 3 hr 之輪蟲、橈腳類、豐年蝦及人工配合微粒飼料做投餵餌料，每日視水色濃度適當添加藻水，並輔以 250 目浮游生物網袋搓洗後之海藻粉及黑粒粉，將其均勻潑灑至養殖槽中維持水色。育苗初期每日加入光合菌 (*Rhodobacter capsulatus*)、枯草桿菌 (*Bacillus subtilis*)、希瓦氏菌 (*Shewanella sp.*) 各 2 ppm 維持水質穩定 (氨-氮 < 0.25 ppm；亞硝酸-氮 < 20 ppm)；育苗中後期開始少量流水養殖，一週後將幼苗移至新養殖槽蓄養。培育期間定期採樣 5 尾斑石鯛幼苗，隨魚體大小不同而分別以複式顯微鏡及解剖顯微鏡觀察及拍攝記錄魚苗之體色及形態特徵變化，拍攝前以麻醉劑處理



幼苗後，待其跳動趨緩再移至顯微鏡進行拍照記錄，並以電子游標尺或尺規測量平均體標準長，了解斑石鯛幼苗生長情形。

二、實驗二 不同蛋白質含量對斑石鯛成長之探討

實驗二探討以不同蛋白質含量的飼料搭配等油脂等能量的飼料，投餵初重約 16 g 實驗一人工繁殖的斑石鯛 (*Oplegnathus punctatus*) 探討其成長表現與體組成影響。

1. 養殖生物

斑石鯛幼魚為人工孵化繁殖 8 週，將健康個體挑選後安置於 4000 L FRP 桶中，並以台榮公司市售鰻魚飼料 (粗蛋白含量 45%) 餵食馴養 2 週，待幼魚適應養殖環境與接受自製人工配合飼料後分別秤重，挑選平均體重約 16 g 個體進行實驗。

2. 養殖條件

實驗系統為 18 個 120 L 玻璃水族箱組成的流加水養殖系統，引入的海水設置濾袋做初步物理過濾，每缸水溫維持於 29 ± 1 °C，鹽度 34 - 35 ppt，pH 8.1 - 8.3，光週期採自然光照，每日早上餵食前虹吸底部沉積物，並且換除 1/2 海水維持穩定水質，每 1 週清潔一次缸壁維持養殖環境穩定。光週期採自然光照，每日於早晨 9:30 及下午 6:00 分別投餵 1 餐至飽食，並且記錄每組攝食量。每 2 週記錄一次體全長及體重；實驗為期 8 週，第 8 週實驗結束後採樣進行魚體分析。



3. 飼料配製

實驗二飼料配方見 Table 2，每種原料秤重裝袋，再依克數由小至大均勻混合後過篩，實驗飼料以紅魚粉 (brown fish meal) 為主要蛋白質源，搭配 7 % 鱈魚肝油/玉米油 (2:1) 為油脂來源，並以 α -starch 為黏著劑，再以 α -cellulose 調製成等能量之飼料，配置蛋白質含量為 35 %、40 %、45 %、50 %、55 % 及 60 % 六組實驗飼料，分別由 A1 - A6 標示，除了鱈魚肝油與玉米油，其它原料皆以 60 網目篩網過篩並均勻混合後，在加入鱈魚魚油與玉米油及約原料重量的 35 - 40 % 蒸餾水均勻混合並攪拌成團狀，以絞肉機擠成條狀後經烘箱 57 °C 烘乾 24 hr 後，以粉碎機粉碎成 4.8 mm 大小顆粒狀，製粒完成後保存於 -20 °C 冰箱內，投餵前取出放置室溫 20 min 後再行投餵。

4. 分析項目

實驗飼料及魚體組成成分分析，包含水分、灰分、粗蛋白、粗脂質等，均參照 A.O.A.C (1995) 之方法分析，魚體組織樣品待實驗結束後先禁食 24 hr，再以碎冰凍暈，並個別稱重及片取肌肉組織。肌肉組織的取樣方法為頭部至尾部二側的肌肉。取下的肌肉去除魚皮，以均質機均勻絞碎後以 105 °C 烘乾，烘乾後的樣品組織再以均質機均勻絞碎後，冰存於 -20 °C 冰箱，待分析時再取出。

(1). 水分測定 (Moisture)



取經磨碎後的樣品 2 g 放入已秤重且已達恆重的乾燥坩鍋中，再將其置於 105 °C 恆溫乾燥箱，每 1 hr 取出放在乾燥器中冷卻至室溫後秤重，重量記錄至小數點後 3 位，直至恆重為止。

計算公式:

$$\text{Moisture (\%)} = (W1 - W2) / (W1 - W0) \times 100 \%$$

W0: 坩鍋的恆重 (g)

W1: 坩鍋重+未烘乾樣品重量 (g)

W2: 坩鍋重+烘乾後樣品重量 (g)

(2). 灰分測定 (Ash)

取經磨碎後的樣品 1 g 至小數點後 4 位，置入已秤重且達恆重的乾燥坩鍋中，在將坩鍋加蓋放入灰化爐中，以 550 °C 灰化 15 hr，將樣品灰化製成灰色粉末狀為止，待溫度降至 100 °C 後，將坩鍋取出置於真空乾燥器中，待溫度降至室溫秤其重量，重量紀錄至小數點後 3 位。

計算公式:

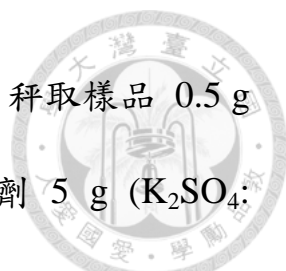
$$\text{Ash (\%)} = (W1 - W0) / S \times 100 \%$$

W0: 坩鍋的恆重(g)

W1: 坩鍋重+灰化後樣品重量 (g)

S: 樣品重量 (g)

(3).粗蛋白測定 (Crude Protein)



粗蛋白依照 Micro-Kjeldahl (A.O.A.C., 1995) 方法測定，稱取樣品 0.5 g 至小數點後 4 位，將其置入凱氏氮管，並加入催化劑 5 g (K_2SO_4 : $CuSO_4 \cdot 5H_2O = 9:1$)，隨後加入 15 ml 濃硫酸，將凱氏氮分解瓶放入粗蛋白消化爐 (Automatic Kjeldahl Digestion Units - DKL Series, Velp Scientifica) 加熱至 380 °C 使樣品分解至淡綠色澄清狀，取出冷卻至室溫後，加入 70 ml 蒸餾水及 15 ml 濃度為 35 % NaOH 水溶液，再以全氮蒸餾器 (UDK 129 Kjeldahl Distillation Unit, Velp Scientifica) 使其加熱蒸餾出氮氣，以 25 ml 濃度 4 % 硼酸收集蒸餾液至 150 ml，以 Methyl red 及 Bromocresol green 做為指示劑，並以 0.1 N HCl 滴定至淡粉紅色作為滴定終點。

計算公式:

$$\text{Crude Protein (\%)} = \frac{[(b - a) \times 0.1 \times 14.007 \times 6.25]}{S} \times 100 \%$$

a: 空白組滴定量 (ml)

b: 樣品滴定量 (ml)

S: 樣品重量 (g)

(4). 粗油脂測定(Crude Lipid)

使用脂肪抽出器 (Tecator Soxtec System HT 1043 extraction unit)測定，測定前將鋁杯洗淨並置於烘箱以 105 °C 乾燥 1 hr，取出後至於恆溫乾燥箱中 30 min 後稱重，並在鋁杯中加入 45 ml 的乙醚，稱取 0.5 g



樣品置於棉筒中上層並鋪上脫脂棉，設定機器溫度為 90 °C，將棉筒放入裝有乙醚的鋁杯中，浸泡 15 min，再利用滴濾方式滴濾 1 hr，關起滴濾裝置，再開啟抽風空氣 15 min，使鋁杯中的乙醚揮發，回收乙醚，取出鋁杯至於烘箱以 105 °C 乾燥 1 hr，取出後至於恆溫乾燥箱中 30 min 後秤重，秤重後減去重量差即得粗脂質含量。

計算公式:

$$(W2 - W1) / S \times 100 \%$$

W2: 恆重後脂鋁杯重 (g)

W1: 萃取恆重後之鋁杯重 (g)

S: 樣品重量 (g)

5. 成長指標分析

(1). 增重百分率 (Percent Weight Gain)

實驗結束後，斑石鯛幼魚的體重增加量，除以初重量，再乘以 100。

計算公式:

$$\text{Weight gain (\%)} = (\text{Final weight} - \text{Initial body weight}) / (\text{Initial body weight}) \times 100 \%$$

(2). 飼料轉換率 (Feed Conversion Ratio, FCR)

實驗期間，斑石鯛幼魚每增加 1g 體重，所攝食的飼料乾物重。

計算公式:

$$\text{Feed conversion ratio (FCR)} = \text{Feed intake} / (\text{Final body weight} - \text{initial body weight})$$



(3). 特殊成長率 (Specific Growth Rate, SGR)

Specific Growth Rate (SGR) = $[\ln(\text{Final body weight}) - \ln(\text{Initial body weight})] \times 100 \% / \text{day (s)}$

(4). 攝食量 (Feed Intake, FI)

實驗期間斑石鯛攝入的飼料量。

(5). 蛋白質效率比 (Protein Efficiency Ratio, PER)

Protein Efficiency Ratio (PER) = $(\text{Final weight} - \text{Initial weight}) / \text{Feed intake} \times \text{protein percent}$

(6) 活存率(Survival Rate)

實驗結束時，斑石鯛存活之尾數佔實驗開始時之尾數的百分比。

計算公式：

Survival rate (%) = $(\text{Final number of fish}) / (\text{Initial number of fish}) \times 100 \%$

6. 體測量指標

(1). 肥滿度(Condition Factor, C.F.)

計算公式：

Condition Factor, C.F. = $\text{Body weight} / (\text{Body length})^3 \times 100 \%$

(2). 內臟體比 (Viscerasomatic Index, VSI)

計算公式：

Viscerasomatic index, VSI = $\text{Visceral weight} / \text{Body weight} \times 100 \%$

(3). 肝體比 (Hepatosomatic Index, HSI)

計算公式：

HSI (%) = Liver weight / Final body weight × 100 %

7. 統計分析

實驗數據以 SAS / PC (SAS / PC version, SAS Institute, Cary, CA, USA)軟體進行單變異數分析(Analysis of variance, ANOVA, one-way) 測試個實驗組是否有差異，若有差異再以 Duncan's new multiple range test 比較各處理組間之差異顯著性，顯著水準定為 $p < 0.05$ 。



結果




實驗一、斑石鯛胚胎發育與仔稚魚幼苗培育

1. 種魚培育與人工授精


本次實驗結果發現斑石鯛雄魚生殖季時體色及吻端呈現黑色或灰白色；雌魚吻端亦為黑色或灰白色，且腹部稍有膨大情形 (Fig. 1)，生殖季期間將雌斑石鯛取卵觀察卵粒發現已有卵黃堆積 (Fig. 2)，再以人類絨毛膜促性腺激素 (HCG) 1000 I.U./ kg、促黃體素釋放素 (LHRH - A2) 20 μ g/kg 分別用生理食鹽水溶解後於背部肌肉注射催熟，隔日凌晨觀察其腹部明顯膨大 (Fig. 3)，當日晚間觀察其生殖孔有明顯紅腫突出 (Fig. 4)，輕壓即可採集大量成熟卵粒，以離心管採集精子後將其與卵以半乾式人工授精均勻混合攪拌 5 分鐘後再以乾淨海水洗去多餘精子及完成受精過程。自 4 月初至 5 月初共進行 2 次人工授精實驗，平均受精率為 $71.20 \pm 0.10\%$ 。

2. 受精卵與胚胎發育

胚胎發育時間與特徵見 Table 3 與 Figure 5 - 7；詳細敘述如下：受精卵為單一油球，屬於圓球狀、分離之浮性透明卵，淡黃色並富彈性，平均直徑為 1.03 ± 0.04 mm；油球徑為 0.23 ± 0.01 mm。水溫 23 ± 1 °C 下，受精後 40 min，受精膜吸水膨脹，動物極形成胚盤 (Blastoderm)，側面觀可見胚盤如高帽狀隆起 (Fig. 5a)；受精後 1 hr 10 min 進入 2



細胞期，形成 2 個對等大小的細胞 (Blastomeres) (Fig. 5b)；受精後 1 hr 25 min 與第一次分裂溝垂直的位置形成第 2 次分裂，進入 4 細胞期 (Fig. 5c)；受精後第 1 hr 50 min 形成第 3 次分裂，進入 8 細胞期 (Fig. 5d)，受精後 2 hr 15 min 第 4 次分裂，進入 16 細胞期，2 個分裂面都與第 1 次平行，形成 2 排 8 個細胞 (Fig. 5e)；受精後 2 hr 45 min 發生第 5 次分裂，進入 32 細胞期，卵裂細胞大小不等，排列呈不規則 (Fig. 5f)；受精後 3 hr 25 min 進入 64 細胞期，發生第 6 次卵裂，此時細胞分裂不完全同步，大小不等且排列不規則 (Fig. 5g)；受精後 3 hr 40 min 進入桑椹期 (Morula stage)，細胞繼續在動物極快速分裂並開始堆疊，細胞數量難以計數且分裂面難以分辨，整個細胞團近似圓形，從側面觀察與桑椹相似 (Fig. 5h)；受精後 4 hr 10 min 進入高囊胚期 (High blastula stage)，胚層形成，在動物極堆積成高帽狀囊胚 (Fig. 5i)，受精後 4 hr 45 min 進入低囊胚期，隆起細胞部分變低並向四周擴展，囊胚層邊緣細胞 (Marginal cells) 與卵黃細胞融合形成卵黃多核層 (Syncytial layer)，胚盤開始向植物極下包 (Fig. 6a)；受精後 7 hr 50 min 進入原腸早期 (Early gastrula stage)，部分細胞內卷形成一個環狀的胚環 (Germ ring) (Fig. 6b)，此時胚層下包至卵黃 1/3 (Fig. 6c)；受精後 10 hr 20 min 進入原腸中期 (Middle gastrula stage)，胚環更明顯，細胞繼續下包和內卷，形成胚盾 (embryonic shield) (Fig. 6d)，胚層




下包至卵黃 1/2 (Fig. 6e)；受精後 11 hr 45 min 進入原腸後期 (Late gastrula stage)，胚層細胞下包至卵黃 3/4 (Fig. 6f)；受精後 13 hr 25 min 胚體雛型輪廓形成；受精後 14 hr 25 min 胚環逐漸下包收縮成胚孔 (Blastopore) 並且將閉合進入神經胚期 (Neurulation)，胚體中央隱約可見一條圓柱形神經索 (Neural tube) (Fig. 6g)；受精後 15 hr 10 min 進入器官形成期 (Organogenesis)，此時胚體的頭部前兩側形成一對視泡 (Optic vesicle) (Fig. 6h)；受精後 15 hr 45 min，胚體脊索兩側出現肌節 (Somite) (Fig. 6i)；受精後 16 hr 胚胎尾部內側出現克氏囊 (Kupffer's vesicle) (Fig. 7a)；受精後 16 hr 45 min 肌節數量增加，視泡的後方兩側形成一對聽囊 (Otic capsule) (Fig. 7b)，受精後 18 hr 30 min，胚體背面的視囊之間形成一橢圓形且未分室之腦泡 (Brain vesicle) (Fig. 7c)，體表出現點狀色素 (Chromatophore) (Fig. 7d)；受精後 22 hr 15 min，身體與油球色素細胞增多，視泡中透明晶狀體 (crystalline lenses) 形成 (Fig. 7e)；受精後 23 hr 20 min 進入尾芽期，胚體尾部開始與卵黃囊分離，形成錐狀尾芽 (Tail bud) (Fig. 7f)；受精後 25 hr 30 min 進入心跳期，心臟開始輕微且具規律緩慢搏動，胚體開始不定時顫動 (Fig. 7g)；受精後 28 hr 25 min 進入孵化前期，心臟搏動加速，胚體的抽動更頻繁並伴隨尾部左右扭動 (Fig. 7h)；受精後 29 hr 30 min 胚胎孵出 (Fig. 7i)。




3. 仔稚魚發育過程


仔魚至稚幼魚發育時間與特徵見 Figure 8 - 12；詳細敘述如下：水溫 26 ± 1 °C 下，初孵仔魚標準長 (Standard length, SL) 1.89 ± 0.09 mm；卵黃囊長徑 1.05 ± 0.01 mm；短徑 0.65 ± 0.01 mm；油球徑 0.21 ± 0.01 mm，油球與體側出現點狀黃褐色色素，背、腹及尾部皆以鰭膜 (Finfold) 連接，脊索細長，肌節呈現 V 字型，幼苗於水中隨水懸浮，時而短暫扭動向前 (Fig. 8a)；孵化半天後初期仔魚標準長 2.76 ± 0.04 mm，卵黃囊長徑 1.02 ± 0.01 mm；短徑 0.63 ± 0.02 mm；油球徑 0.22 ± 0.01 mm，眼部與體表黑色點狀色素增加，背鰭鰭膜增高 (Fig. 8b)；孵化第 1 天初期仔魚標準長 3.31 ± 0.27 mm，卵黃囊直徑 0.41 ± 0.05 mm；油球徑 0.16 ± 0.02 mm，卵黃囊和油球縮小，消化道為直線管狀且末端呈 90 度下彎，肛門尚未外開，軀幹後段出現黃褐色色素且鰭膜增高，消化管上緣大量黑色素沉積，前腹凹形成 (Fig. 8c)，尾鰭開始出現放射絲 (Fig. 11a)；孵化第 2 天初期仔魚標準長 3.61 ± 0.10 mm；卵黃囊直徑 0.26 ± 0.05 mm；油球徑 0.12 ± 0.01 mm，卵黃囊與油球持續縮小，消化管開始膨大且後段持續膨大呈葫蘆狀，肛門尚未外開，口裂外開但尚未開始攝食餌料，視囊與消化管上端開始有大量黑色素沉澱，背鰭、臀鰭鰭膜增高 (Fig. 8d)，孵化第 3 天仔魚體標準長 3.64 ± 0.17 mm，卵黃囊消失，油球持續縮小，部分個體開始攝食輪蟲與橈腳類無節幼蟲，



由內源性營養轉為外源性營養，為後期仔魚階段，鏡檢可觀察消化管中含有食糜顆粒並蠕動，肌節腹面佈滿星狀黑色素，脊索開始分節，胸鰭形成，仔魚游泳能力增強並開始水平游動，對光線變化敏感 (Fig. 8e)；孵化第 4 天仔魚體標準長 3.81 ± 0.22 mm，肌節腹面黃色色素退去，佈滿星狀黑色素，幼苗活動力增強，對光照變化逐漸敏感並在水體的中上表層群聚 (Fig. 8f)；孵化第 5 天仔魚體標準長 3.87 ± 0.15 mm，背鰭鰭膜增高，孵化第 6 天仔魚體標準長 4.02 ± 0.17 mm；孵化第 7 天仔魚體標準長 4.12 ± 0.12 mm，體色由半透明狀轉為乳白色 (Fig. 9a)；孵化第 9 天仔魚體標準長 4.39 ± 0.12 mm，尾鰭下緣出現點狀黑色素 (Fig. 9b)；孵化第 11 天仔魚體標準長 4.48 ± 0.25 mm (Fig. 9c)，腹部上緣大量黃色色素擴散 (Fig. 12a)，尾鰭下緣開始出現鰭條原基 (Fig. 11c)；孵化第 13 天仔魚體標準長 5.16 ± 0.09 mm，頭部黑色素增加 (Fig. 9d)，尾椎骨上揚，尾鰭脊椎骨末端二塊下尾骨原基 (Hypurals) 形成，下尾骨鰭條數目增加，背鰭及臀鰭鰭膜逐漸降低並開始出現鰭條原基，尾鰭由圓形逐漸轉變為截形尾 (Fig. 11d)，脊柱髓弓 (Neural arch) 與脈弓 (Haemal arch) 開始形成 (Fig. 12b)；孵化第 17 天仔魚體標準長 5.82 ± 0.42 mm，脊柱髓弓與脈弓數量增加，背鰭與臀鰭鰭條增加並延長 (Fig. 12c)，尾鰭下尾骨形成且鰭條開始分節 (Fig. 11e)，頭部與腹部塊狀黑色素增多，游泳速度與攝食能力增加並於個體



間開始有爭食現象 (Fig. 9e)；孵化第 21 天稚魚體標準長 6.89 ± 0.41 mm；體型結構開始明顯變化，進入稚魚期，身體體腔前端被黑色素與黃色素覆蓋，腹鰭原基開始發育 (Fig. 9f)，尾鰭形成截型尾，鰭條分節數量增加 (Fig. 11f)，背鰭與臀鰭已與尾鰭分離，背、臀鰭硬棘與軟條開始分化，背鰭硬棘出現黑色素 (Fig. 12d)，幼苗游泳能力增強，可逆水遊動，生長速度增快並可大量攝食橈腳類成蟲；孵化第 24 天稚魚體標準長 8.20 ± 0.75 mm，身體前半部黃色素與黑色素增加並擴散至軀幹後端 (Fig. 9g)，魚苗開始倚靠池壁，此階段除投餵橈腳類，並已攝食豐年蝦無節幼蟲；孵化第 28 天稚魚體標準長 9.54 ± 1.18 mm，魚苗體高增加，黃色色素覆蓋全身，頭部出現二條黑色橫帶，體側點狀黑色素逐漸形成，背鰭、腹鰭與臀鰭延長且末端黑色素增加，體型逐漸轉為寬扁 (Fig. 9h)，幼苗成群棲息於池壁；孵化第 31 天稚魚體標準長 12.87 ± 1.54 mm，體色開始轉為乳黃色，鳥喙狀嘴形成，體側黑色斑點增加並擴散，側線清晰可見 (Fig. 10a)，體表鱗片形成，游泳能力增強並開始沿池壁巡遊，此時除了投餵餌料生物，並已以微粒人工飼料訓餌，孵化第 37 天稚魚體標準長 18.04 ± 1.53 mm，體色由乳黃色逐漸轉為黑褐色，體側黑色斑點分布均勻並且數量增加 (Fig. 10b)；孵化第 44 天進入幼魚期，幼魚體標準長 25.98 ± 3.70 mm，體態接近成魚，黑色圓點數量增加並擴散，體色轉為黑褐色，背鰭、腹鰭與臀鰭



黑色素加深 (Fig. 10c), 較大個體具領域行為, 攝食人工飼料能力增強, 投餵時集體爭食; 第 54 天幼苗標準長 40.05 ± 3.93 mm, 背鰭與臀鰭由黃色轉黑色素, 尾鰭黑色素加深, 體色轉為深黑色並出現少量白斑 (Fig. 10d)。

4. 餌料生物投餵順序

本研究孵化繁殖之餌料生物投餵順序與魚苗體標準長成長見 Fig. 13。斑石鯛仔魚孵出第 2 天卵黃囊逐漸消耗殆盡時, 開始預先投餵做水色之海洋擬球藻、海藻粉、蝦片、經微藻滋養後之橈腳類無節幼蟲及輪蟲, 第 3 天仔魚體標準長約 3.6 mm 時, 口部完成發育並可開闔活動, 肛門開啟並開始進食輪蟲及橈腳類無節幼蟲作為初期餌料, 第 17 天幼苗體標準長約 5.8 mm 時, 尾鰭活動漸發達, 游泳速度與攝食能力增加, 開始增加投餵體型較大之橈腳類幼生至第 23 天時即停止餵食輪蟲, 第 24 天幼苗體標準長約 8.2 mm 時, 活動由水表層轉至中下層池壁, 開始以豐年蝦無節幼蟲混合橈腳類成蟲餵食, 第 28 天幼苗體標準長約 9.5 mm, 正游能力增強, 此時開始以微粒人工飼料訓餌, 第 35 天飼養方式由止水打氣養殖開始轉為少量流加水養殖, 隨魚苗體長增大而增加人工飼料投餵比例使幼苗完全接受人工飼料, 第 44 天幼苗體標準長約 26 mm 且完全接受人工飼料後即不再投餵餌料生物, 隨著幼苗個體之間生長發育差異增大, 依據不同個體口徑



投餵不同粒徑人工配合飼料，投餵頻度增加以避免個體之間殘食。


實驗二、飼料中添加不同含量蛋白質對斑石鯛幼魚成長與體組成之影響

1. 飼料粗成分分析


本實驗共配置 6 組等油脂等能量不同蛋白含量飼料，分別為 A1 (35%)、A2 (40%)、A3 (45%)、A4 (50%)、A5 (55%)、A6 (60%)，實驗飼料粗成分分析見 Table 2。實驗結果指出各組水分含量分別為 6.49%、6.03%、7.16%、7.89%、8.65%、5.87%；各組灰份含量分別為 11.01%、12.63%、13.06%、15.21%、15.47%、17.59%；粗蛋白含量分別為 36.92%、42.77%、47.74%、52.75%、57.44%、62.98%；粗油脂含量分別為 6.92%、6.67%、6.82%、6.75%、6.90%、6.62%。Shiau and Huang. (1989) 指出蛋白質提供 4.5 Kcal/g、油脂提供 8.51 Kcal/g、碳水化合物提供 3.49 Kcal/g 的消化能，因此本次實驗計算實驗飼料之消化能，各組飼料之消化能各為 350.04 Kcal/g、351.73 Kcal/g、352.89 Kcal/g、352.33 Kcal/g、352.20 Kcal/g、352.31 Kcal/g。

2. 斑石鯛幼魚成長指標

本實驗以等油脂配置不同蛋白質含量飼料餵食斑石鯛幼魚 8 週，其初重、末重、增重率、特殊成長率 (SGR)、攝食量 (FI)、飼料轉換率 (FCR)、蛋白質效率 (PER) 與活存率見 Table 4。初重為 $16.72 \pm$



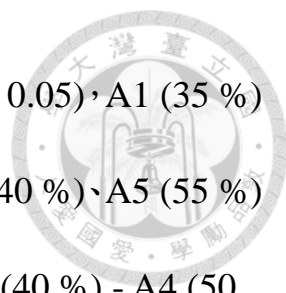
0.98 g、 16.87 ± 1.06 g、 16.51 ± 1.05 g、 16.89 ± 1.27 g、 16.85 ± 1.28 g、
 16.91 ± 1.55 g，經 8 週以不同處理組飼料飼養後，末重分別為 $55.08 \pm$
 9.84 g、 70.49 ± 11.66 g、 75.13 ± 8.97 g、 87.58 ± 10.11 g、 97.54 ± 10.88 g、
 96.20 ± 13.11 g、其中以餵食 55 % 蛋白質處理組最高，餵食 35 % 蛋
白質處理組最低，蛋白質含量 55 % 組 (A5) 顯著高於 35 % - 50 %
組 (A1、A2、A3、A4) ($p > 0.05$)，但與蛋白質含量 60 % 組 (A6) 無顯
著差異 ($p > 0.05$)；增重率以餵食 55 % 蛋白質處理組 ($477.47 \pm$
 24.42 %) 最高，餵食 35 % 蛋白質處理組 (227.79 ± 46.24 %) 最低，
A1 (35 %) - A5 (55 %) 蛋白質處理組之間隨飼料蛋白質含量增加有上
升的趨勢，A1 至 A5 組別之間均有顯著差異 ($p < 0.05$)，其中餵食
蛋白質含量 A5 (55%) 組顯著高於 35 % - 50 % 組 (A1 - A4)，但與蛋
白質含量 60 % 組 (A6) 無顯著差異 ($p > 0.05$)，以增重率為參考指標，
通過折線回歸求得水溫 29 ± 1 °C 下，斑石鯛幼魚之飼料蛋白質最適含
量為 57.48 % (Fig. 14)；特殊成長率 (SGR) 以餵食 55 % 蛋白質處理
組 (3.13 ± 0.08 %) 最高，餵食 35 % 蛋白質處理組 (2.10 ± 0.26 %) 最
低，A1 (35 %) - A5 (55 %) 蛋白質處理組之間隨飼料蛋白質含量增加有
上升的趨勢，A1 至 A5 組別之間均有顯著差異，其中餵食蛋白質含
量 A5 (55%) 組顯著高於 35 % - 50 % 組 (A1 - A4)，但與蛋白質含量
60 % 組 (A6) 無顯著差異 ($p > 0.05$)；攝食量 (FI) 在 60.24 g - 83.13 g



之間，以餵食 55 % 蛋白質處理組 (83.13 g) 最高；飼料轉換率 (FCR) 以餵食 55 % 蛋白質處理組 (1.05 ± 0.13 %) 最低，餵食 35 % 蛋白質處理組 (1.67 ± 0.49) 最高，A1 (35 %) - A5 (55 %) 蛋白質處理組之間隨飼料蛋白質含量上升有下降的趨勢，A5 (55 %) 與 A1 (35%) - A3 (45%) 組別之間均有顯著差異，但與蛋白質含量 55 % 組 (A4) 及 60 % 組無顯著差異 ($p > 0.05$)；蛋白質效率 (PER) 以餵食 60 % 蛋白質處理組 (1.61 ± 0.24) 最低，餵食 40 % 蛋白質處理組 (1.91 ± 0.38) 最高，A1 (35 %) - A5 (55 %) 蛋白質處理組之間均無顯著差異 ($p > 0.05$)，但顯著高於 A6 (60 %) 蛋白質處理組 ($p < 0.05$)；活存率以餵食 55 % - 60 % 蛋白質處理組最高 (96 %)；餵食 35 % 蛋白質處理組最低 (36 %)。

3. 斑石鯛體測量指標

本實驗以不同蛋白等油脂等能量飼料投餵斑石鯛幼魚 8 週，其肥滿度 (CF)、內臟體比 (VSI) 及肝體比 (HSI) 見 Table 5。本實驗結果發現各處理組肥滿度 2.37 ± 0.02 % - 2.49 ± 0.05 % 之間，餵食 50 % 蛋白質處理組最高 (2.49 ± 0.05 %)；餵食 40 % 蛋白質處理組最低 (2.37 ± 0.02 %)。內臟體比 (VSI) 在 6.18 ± 1.12 % - 8.18 ± 0.75 % 之間，餵食 35 % 蛋白質處理組最高 (8.18 ± 0.75 %)；餵食 60 % 蛋白質處理組最低 (6.18 ± 1.12 %)，A1 (35 %)、A3 (45 %) 及 A4 (50 %) 蛋白




質處理組與 A6 (60 %) 蛋白質處理組有顯著差異 ($p < 0.05$)，A1 (35 %) - A5 (55 %) 處理組之間均無顯著差異 ($p > 0.05$)；A2 (40 %)、A5 (55 %) 及 A6 (60 %) 處理組之間無顯著差異 ($p > 0.05$)；A2 (40 %) - A4 (50 %) 蛋白質處理組之間隨飼料蛋白質含量增加有上升的趨勢；A4 (50 %) - A6 (60 %) 蛋白質處理組之間隨飼料蛋白質含量增加則有下降的趨勢。

肝體比 (HSI) 在 $1.36 \pm 0.14\%$ - $2.12 \pm 0.26\%$ 之間，餵食 50 % 蛋白質處理組最高 ($2.12 \pm 0.26\%$)；餵食 60 % 蛋白質處理組最低 ($1.36 \pm 0.14\%$)，A4 (50 %) 蛋白質處理組與 A2 (40 %)、A3 (45 %)、A5 (55 %)、A6 (60 %) 蛋白質處理組之間具有顯著差異 ($p < 0.05$)；A1 (35 %) 與 A4 (50 %) 蛋白質處理組無顯著差異 ($p > 0.05$)；A2 (40 %)、A3 (45 %) 及 A5 (55 %) 蛋白質處理組間無顯著差異 ($p > 0.05$)；A2 (40 %) - A4 (50 %) 蛋白質處理組之間隨飼料蛋白質含量增加有上升的趨勢；A4 (50 %) - A6 (60 %) 蛋白質處理組之間隨飼料蛋白質含量增加則有下降的趨勢。

4. 斑石鯛肌肉組織一般成份分析

本實驗斑石鯛幼魚餵食不同蛋白質等油脂等能量之飼料 8 週後，其肌肉組織一般成份見 Table 6。本實驗肌肉粗蛋白在 $82.38 \pm 0.43\%$ - $86.47 \pm 0.48\%$ 之間，餵食 60 % 蛋白質處理組最高 ($86.47 \pm 0.48\%$)；餵食 35 % 蛋白質處理組最低 ($82.38 \pm 0.43\%$)，45 - 60 % 蛋白質處理



組各組之間無顯著差異 ($p > 0.05$)；35 % 蛋白質處理組與 40 % - 60 % 蛋白質處理組具顯著差異 ($p < 0.05$)，肌肉蛋白質會隨著飼料蛋白質含量增加而有上升之趨勢。肌肉油脂含量在 $2.53 \pm 0.12\%$ - $4.36 \pm 0.54\%$ 之間，餵食 35 % 蛋白質處理組最高 ($4.36 \pm 0.54\%$)；餵食 50 % 蛋白質處理組最低 ($2.53 \pm 0.12\%$)。40 - 60 % 蛋白質處理組各組之間無顯著差異 ($p > 0.05$)；35 % 蛋白質處理組與 40 % - 60 % 蛋白質處理組具顯著差異 ($p < 0.05$)。肌肉灰分含量介於 $6.25 \pm 0.28\%$ - $7.05 \pm 0.45\%$ 之間，餵食 35 % 蛋白質處理組最高 ($7.05 \pm 0.45\%$)；餵食 55 % 蛋白質處理組最低 ($6.25 \pm 0.28\%$)。40 - 60 % 蛋白質處理組各組之間無顯著差異 ($p > 0.05$)；35 % 蛋白質處理組與 40 %、45 %、55 % 及 60 % 蛋白質處理組具顯著差異 ($p < 0.05$)。


討論




實驗一、斑石鯛人工孵化繁殖

1. 種魚蓄養與產卵

本研究發現斑石鯛部分成熟雄魚在嘴喙呈現白斑或為黑斑，體色偏淡灰色；部分成熟雌魚嘴喙並未呈現白斑，體色亦有深黑色個體。報告指出，斑石鯛達成熟體型時，嘴喙皆轉白色吻端延伸至鰓蓋前緣，雄魚身體斑紋消失體色轉為黑色；雌性個體身體斑紋明顯且體色轉為灰褐色 (道津與夏莉, 1967)。本次實驗種魚婚姻色特徵未與前人研究相符，可能為斑石鯛種魚體色隨著人工養殖環境變化及人為操作使其具不同體色表現 (Fig. 1)，因此不易透過身體紋路分辨性別，本實驗僅以人工擠壓腹部判定是否有精液流出或以塑膠軟管觀察是否有卵粒，作為性別判定依據，未來應進一步探討斑石鯛種魚婚姻色之細部特徵及其於不同蓄養環境之體色表現，以利生殖操作進行。實驗一斑石鯛種魚通過強化培養和人工注射促性腺激素，可獲得成熟的且大量的精子與卵粒，二次人工授精實驗發現受精率為 $71.20 \pm 0.10\%$ ，實驗一人工授精結果與 Shimada *et al.* (2009) 以條石鯛雌魚與斑石鯛雄魚雜交後之實驗結果相近 (70.8%)。種魚所產受精卵卵徑大小因季節、產卵週期及產卵次數不同而不同 (Marte *et al.*, 1994)，為減少卵質變化，生殖階段的種魚之性腺發育、卵質、受精率、孵化率、幼苗的品質和活



存率等均和飼料營養狀況密切相關 (Izquierdo *et al.*, 2001; Watanabe and Vassallo-Agius, 2003), 其中種魚餌料中的脂肪及脂肪酸組成是影響種魚產卵和子代活存率的重要營養因子, 文獻指出, 多數魚類在性腺發育前會積累大量脂類, 除為生殖洄游等活動提供代謝能外, 亦為生殖細胞發育過程中必需儲存的能源和結構物質, 其中必需脂肪酸 (Essential Fatty Acid) 是磷脂和固醇類 (生物膜主要結構成分) 生物合成中的重要結構組分或轉運因數並影響胚胎發育及早期仔魚的活存率 (Sargent, 1995; Wiegand, 1996; Bell, 1998)。本實驗以蝦肉、魷魚以及牡蠣混合投餵可使斑石鯛種魚性腺發育, 劉等 (2000) 指出以新鮮魷魚、下雜魚以及營養強化劑 (魚油及維生素) 投餵斜帶石斑魚 (*Epinephelus daemeli*) 可使其自然產卵, 溫等 (1998) 利用下雜魚配合甲殼類投餵鱸魚, 能使其性腺成熟並且產卵。Lund *et al.* (1995) 指出, 脂類營養對卵母細胞的發育、卵黃的產生和積蓄具有重要的作用, Lim (1993) 指出可增加種魚投餵不飽合脂肪酸 (HUFA) 攝取率, 例如添加比例較高的鱈魚肝油等物質, 可提升種魚生殖表現, Mourente and Odriozola (1990) 指出金頭鯛種魚餌料中 n-3 HUFA 缺乏時, 其產卵量和卵子品質均會下降, 同時受精卵的孵化率和仔魚活存率下降。文獻指出, 以魚粉為主要蛋白源, 添加 4 % 魚油 (2.79 % HUFA) 的飼料餵食黑鯛 (*Acanthopagrus schlegeli*) 種魚可提升產卵表現 (Chou *et al.*,



1993)；黃鰭鯛 (*Acanthopagrus latus*) 種魚攝食含脂肪 15 %、20 % 和 25 % 的飼料時，20 % 脂肪組別的繁殖力高、卵直徑大且幼體較長 (Zakeri *et al.*, 2009)；Luo *et al.* (2015) 指出攝食高含量DHA飼料之西伯利亞鱈可提高雌魚血液中的雌二醇、11-酮基孕酮和黃體激素的含量及卵粒中 EPA、DHA 和 PUFA 的含量，並提高雌魚的繁殖力以及卵粒的受精率。除了 n-3 HUFA，飼料中適當的 n-6 HUFA 含量也能提高種魚的繁殖表現 (Liang *et al.*, 2014)；花生四烯酸 (ARA) 對牙鮪的孵化率、卵和仔稚魚品質的影響尤為顯著 (Furuita *et al.*, 2000)；ARA 在飼料總脂肪中的百分比為 1.8 % 時大西洋庸鱈 (*Hippoglossus hippoglossus*) 的產卵量和仔魚品質最佳 (Mazorra *et al.*, 2003)。以往針對種魚的培育會大量且頻繁的使用活餌與生餌，除了藉由其成分比例明顯的蛋白質與脂肪提供個體能量需求，同時給予生殖巢在發育時所必需的营养組成 (劉與黃，2012)，然而生餌容易受季節、氣溫、運輸、貯存等因素限制，無法滿足餵飼物種規模化養殖的需求，同時生餌亦容易腐敗變質，投餵過程稍有不慎極易引起水質污染，使水中細菌、真菌、病毒等病原體大量繁殖引發魚病，因此生鮮餌料並不是培育種魚的理想餌料。人工配合餌料除了營養均衡，使用與儲存方便並且衛生，投餵管理容易，人工配合餌料穩定性高，可減輕對養殖水體的水質污染，生產過程中還可方便混入藥物等添加劑以增強魚的體質和免



疫力 (劉等, 1997; 周, 2012), 未來應進一步研製斑石鯛種魚配合飼料、種魚營養生理和生殖生理之研究, 以利大規模人工培育種魚以及人工育苗效率之參考。

2. 受精卵生產方式對受精卵品質之影響

實驗一於種魚人工授精發現以手輕壓雌魚擠卵過程會將部分未成熟卵粒擠出而影響受精率。文獻指出, 繁殖除了催熟藥物種類、劑量與操作方式, 催熟環境與採卵時間為考慮因素之一, 適當採卵時間亦不易掌握, 且種魚年齡、成熟度、生理環境條件不同, 催熟後達到成熟採卵時間亦有差異 (黃等, 1986)。透過觀察雖可判斷種魚是否成熟, 然而若重複操作如擠壓腹部或是以取卵管採集檢視配子品質時, 常會傷及種魚與卵質, 黃等人 (1986) 指出, 人工採集種魚魚卵時, 未成熟卵混雜或是成熟卵未能全部排出皆是人工採卵之缺點。受精卵生產方式與卵質優劣亦有密切關係, 原田等 (1979) 指出斑石鯛自然產卵之受精率可達 94.3 %; 人工採卵受精率則為 68 %。Lim (1993) 收集營養強化之催熟石斑雄魚與自然成熟石斑雌魚比較不同受精卵生產方式之差異, 發現自然生產之魚卵受精率 ($93.8 \pm 5.1\%$) 優於人工授精 ($49.2 \pm 28.3\%$), 且人工授精容易發生種魚死亡, 受精率較差且魚苗活存率較低, 因此受精卵生產方式仍以自然生產較佳 (Lim, 1993), 針對多次產卵之經濟海水魚類, 未來應採自然產卵方式取代人工催熟採卵為佳



(平野, 1974)。

3. 受精卵胚胎發育


實驗一結果顯示斑石鯛受精卵呈球形，具單一油球透明浮性卵，受精卵卵徑 1.03 ± 0.04 mm，油球直徑 0.23 ± 0.01 mm，分裂特徵呈現盤狀卵裂，受精卵外觀特徵與王 (2015) (卵徑 1.05 ± 0.02 mm；油球直徑 0.25 ± 0.02 mm)、原田等 (1979) (卵徑 1 - 1.15 mm)、藤田等 (1983) (卵徑 1.05 ± 0.02 mm)、熊井 (2005) (卵徑 1.05 ± 0.01 mm)、川辺與木村 (2007) (1.05 ± 0.02 mm；油球直徑 0.25 ± 0.01 mm) 描述之特徵相近，外觀特徵亦與條石鯛受精卵相符 (常等, 2005; 柳等, 2008; 江等, 2014)。

實驗一於水溫 23 ± 1 °C 下，仔魚 30 hr 開始孵化，較王 (2015) 孵化水溫 22 ± 1 °C 文獻提早 2 hr，推測為孵化水溫偏高導致實驗一幼苗孵化時間提早，常等 (2005) 指出，條石鯛受精卵於水溫 23 - 24 °C 條件下，26 hr 30 min 仔魚孵出；水溫 23.5 ± 0.5 °C 條件下，受精卵經 27.5 hr 孵化出膜 (柳等, 2008)；水溫 22 °C 時，32 - 36 hr 條石鯛仔魚孵出 (倪等, 2007)；條石鯛受精卵在水溫 24 ± 1 °C 下，約 25 hr 孵化 (江等, 2014)，Falk-Petersen (2005) 指出，囊胚的發育形成與種間或養殖水溫有關，較高的水溫可加速胚胎發育，故可適當提高孵化水溫以縮短胚胎發育時間，如此可減少人力及其他成本之支出，且不影響仔魚孵化率 (何等, 2006)，然而，超過一定範圍的水溫孵化環境，



會導致胚胎發育畸形和死亡，可能使孵化仔魚品質較差（史等，2004；黃等，2006；林等，1998；Frank, 1996），文獻指出，海水魚類的卵子，根據物理特性可分黏性和非黏性，浮性和沉性等，其中根據油球的有無可分為 3 種類型：單油球浮性卵（60 %）、無油球浮性卵（25 %）和多油球浮性卵（15 %）(Ahlstrom and Moser, 1980)。未成熟或卵質不佳的卵子通常擁有 10 餘個小油球，這樣的卵子受精率孵化率較低，幼苗畸形率高（劉等，1986），實驗一發現斑石鯛胚胎發育過程未有畸形、多油球或是發育終止之現象，因此推測斑石鯛卵孵化水溫應可以 22 °C 作為孵化水溫。

文獻指出，硬骨魚類早期胚胎發育是指從受精卵到孵化出膜，分為受精卵期、卵裂期、囊胚期、原腸胚期、神經胚期、器官形成期等 6 個階段（曲等，1980）。實驗一結果指出，斑石鯛胚胎發育自卵裂期間至原腸胚期與斑石鯛與條石鯛發育次序形態特徵未有顯著差別，然而神經期與其他研究發育時序具差異，於神經期與其親代發育時序具差異，實驗一斑石鯛卵於受精後 14 hr 25 min 胚孔封閉；15 hr 10 min 視囊形成；15 hr 45 min 形成肌節；16 hr 克氏囊形成；16 hr 45 min 聽囊形成；18 hr 30 min 腦泡形成。王（2015）報告指出，斑石鯛受精後 11 hr 40 min，視囊形成並出現體節；15 hr 30 min 胚孔關閉，克氏囊形成；柳等（2008）報告指出，條石鯛受精卵於受精後 12 hr 50 min，胚孔完



全關閉，體節形成；18 hr 20 min，視囊形成，斑石鯛與雜交石鯛胚胎發育後期各器官之發育時序皆和前人於斑石鯛與條石鯛研究成果相異，推測原因為受精卵外在環境條件影響子代胚胎發育各期時序。由於石鯛之間沒有統一的劃分標準，而胚胎發育是一個連續的過程，即前一個組織結構還未完全形成，下一個組織結構的發生便開始形成甚至是同時發生，文獻指出，此種現象常見於器官形成期（劉，2015），因此建立石鯛科統一的完整胚胎發育分期方法，有待進一步研究。

本研究發現斑石鯛受精卵胚胎發育於 16 hr 在軀幹後端發現一囊狀構造，Kupffer (1868) 指出，硬骨魚類胚胎發育過程中會出現一個囊泡，即柯氏囊 (Kupffer's vesicle)。研究指出，柯氏囊在魚類胚胎發育過程中器官的不對稱發育扮演重要角色 (Essner *et al.*, 2005)。不對稱發育現象普遍存在於脊椎動物，例如人類身體左側的胃、心臟和脾臟；右側的肝臟就是典型的不對稱發育器官。柯氏囊為一內部具單纖毛細胞(monociliated cells) 的構造 (Essner *et al.*, 2002)，研究指出其為造成胚胎發育的不對稱性 (Essner *et al.*, 2005; Kreiling and Prabhat, 2007)。然而柯氏囊形成機制與詳細功能仍待進一步研究。

4. 幼苗型態變化

根據王 (2015) 指出，海水魚類仔魚在發育過程中，卵黃囊逐漸消失並且上下頷開啟進行攝食行為，即由內源營養向外源營養過渡的階




段稱為開口期。由於消化系統處於發育階段，消化能力弱，對外界食物的利用存在適應期。文獻指出，仔魚在開口時期很容易受到饑餓的影響 (McGurk, 1984; Y úfera *et al.*, 1993)。饑餓也被認為是仔魚開口期死亡的主要原因之一 (殷, 1995)，特別是名貴海水魚類育苗中，若由於營養不良造成仔魚大量死亡，使養殖戶受嚴重損失 (殷, 1991)。因此在魚苗培育的早期研究過程中，Blaxter and Hempel (1963) 首先提出仔魚的饑餓不可逆點 (point of no return, PNR)，即仔魚饑餓耐受的程度，當仔魚饑餓到一定程度後，通過追加餌也不能彌補，過了這個時期的仔魚就無法恢復攝食的能力，最終饑餓致死 (殷, 1991)，未來應瞭解掌握仔魚營養轉換期的攝食特性和規律，有助於種苗繁育過程中餌料投餵和管理技術的建立。彭等 (2010) 的指出，條石鯛仔魚自孵化至具有初次攝食能力的時間約需 2.5 - 3 天。實驗一斑石鯛孵化繁殖研究發現仔魚孵化後第 2 天卵黃囊耗盡，因此開始投餵小型輪蟲作為開口期餌料並且投餵微藻與藻粉，研究指出，綠水養殖對仔魚開口期的活存率影響較為明顯。藻水不僅可維持水質、培養輪蟲並提供豐富的微量元素，亦可提供仔魚優良的生存空間 (Naviner *et al.*, 1999)。文獻指出，魚苗剛開口時提供近似本身卵黃囊營養份組成的餌料生物，有利於仔魚的吸收，提高魚苗活存率 (Tocher and Sargent, 1984; Heming and Buddington, 1988)，全與肖 (2007) 指出，條石鯛幼苗培育期具三個危




險期，仔魚在 12 - 15 日齡鰾器官發育形成及 18 日齡左右背鰭開始出現時，魚苗易因缺乏 HUFA 或多種維生素，從而無法完成上述兩器官發育而產生大量死亡 形成了仔稚魚生長發育中的第一、第二危險期。實驗一建立之餌料生物投餵順序詳如 Fig. 9，斑石鯛幼苗培育初期之餌料生物，藉由輪蟲與橈腳類幼生混合投餵、每日投入藻粉及藻水滋養餌料生物。可使幼苗成長快速並且完成變態，研究指出，藻水除提供餌料生物滋養，並且調整水中光照，使幼苗更容易捕食餌料生物，若水中透明度太高，魚苗容易聚集於亮光處或牆邊，不利生長 (Tucker, 1998)；另有研究指出，魚苗投餵管理流程依照仔稚魚口徑不同重疊投餵不同大小餌料對育苗有正面效果 (Toledo *et al.*, 1999; Su *et al.*, 2001)。實驗一研究發現斑石鯛仔稚魚培育期間，隨著成長天數增加其攝食及避敵的能力增加，尤以孵化後第 18 天後期仔魚至第 21 天稚魚階段期間，幼苗型態開始明顯變化，各部鰭條開始出現並且個體間體型大小差異增加，幼苗之間開始有領域性並具殘食行為，全與肖 (2007) 指出，條石鯛生長至 25 日齡左右稚魚期時，黑色素橫帶、各器官基本成型、攝食旺盛且個體間有殘食現象，此階段餌料要保持一定密度，否則會造成魚苗損失，成為第三個危險期。

實驗二、飼料中添加不同蛋白質含量對斑石鯛幼魚成長與體組成之探討


1. 不同蛋白質含量飼料對斑石鯛幼魚成長及飼料利用之影響



蛋白質是魚類生長及維持生命所必需的营养成分，不僅提供生物所需之必需胺基酸，同時亦以酵素、賀爾蒙等型態參與許多生理功能，亦可代謝產生能量。飼料蛋白質含量過高或過低，均會造成養殖成本的浪費、養殖生物生長遲緩 (Shiau and Lan, 1996) 及水質汙染等問題 (Li and Lovell, 1992 ; Lovell, 1996)。一般而言，魚類比其他脊椎動物需要更多蛋白質，如哺乳類對蛋白質需求量約 12 - 25 %，即可達到最大成長，而魚類食物蛋白質需求卻高達 35 - 55 %，才能有最佳成長率 (Bowen, 1987)。魚類最適蛋白質需求量，在同種或不同種之間會因水溫、鹽度、食性、年齡、飼料組成及原料品質而有所不同 (NRC, 1993)。肉食性魚種蛋白質需求約 40 - 55 % 之間 (NRC, 1993; Tucker, 1998)，例如：小口鱸為 45 % 最適蛋白質需求 (Anderson *et al.*, 1981)，青甘鯪最少 50 % (Shimeno, 1991)，石斑魚最適飼料蛋白質需求約 50 % (Teng *et al.*, 1978; Chen and Tsai, 1994; Shiau and Lan, 1996; Luo *et al.*, 2004) 可獲最佳成長，初重 1.5 g、3.79 g、9.22 g 之瑪拉巴石斑，以魚粉或酪蛋白作為主要蛋白質來源時，最適蛋白質含量分別為 54 %、47.8 % 及 50.2 % (Chen and Chen, 1986; Chen and Tsai, 1994; Shiau and Lan, 1996)。初重 9.6 g、12.6 g 的老鼠斑幼苗在蛋白質含量 63 % 有最佳成長 (Williams *et al.*, 2004)，林 (2008) 指出初重 18 g 之藍身大石斑對蛋白質需求為 55 %；孫 (2009) 指出初重 24 g 褐石斑幼苗最適蛋白質需求



為 54.48 %；黃 (2011) 指出平均初重約 100 g 條石鯛，最適生長之蛋白質需求為 47.91 %；Kim *et al.* (2016) 指出平均初重 7.1 g 條石鯛幼魚在水溫 19 - 22 °C 條件下，最適生長飼料蛋白質需求為 45.2 %，本次實驗斑石鯛幼魚初重 16 g，以祕魯紅魚粉作蛋白質來源之不同含量飼料投餵 8 週後，其增重率 (Weight gain)、特殊成長率 (SGR) 會隨蛋白質含量而顯著上升，餵食 55 % 蛋白質組別有最佳的成長，李 (1998) 指出，當魚類的生長率隨著添加物的增加而線性上升，到達一定含量範圍之後，生長率便不再增加而維持在一定水平之上，這種情形便以折線模型來描述。本實驗 A1 (35 %) - A5 (55 %) 各組隨著飼料蛋白質含量的增加，斑石鯛幼魚的增重率明顯增加並且具顯著差異 ($p < 0.05$)；A5 (55 %) 至 A6 (60 %) 蛋白質處理組間增重率下降但不具顯著差異 ($p > 0.05$)，因此以折線迴歸 (Broken line)(Baker, 1986) 作圖求得在飼料蛋白質含量 57.58 % 時有最大增重率。文獻指出，食性、習性和規格相近的魚類應具有接近的飼料蛋白需求量 (錢等，2002)，本實驗結果發現斑石鯛幼苗最適飼料蛋白質為 57.58 %，蛋白質需求較條石鯛以及其他肉食性魚類高，因此一般養殖戶所使用鱸魚飼料或是石斑魚飼料 (蛋白質含量約 50 %) 對於斑石鯛幼苗蛋白質需求是不足的，過高蛋白質含量導致飼料成本增加，不符合養殖成本，黃 (2011) 指出，條石鯛 (*Oplegnathus fasciatus*) 最適飼料油脂含量為 9.68 %，本實驗各



組飼料油脂含量為 7 %，推測可能是飼料油脂含量無法滿足斑石鯛幼魚生長，使其有較高蛋白質需求。因此進一步瞭解斑石鯛幼苗對飼料油脂需求或是取代飼料蛋白質之原料，達到蛋白質節約效應，提高生物成長並降低養殖成本。

本實驗各處理組的 FCR 分別為 1.67 ± 0.49 、 1.42 ± 0.66 、 1.25 ± 0.20 、 1.13 ± 0.15 、 1.05 ± 0.13 、 1.06 ± 0.19 ，會隨著飼料蛋白質含量增加而有下降的趨勢，而餵食蛋白質含量 55 % 組表現最佳。此結果與其他文獻有相同趨勢：以蛋白質含量 36 - 48 % 餵食海鱸 (Chou *et al.*, 2001)；蛋白質含量 30 - 43 % 餵食黑鯰 (Salhi *et al.*, 2004)；蛋白質含量 0 - 48 % 餵食瑪拉巴石斑 (Shiau and Lan, 1996)，蛋白質含量 26 - 41 % 餵食淡水鯰魚 (Meyer and Fracalossi, 2004)，蛋白質含量 28 - 40 % 餵食鬍子鯰 (Singh *et al.*, 2009)，飼料蛋白質含量 30 - 55 % 餵食藍身大石斑 (*Epinephelus tukula*) (林, 2008)，FCR 均會隨蛋白質含量增加而降低，改善 SGR 與 FCR 的現象在前人報告中亦有發現 (Khan *et al.*, 1993; Tibbetts *et al.*, 2000)，綜合本實驗結果發現隨著飼料蛋白含量降低，魚隻的增重率，SGR 有下降趨勢；FCR 隨飼料蛋白含量下降而有增加趨勢，低蛋白含量處理組由於添加較多碳水化合物以配置等能量飼料，文獻指出海水肉食性魚類對碳水化合物的利用能力差 (Wilson, 1994)，可能為斑石鯛幼魚低蛋白組別增重率、SGR 較低；FCR 較高的原因。




本實驗各處理組的蛋白質效率 (PER) 分別為 1.82 ± 0.43 、 1.91 ± 0.38 、 1.82 ± 0.25 、 1.81 ± 0.23 、 1.76 ± 0.21 、 1.61 ± 0.24 ，餵食 60% 蛋白質處理組最低，餵食 40% 蛋白質處理組最高，結果顯示，在 55% 蛋白質處理組雖然增重率最高 ($477.47 \pm 24.42\%$)，但其蛋白質效率偏低 (1.76 ± 0.21)，而 Kim *et al.* (2003) 研究指出，隨著飼料中粗蛋白含量的增加，蛋白質效率逐漸下降。Santiago and Reyes (1991) 研究指出，等能量之高蛋白含量飼料含有的非蛋白能量不足，使部分飼料蛋白被魚體轉化為能量，導致蛋白質效率下降。此結果與鄭 (2006) 以蛋白質含量 40 - 60% 餵食老鼠斑 (*Cromileptes altivelis*)；黃 (2011) 以蛋白質含量 35 - 55% 餵食條石鯛 (*Oplegnathus fasciatus*)；Schuchardt *et al.* (2008) 以蛋白質含量 40 - 65%，油脂含量 15% 餵食赤鯛 (*Pagrus pagrus*)；蛋白質含量 36 - 56% 餵食條紋鋸鮨 (*Centropristis striata*) (Alam *et al.*, 2008)；蛋白質含量 30 - 43% 餵食黑鯨 (*Rhamdia quelen*) (Salhi *et al.*, 2004)；蛋白質含量 15 - 28% 餵食沙重牙鯛 (*Diplodus sargus*) (Ozorio *et al.*, 2006) 之實驗結果相近。

肥滿度有時被魚類學家及漁業工作者用來評價魚類生長狀況和漁產品優劣的指標，亦可稱為含肉量 (潘等，2008)。肝體比與內臟體比為衡量魚隻在飼料營養物質利用效率以及免疫之重要指標之一。(周等，2011；黃等，2015；Morris, 2001)。本實驗各處理組在餵食不同蛋白質



飼料 8 週後，各處理組肥滿度 (CF) 分別為 $2.39 \pm 0.06\%$ 、 $2.37 \pm 0.02\%$ 、 $2.45 \pm 0.03\%$ 、 $2.49 \pm 0.05\%$ 、 $2.41 \pm 0.02\%$ 、 $2.44 \pm 0.07\%$ 。隨著飼料蛋白質含量有上升趨勢，在 A4 (50%) 蛋白處理組為最高 ($2.49 \pm 0.05\%$)，此結果在 Kim *et al.* (2016) 以 35 - 60% 蛋白質飼料投餵條石鯛 (*Oplegnathus fasciatus*)；黃 (2008) 以 35 - 55% 蛋白質飼料投餵條石鯛；邵等 (2004) 以 23 - 41% 蛋白質含量飼料投餵寶石鱸 (*Scortum Barcoo*)；Kim *et al.* (2004) 以 30 - 55% 蛋白質飼料投餵許氏平鮎 (*Sebastes schlegeli*)；Biswas *et al.* (2009) 以 53 - 73% 蛋白質飼料投餵東方藍鰹鮪 (*Thunnus orientalis*) 之實驗有相近趨勢。內臟體比 (VSI) 分別為 $8.18 \pm 0.75\%$ 、 $7.02 \pm 0.75\%$ 、 $7.62 \pm 1.11\%$ 、 $7.94 \pm 0.81\%$ 、 $7.06 \pm 0.58\%$ 、 $6.18 \pm 1.12\%$ 。A1 處理組最高 ($8.18 \pm 0.75\%$)；餵食 60% 蛋白質處理組最低 ($6.18 \pm 1.12\%$)，A1 (35%) 至 A6 (60%) 蛋白質處理組之間有升高後降低趨勢，在 A4 (50%) 蛋白質處理組最高 ($7.94 \pm 0.81\%$)，A1 - A5 蛋白質處理組間均無顯著差異，此趨勢與孫 (2009) 以 40 - 60% 蛋白質飼料投餵褐石斑 (*Epinephelus bruneus*)；黃 (2011) 以 35 - 55% 蛋白質飼料投餵條石鯛 (*Oplegnathus fasciatus*)；朱等 (2015) 以 38 - 28% 蛋白質飼料投餵斜帶石斑魚 (*Epinephelus coioides*) 有相似結果，然而丁等 (2010) 以 34 - 56% 蛋白質飼料投餵星斑川鰈 (*Platichthys stellatus*) 結果指出，隨著飼料蛋白質含量增加，




內臟體比為下降趨勢。肝體比 (HSI) 分別為 $2.11 \pm 0.20\%$ 、 $1.70 \pm 0.34\%$ 、 $1.75 \pm 0.27\%$ 、 $2.12 \pm 0.26\%$ 、 $1.74 \pm 0.31\%$ 、 1.36 ± 0.14 ，A2 (40%) - A6 (60%) 蛋白質處理組間先上升後下降趨勢，此結果與邵等 (2004) 投餵寶石鱸、孫 (2009) 投餵褐石斑、黃 (2011) 投餵條石鯛、朱等 (2015) 投餵斜帶石斑魚、Lie *et al.* (1988) 投餵大西洋鱈 (*Gadus morhua*)、Kim *et al.* (2016) 投餵條石鯛之肝體比並未隨飼料蛋白含量上升之結果相異。Kim *et al.* (2001) 指出，以 45 - 65% 蛋白含量飼料投餵黑線鱈 (*Melanogrammus aeglefinus*)，隨著飼料蛋白含量增加，肝體比有下降趨勢；潘等 (2008) 與丁等 (2010) 指出，隨著飼料蛋白含量增加，肝體比亦有下降趨勢。魚類蓄積脂肪的主要構造有肝臟、腹腔脂肪組織以及肌肉，而各部位對脂肪蓄積能力則因魚種不同而有所不同 (Shearer, 2001)，因此推測本實驗內臟體比與肝體比之趨勢可能跟斑石鯛幼魚的蓄養環境、魚體大小以及能量利用能力與其他魚種不同，造成本實驗結果與部分文獻結果具備差異。

2. 不同蛋白質含量對斑石鯛幼魚體組成之影響


魚體的營養組成是反映魚類的生理狀態和營養水平重要的指標。隨著外界環境條件的改變，魚體組成也會有相應的變化 (朱, 2011)。本實驗斑石鯛幼魚餵食不同蛋白質含量之飼料，肌肉蛋白會隨飼料蛋白質含量增加而有上升之趨勢，此結果與其他文獻結果相似，包括：蛋



白質含量 35 - 55 % 餵食條石鯛 (黃, 2011); 蛋白質含量 40 - 60 % 餵食褐石斑 (孫, 2009); 蛋白質含量 32 - 44 % 餵食西大西洋笛鯛 (*Lutjanus campechanus*) (Miller *et al.*, 2005); 蛋白質含量 32 - 49 % 餵食黑鯛 (*Sparus macrocephalus*)(Zhang *et al.*, 2010); 餵食牙鯪蛋白質含量 35 - 65 % 的飼料 (Kim *et al.*, 2002)、餵食瑪拉巴石斑高蛋白質飼料 (Chen and Tsai, 1994; Shiau and Lan, 1996)、餵食黑鯰蛋白質含量 30 - 43 % 飼料 (Salhi *et al.*, 2004)、餵食老鼠斑蛋白質 40 - 60 % 飼料 (鄭, 2006; Williams *et al.*, 2004), 文獻指出, 魚類體蛋白的含量可反映其成長表現, 尤其是肌肉組織的增長。魚類消化蛋白質會釋放游離氨基酸, 體內各組織利用氨基酸維持體蛋白或合成新的蛋白質 (林, 2008), 實驗二結果顯示飼料中添加適當蛋白質含量, 可供給魚類體內各組織利用與維持體蛋白或增生新的蛋白質儲存於肌肉中; 然而另有研究指出, 隨著飼料中粗蛋白含量變化, 有些魚類體組織粗蛋白含量並不受影響, 如四鬚魮 (Adrian and Shim, 1997)、佛羅里達紅吳郭魚 (Clark *et al.*, 1990)、棕鱒(*Salmo trutta*)(Arzel *et al.*, 1995), 鬍子鯰(*Ictalurus punctatus*) (Page and Andrews, 1973)、條紋鱸(*Morone saxatilis*) (Millikin, 1982)。本實驗肌肉蛋白含量平均結果高於下列物種: 以魚粉做為蛋白源餵食條石鯛 (*O. fasciatus*)(黃, 2011); 以魚粉與酪蛋白為蛋白源餵食初重 10.7 g 點帶石斑魚 (*E. coioides*) (Luo *et al.*, 2004); 以魚粉為蛋白源餵食初



重 6.7 g 條紋鋸鰩 (*C. striata*) (Alam *et al.*, 2008); 以魚粉為蛋白源餵食初重 18 g 藍身大石斑 (*E. tukula*) (林, 2008); 以魚粉為蛋白源餵食初重 24 g 褐石斑 (*E. bruneus*) (孫, 2008); 但低於以魚粉為蛋白源餵食初重 4.58 g 老鼠斑 (*C. altivelis*) (鄭, 2006)。本實驗以秘魯紅魚粉做為蛋白源且初重為 16 g 的斑石鯛幼魚, 在實驗飼料成份、魚體大小及種類皆與上述研究條件有些差異, 文獻指出, 魚類粗成份會因種類、大小、水溫、養殖環境、飼料組成等因素不同而有所不同 (Jobling, 2001)。因此推測可能是上述因素使本實驗魚隻肌肉蛋白質含量與上述參考文獻具備差異。本實驗肌肉油脂含量介於 $2.53 \pm 0.12\%$ - $4.36 \pm 0.54\%$ 之間, 飼料蛋白含量 50 - 60% 處理組魚體肌肉油脂含量隨飼料蛋白含量增加而有上升趨勢, 此結果與藍身大石斑以及瑪拉巴石斑的研究結果一致 (Shiau and Lan, 1996; Tuan and Williams, 2007), 當飼料蛋白質含量達到魚體生長時, 過多的蛋白質會代謝成能量, 藍 (1995) 指出, 石斑魚體內過剩能量會轉化成脂肪蓄積在肌肉組織中, 斑石鯛投餵高蛋白含量飼料, 過高蛋白質代謝成能量並轉成脂肪, 使其肌肉油脂含量增加。飼料蛋白含量 35% - 45% 處理組魚隻肌肉油脂含量隨飼料蛋白增加而有下降的趨勢, 因本實驗低蛋白飼料添加較多碳水化合物作為等能量, 劉 (2014) 指出, 飼料碳水化合物過高時, 造成肝臟及其他組織中糖原和脂肪沉積, 推測斑石鯛對碳水化合物利用率較差且



部分碳水化合物轉成油脂累積於組織中，使魚體肌肉油脂含量比高蛋白質組別含量較高。各組肌肉灰份含量不受飼料蛋白質含量增加而上升，此結果與 Kim *et al.* (2003)、鄭 (2006) 孫 (2009)、丁 (2010)、潘 (2011)、黃 (2011) 實驗結果相似，然而邵 (2004) 研究指出，隨著飼料蛋白質含量增加，魚體灰份含量有上升趨勢，Shearer (1994) 研究指出，魚類個體大小可能是影響灰分含量的重要因素之一。本實驗魚體肌肉蛋白質、油脂與灰份組成含量可能與隨外界環境條件的改變有關，如飼料蛋白質來源、蛋白質與能量比例、營養組成、饑餓及魚苗生長階段影響其體組成。NRC (1993) and Tucker (1998) 指出，肉食性魚種蛋白質需求約 40 - 55 % 之間，黃 (2011) 指出，條石鯛最適成長飼料蛋白質為 47.91 %；Kim *et al.* (2016) 指出，7.1 g 條石鯛在水溫 19 - 22 °C 下，最適飼料蛋白質含量為 45.2 %，本實驗以折線迴歸求得初重 16 g 斑石鯛幼魚最適成長飼料蛋白質含量為 57.58 %，其蛋白質需求比一般肉食性食用魚高。文獻指出魚類的蛋白質需求量會受水溫變化而影響，適宜環境水溫下，隨著水溫的提高，魚隻的耗氧率和排氮率皆會提高，並且蛋白酶、澱粉酶和脂肪酶活性而增大，進而影響魚的代謝率與蛋白質需求 (徐與黃，2011)。文獻指出，條石鯛幼魚隨水溫上升各消化器官的蛋白酶活性均呈升高的趨勢，使其消化蛋白質的能力增強，因此在水溫時可適當增加餌料中蛋白質比例 (羅等，2010)。本次成長實驗



魚隻蓄養平均水溫為 29 ± 1 °C，試驗結果指出，飼料效率、蛋白質效率亦隨著飼料添加蛋白質含量上升而下降，因此推測可能是斑石鯛幼魚蛋白質消化酵素活性較一般魚類高以及較高蓄養水溫影響斑石鯛幼魚代謝速率，進而造成其蛋白質需求高於一般肉食性魚類。

3. 飼料蛋白質節約效應對魚類營養需求之影響

本實驗求得初重約 16 g 斑石鯛幼魚於水溫 29 ± 1 °C 下，飼料蛋白質含量 57.58 % 有最大增重率。黃 (2011) 與 Kim *et al.* (2016) 指出，條石鯛最適生長蛋白含量約為 45 - 50 % 之間，在魚類營養需求中，脂質的需求量為僅次於蛋白質的主要營養素 (Lee and Sinnhuber, 1972; Farkas *et al.*, 1977)，同時影響魚肉的品質及營養 (Watanabe *et al.*, 2001; Williams *et al.*, 2002, 2003)。飼料中若添加適量脂質，可以提高飼料的可消化能，減少蛋白質做為能量利用的比例，使蛋白質可利用於成長，達到蛋白質節約效應 (Protein-sparing effect)，可減少含氮廢物排泄對環境造成的汙染及降低飼料成本 (Corraze, 2001; Kaushik, 2001)。文獻指出，黃鰭鯛 (*Acanthopagrus latus*) 飼料中油脂含量由 15 % 提高至 20 %，蛋白質需求量可由 60 % 降低至 40 %；Takeuchi *et al.* (1978) 指出，虹鱒 (*Oncorhynchus mykiss*) 飼料中油脂含量由 15 % 提高至 20 %，蛋白質需求量可由 48 % 降低至 35 %；Sitj à Bobadilla and Pérez-Sánchez (1999) 指出，歐洲海鱸 (*Dicentrarchus labrax*) 飼料中脂




肪的含量由 9 % 提高至 17 % 不影響成長，並可節約飼料中蛋白質達 9 %，其他諸如歐洲鰻 (Dosoretz and Degani, 1987)、銀鮭 (Clarke *et al.*, 1982; Clarke and Higgs, 1984)、青甘鱒 (Takeda *et al.*, 1975; Shimeno *et al.*, 1980; Takeuchi *et al.*, 1992)、雜交鱸 (Millikin, 1983) 研究結果一致，因此利用脂肪來節約飼料蛋白質對於肉食性魚類是可行的 (李, 1998; Oliva-Teles, 2000; Sargent *et al.*, 2002)，本實驗各組油脂含量皆為 7 %，然而黃 (2011) 指出，條石鯛最適飼料油脂添加含量約為 9 %。因此推斷本實驗飼料油脂需求可能無法滿足斑石鯛幼魚生長，並且受到較高水溫以及體型因素之影響，造成斑石鯛幼魚有較高蛋白質需求。未來應進一步探討飼料添加不同含量油脂對斑石鯛最適生長需求以及蛋白質節約效應之油脂添加量，以減少飼料蛋白質作為能量的消耗。

4. 飼料營養組成對魚類生長與活存率之影響

實驗二結果指出，飼料添加 35 % 蛋白質組別之魚苗增重率、特殊成長率最低；飼料轉換率最高，並與 A2 - A6 蛋白質處理組具顯著差異 ($p < 0.05$)。文獻指出飼料蛋白質含量不足會造成生物成長下降、飼料效率變差及食慾減退等現象 (Serrano *et al.*, 1992)；另研究指出蛋白質為合成體內激素與酵素之原料，若飼料蛋白含量過低除導致長緩慢，亦會造成魚隻免疫力下降 (劉, 2008)。鄭 (2006) 指出不同含量蛋白飼料投餵老鼠斑幼魚 8 週後，其非特異性免疫指標隨飼料蛋白含量



增加有上升趨勢;孫 (2008) 指出以高蛋白飼料 55 % 與 60 % 組別投餵褐石斑魚 12 週, 非特異性免疫指標較低蛋白質含量飼料 40 %、50 %、55 % 組別有顯著提升效果。Kiron *et al.* (1995) 指出投餵低蛋白質含量飼料魚虹鱒會降低免疫功能。因此推論本次實驗 A1 組斑石鯛幼魚可能因飼料蛋白質含量不足, 生長及免疫功能, 使其活存率偏低。實驗二為配置六組不同蛋白等油脂飼料, 並以 α - starch 及 α - cellulose 將各組調整為等能量飼料投餵斑石鯛幼魚, 各組醣類添加量分別為 35.82 %、29.37 %、22.93 %、16.48 %、10.03 % 以及 3.6 %, 其中 35 % 蛋白飼料組別醣類添加量為最高 (35.82 %)。醣類主要生理功能為提供動物重要能量與體組織細胞成份來源, 如核酸組成以及合成體脂的重要元素, 醣類可改善飼料蛋白質利用效率, 並可做飼料主要黏著劑增進飼料水中安定性與懸浮性 (鄭, 2006)。然而, Phillips *et al.* (1948) 指出以高碳水化合物飼料投餵鱒魚, 會導致魚成長緩慢及提高死亡率, Furuichi and Yone (1980) 於鯉魚、青甘鯪試驗指出, 飼料添加澱粉含量超過 20 % 時會造成魚隻成長遲緩並降低飼料利用效率。Wilson (1994) 指出, 淡水魚對飼料中碳水化合物利用能力較佳, 利用率為飼料含量 25 - 56 %; 海水或冷水魚利用效率則低於 20 %; 肉食性魚類比雜食性魚類對碳水化合物利用率差 (Shikata *et al.*, 1993; Shimeno *et al.*, 1993; Hemre *et al.*, 1995; Jantrarotai *et al.*, 1998; Deng *et al.*, 2000)。本實驗結果



發現，飼料蛋白質 35 % 組別魚隻活存率表現低於其他處理組 (36 %); 肝體比 (2.11 ± 0.20 %) 與內臟體比 (8.18 ± 0.75 %) 皆較其餘組別高。文獻指出，飼料中添加過多碳水化合物會造成高血糖及提高肝臟肝醣蓄積影響代謝 (NRC, 1993; Hemre *et al.*, 2002)。劉 (2014) 指出，魚隻攝食高糖飼料後，造成肝臟及其他組織中糖原和脂肪沉積。符合本實驗結果，並與其他研究結果相似 (Ren *et al.*, 2011; Mohanta *et al.*, 2009; Yengkokpam, 2006)，當魚體攝入了多餘的碳水化合物後，脂肪會在腸繫膜沉積。脂肪沉積可能是多餘的碳水化合物在肝臟中進行的脂肪重新合成，或因糖類代替脂肪作為能量來源，使攝入的脂肪過度積累的結果 (劉，2014)。推測飼料添加過量糖類為導致 35 % 飼料蛋白處理組的肝體比和內臟體比高於高蛋白組的原因，因此若飼料添加過量醣類，對魚類免疫及生長具有負面影響。

結論



1. 實驗一斑石鯛雄魚為自然成熟，雌魚以 HCG 1000 I.U./kg、LHRH-A2 20 μ g/kg 各間隔 24 hr 注射二次可使其性腺成熟並藉由人工授精獲取受精卵，平均受精率為 $71.20 \pm 0.10\%$ 。
2. 實驗一水溫 $23 \pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$ 下，斑石鯛 29 小時後孵出，剛孵化之仔魚體標準長 $1.96 \pm 0.01\text{ mm}$ ；孵化後第 3 天魚體標準長 $3.65 \pm 0.05\text{ mm}$ 卵黃囊完全吸收，仔魚一開口可攝食輪蟲與橈腳類無節幼蟲，隨成長投餵較大體型之橈腳類幼生及成蟲，第 23 天後增加餵食豐年蝦無節幼蟲，孵化後第 21 天進入稚魚期；第 28 天除餵食餌料生物並開始以少量商業飼料馴餌，至第 44 天完成變態進入幼魚期，魚體標準長 $25.98 \pm 3.70\text{ mm}$ ，此時已可完全投餵商業人工飼料。
3. 實驗一斑石鯛餌料生物投餵序列依序為輪蟲與橈腳類無節幼蟲、橈腳類幼生、橈腳類成蟲與豐年蝦無節幼蟲，各餌料轉換時期須交疊投餵。
4. 實驗二以祕魯紅魚粉為蛋白質來源，不同蛋白質含量飼料投餵斑石鯛幼魚，飼料蛋白質含量 55% 處理組之平均末重、增重率、FCR、SGR 均有最佳表現。以折線回歸求得水溫 $29 \pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$ 下，斑石鯛幼魚最適飼料蛋白質需求為 57.58%。

參考文獻



丁立雲，張利民，王際英，孫麗慧，帥繼祥，崔立嬌，孫永智，2010。

飼料蛋白水平對星斑川鰈幼魚生長、體組成及血漿生化指標的影響。中國水產科學，第 17 卷，第 6 期，1285-1292。

于道德，2008。三種海水經濟魚類早期發育生物學的研究。中國科學院海洋研究所博士論文。

王中樞，2008。飼料中不同蛋白質與油脂含量對白條海葵魚幼苗成長與活存率之影響。國立台灣海洋大學水產養殖學系碩士論文。

王立改，魯瓊，詹煒，陳睿毅，肖志忠，樓寶，2016。斑石鯛肌肉營養成分分析。食品工業科技，第 9 期，357-362。

王雨福，2015。斑石鯛 (*Oplegnathus punctatus*) 早期生長特徵及消化系統發育的研究。中國科學院海洋研究所碩士論文。

尤宏爭，韓天，劉永鵠，逄雲召，顧中華，于燕光，錢紅，2015。斑石鯛工廠化養殖技術初探。中國水產，第 9 期，82-84。

史海東，毛國民，王海嶽，2004。溫度和鹽度對橫帶髭鯛胚胎發育的影響。上海水產大學學報，第 17 卷，第 3 期，230-234。

江玉嫻，鄭明忠，何源興，張文炳，彭仁君，陳文義，2012。棘頰海葵魚之生殖行為及初期發育。水產研究，第 22 卷，第 1 期，35-49。

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，第 22 卷，第 1 期，71-80。
- 江福松，陳顯文，2000。世界魚粉市場與台灣魚粉需求概況。中國水產月刊，第 567 期，3-18。
- 朱仙龍，吳小易，李偉峰，王琚，陳國華，2015。不同蛋白與脂肪日投餵水平對斜帶石斑魚生長的影響。熱帶生物學報，第 6 卷，第 1 期，1-10。
- 朱興華，王桂芹，2011。飼料能量和蛋白水平對烏鱧生長、飼料利用和體組成的影響。飼料工業，第 32 卷，第 2 期，15-18。
- 全漢鋒，肖志忠，2007，條石鯛人工繁殖技術研究，台灣海峽，第 26 卷，第 2 期，295-300。
- 曲漱蕙，李嘉泳，黃浙，張天蔭，1980。動物胚胎學。高教出版社。
- 沈世傑，1993。台灣魚類誌，286。
- 李愛傑，1998。水產動物營養與飼料學。水產出版社。
- 邱昀範，2005。飼糧二十二碳六烯酸與蝦紅素對豐年蝦的抗氧化狀態的共同影響。國立台灣海洋大學水產養殖學系碩士論文。
- 呂明毅，2015。臺灣珊瑚礁魚類人工繁殖技術研發的瓶頸與突破。觀賞魚與周邊產業，農業生技產業季刊，第 43 期，26-33。
- 呂逸林，冼宜樂，鐘金水，林志遠，陳世欽、蔡萬生，2012。寒潮威脅下澎湖海域養殖管理的作為。水試專訊，第 37 期，21-25。



佟雪紅，2010。大菱魷早期發育及其相關生理特性研究。中國科學院海洋研究所博士論文。

何滔，2011。條石鯛早期發育及相關酶活性的研究。中國科學院海洋研究所博士論文。

何源興，陳哲明，施勝中，陳文義，2006。粉紅海葵魚之生殖行為及育苗研究。水產研究，第 14 卷，第 2 期，57-67。

邵慶均，蘇小鳳，許梓榮，舒妙安，2004。飼料蛋白水平對寶石鱸生長和體組成影響研究。水生生物學報，第 28 卷，第 4 期，367-373。

林翌涵，邱韻霖，歐俊龍，謝恒毅，蔡萬生，2013。條石鯛養殖試驗及低溫耐受性探討。水試專訊，第 44 期，16-19。

林偉雄，蔡發盛，陳偉洲，陳楷亮，賴學文，黃美珍，1998。溫鹽度對斜帶髭鯛孵化率及仔魚存活率的影響。臺灣海峽，第 17 卷，第 3 期，305-308。

林寶林，2008。飼料中不同蛋白質量與蛋白質來源對藍身大石斑成長及體組成之影響。國立台灣海洋大學水產養殖學系碩士論文。

奉琳娜，林向東，成一偉，2016。不同養殖模式對斑石鯛魚肉品質的影響及分析。漁業現代化，第 42 卷，第 4 期，35-38。

周瑞良，2012。人工飼料。科學發展，第 473 期，38-43。

周華，樊啟學，宗克金，宋林，張雲龍，楊威，2011。飼料碳水化合物



物水平對鰻幼魚生長和體成分的影響。水生生態學雜誌。第 32 卷，
第 3 期，108-113。

洪平，1980。科學飼料及其配置。

范超，2016。斑石鯛卵鞭蟲病和上皮囊腫病的研究。上海海洋大學碩士論文。

柳學周，徐永江，劉新富，陳超，王妍妍，馬愛軍，2009。條斑星鰈
(*Verasper moseri*) 的早期生長發育特徵。海洋與湖沼，第 40 卷，
第 6 期，699-706。

徐奇友，黃金鳳，2011。環境溫度和蛋白質水平對魚類生長和代謝的
影響。東北農業大學學報，第 42 卷，第 12 期，1-8。

徐恭昭，1984。魚類生命週期及其發育階段。海洋科學，第 1 卷，
61-63。

殷名稱，1991。魚類早期生活史研究與其進展。水產學報，第 15 卷，
第 4 期，348-358。

殷名稱，1995。魚類仔魚期的攝食和生長。水產學報，第 19 卷，第 4
期，336-341。

孫忠業，2009。不同蛋白質含量對褐石斑幼魚成長與免疫反應之影響
及不同油脂含量對珍珠石斑幼魚成長與體組成之影響。國立台灣
海洋大學水產養殖學系碩士論文。



陳紫嫻，蘇惠美，2005。水產種苗的生產。科學發展，第 385 期，32-41。

倪夢麟，範衛明，毛志增，羅海忠，2007。舟山沿海條石鯛人工育苗

技術研究。浙江海洋學院學報，第 26 卷，第 2 期，143-146。

區又君，李加兒，林鋒，2014。南海區馴養條石鯛親魚的初次性成熟

和產卵。南方水產科學，第 10 卷，第 5 期，82-86。

常抗美，毛建平，吳劍峰，張科傑，2005。條石鯛胚胎及仔稚魚的發

育。上海水產大學學報，第 14 卷，第 4 期，401-405。

張旭，鐘鴻幹，張海濱，2015。南方地區斑石鯛養殖技術要點。河北

漁業，第 2 期，41-42。

張道南，1997。褶皺臂尾輪蟲的培養。餌料生物培養，水產出版社，

43-164。

國際漁產資訊，2013。祕魯鯷魚減產導致魚粉價格漲破每公噸 2000

美元大關。行政院農委會漁業署，246。

國際漁產資訊，2014。OECD 與 FAO 共同發表 3014 年漁業及水產品

展望。行政院農委會漁業署，264。

黃丁士，林金榮，顏枝麟，劉繼源，陳其林，1986。鮭形石斑魚之人

工繁殖-I 種魚的催熟，採卵及胚胎的發育。臺灣省水產試驗所。

黃永春，胡石柳，周澤斌，鄭建輝，2006。鮫狀黃姑魚早期發育特徵

及對溫鹽度的適應性。中國海洋大學學報，第 36 卷，第 1 期



101-106。

黃春紅，曾斌，陸東東，羅昌，肖調義，2015。生物學指標在評定養殖鯽肝臟脂肪蓄積程度中的作用。水產學報，第 39 卷，第 1 期。

黃熙弼，2011。飼料中不同蛋白質與油脂含量對條石鯛幼魚成長及體組成之影響。國立臺灣海洋大學水產養殖研究所碩士論文。

彭志蘭，柳敏海，羅海忠，傅榮兵，張鳳萍，毛志增，2010。條石鯛仔魚饑餓試驗及不可逆點的確定。水產科學，第 29 卷，第 3 期，152-155。

溫憑，蔡良候，葉金聰，林向陽，1998。鱸魚親魚海水網箱培育研究。福建水產，第 4 期，26-30。

趙文榮，曾金成，陶申秋，2002。餌料生物學 I、II。

鄭安倉，2006。不同能量來源取代魚粉蛋白能量對點帶石斑之效應。國立台灣海洋大學水產養殖學系博士論文。

鄭新鴻，陳子嫻，2009。海水魚苗的重要餌料-橈足類。水試專訊，第 26 期，34。

鄧昭彬，2008。龍膽石斑魚苗養成技術之研究。國立高雄師範大學生物科技系碩士論文。

樓允東，1996。組織胚胎學。中國農業出版社。

劉付永忠，王雲新，黃國光，劉曉春，林浩然，2000。斜帶石斑魚親



魚強化培育及自然產卵研究。中山大學學報 (自然科學版), 第 39 卷, 第 6 期, 81-85。

劉宗柱, 張培軍, 宋聚彪, 宋現君, 1997。海水魚類營養需要特點和配合餌料生產。飼料研究, 第 2 期, 2-4。

劉迎隆, 2014。不同添加量的糖對軍曹魚生長代謝的影響。中國海洋大學水產學院碩士論文。

劉基, 詹寶華, 蘇展, 1986。赤點石斑魚胚胎及仔魚發育的初步觀察。福建水產, 第 4 期, 16-22。

劉富光, 2008。魚類飼料的營養問題與研發策略 (上)。水產試驗所淡水繁養殖研究中心。

劉富光, 黃之暘, 2012。觀賞水族產業發展與管理。行政院農業委員會水產試驗所。

潘庭雙, 程玉冰, 侯冠軍, 施培松, 曹永紅, 2008。不同蛋白水平飼料對斑點叉尾鮰生長的影響。飼料研究, 第 4 期, 56-58。

盧光胤, 2016。瓜子蠟種魚繁殖表現評估及大豆粉與發酵豆粉取代魚粉對瓜子蠟幼魚成長之影響。國立台灣海洋大學水產養殖學系碩士論文。

錢雪橋, 崔奕波, 解綬啟, 薛敏, 2002。養殖魚類飼料蛋白需要量的研究進展。水生生物學報, 第 26 卷, 第 4 期, 410-416。



謝孟儒，2010。飼料以廚餘粉取代魚粉對吳郭魚、龍膽石斑和點帶石斑成長及體組成的影響。國立台灣海洋大學水產養殖系碩士論文。

羅奇，區又君，艾麗，李加兒，2010。溫度和 pH 對條石鯛幼魚消化酶活力的影響。熱帶海洋學報，第 29 卷，第 5 期，154-158。

蘇惠美，王淑欣，蘇茂森，1998。海水輪蟲培養用餌料之評估。上海水產大學學報（第三屆世界華人魚蝦營養研討會論文集）7，355-359。

蘇惠美，1999。餌料生物之培養與利用。台灣省水產試驗所東港分所出版。

川辺勝俊，木村ジョンソン，2007a. 小笠原諸島父島におけるイシガキダイの親魚養成と採卵. 水産増殖 (Aquaculture Science) 55, 135-136.

川辺勝俊，木村ジョンソン，2007b. 小笠原諸島父島におけるイシガキダイ人工種苗の養成. 水産増殖 (Aquaculture Science) 55, 65-69.

中村章彦，椎原久幸，藤田征作，和田和彦，松原中，山口昭宣，1988. 特産高級魚生産試験（イシガキダイ）-VI. 鹿児島県水産試験場事業報告書. 昭和 62 年度, 73.

石橋泰典，2000. イシダイ・イシガキダイ. 海産魚の養殖(熊井英水編),



湊文社, 東京, 157-168.

平野禮次郎, 1974. 現状と問題点 - 海産魚. 魚類の成熟と採卵. (日本水産學會編), 恒星社厚生閣, 東京, 13-17.

宮下 盛, 2000. 海産魚類の養殖技術の現状と課題. 海産魚の養殖 (熊井英水編), 湊文社, 東京, 18-20.

原田輝雄, 宮下 盛, 横山達雄, 1979. 養成イシガキダイからの採卵・人工ふ化 - 特にふ化に及ぼす水温および比重の影響. 近畿大学農学部紀要, 12, 43-49.

高野瀬和治, 松原 中, 平原 隆, 脇田敏夫, 吉満 敏, 松元正剛, 1999. 特産高級魚生産試験 (イシガキダイ - I). 鹿児島県栽培漁業センター事業報告書, 60.

高野瀬和治, 松原 中, 平原 隆, 脇田敏夫, 中野正明, 北上一男, 2000. 特産高級魚生産試験 (イシガキダイ - I). 鹿児島県栽培漁業センター事業報告書, 61.

高野瀬和治, 松原 中, 外菌博人, 脇田敏夫, 中野正明, 清水則和, 2001. 特産高級魚生産試験 - I (イシガキダイ). 鹿児島県栽培漁業センター事業報告書, 53.

高野瀬和治, 松原 中, 外菌博人, 中野正明, 野元 聡, 清水則和, 2002. 特産高級魚生産試験 - I (イシガキダイ). 鹿児島県栽培漁業セン



ター事業報告書, 50.

富安正藏, 藤田征作, 高野瀬和治, 竹丸 巖, 松原 中, 水野 豊,

1994. 特産高級魚種苗生産試験 (イシガキダイ- XIII). 鹿児島
県栽培漁業センター事業報告書, 67.

富安正藏, 藤田征作, 高野瀬和治, 竹丸 巖, 松原 中, 椎原久幸, 1995.

特産高級魚生産試験 (イシガキダイ- XIV). 鹿児島県栽培漁業セ
ンター事業報告書, 21-24.

道津喜衛, 夏苺 豊, 1967. イシガキダイおよびイシダイの体色はん

紋にあらわれた第2次性徴. 長崎大学水産学部研究報告, 1-7.

愛媛県水産試験場, 1994. イシガキダイの養殖マニュアル. 水産庁,

(社) 全国かん水養魚協会, 愛媛県, 35.

熊井英水, 2005. イシダイ, イシガキダイおよびその交雑種イシガキ

イシダイ. 海水魚 (熊井英水編), 恒星社厚生閣, 東京, 205-223.

織田康平, 松原 中, 脇田敏夫, 上村健, 松元則男, 松元正剛, 2000. 特

産高級魚生産試験 (イシガキダイ) - XIX. 鹿児島県栽培漁業セ
ンター事業報告書.

藤田征作, 高野瀬和治, 中村章彦, 松原 中, 成尾隼人, 西原拓夫,

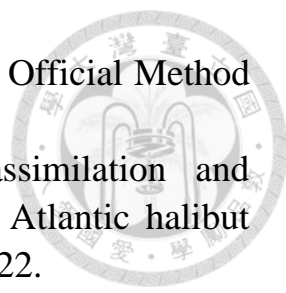
1983. 特産高級魚種苗生産試験 (イシガキダイ) - I. 鹿児島県水産
試験場事業報告書, 昭和 57 年度, 65.

藤田征作, 松原 中, 織田康平, 脇田敏夫, 松元則男, 松元正剛, 1999.

特産高級魚生産試験 (イシガキダイ) - XVIII. 鹿児島県栽培漁業

センター事業報告書.

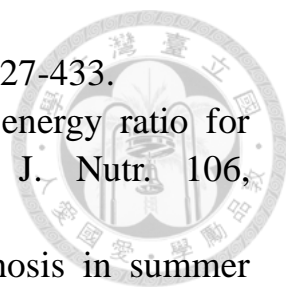
- Adrian, E., Shim, K.F., 1997. Growth response of juvenile *Barbodes altus* fed isocaloric diets with variable protein levels. *Aquaculture* 158, 321-329.
- Ahlstrom, E.H., Moser, H.G., 1980. Characters useful in identification of pelagic marine fish eggs. *Reports of California Cooperative Oceanic Fisheries Investigations* 21, 121-131.
- Akand, A.M., Mian, M.I., Haque, M.M., 1989. Effect of dietary protein level on growth, feed conversion and body composition of Shingi (*Heteropneustes fossilis* Bloch). *Aquaculture* 77, 175-180.
- Akiyama, D.M., Dominy, W.G., Lawrence, A.L., 1991. Penaeid shrimp nutrition for the commercial feed industry. *American Soybean Association*.
- Akiyama, T., Arai, S., Murao, T., Nose, T., 1985. Threonine, histidine and lysine requirements of chum salmon fry. *Bull. Jpn. Soc. Sci. Fish.* 51, 635-639.
- Alam, M.S., Watanabe, W.O., Carroll, P.M., 2008. Dietary Protein Requirements of Juvenile Black Sea Bass, *Centropristis striata*. *J. World Aquacult. Soc.* 39, 656-663.
- Alam, M.S., Watanabe, W.O., Carroll, P.M., Rezek, T., 2009. Effect of dietary protein and lipid levels on growth performance and body composition of black sea bass *Centropristis striata* (Linnaeus 1758) during grow-out in a pilot-scale marine recirculating system. *Aquac. Res.* 40, 442-449.
- Alava, V.R., and Lim, C., 1983. The quantitative dietary requirements of *Penaeus monodon* juveniles in a controlled environment. *Aquaculture* 30, 53-61.
- Anderson, R.J., Kienholz, E.W., Flickinger, S.A., 1981. Protein requirements of smallmouth bass and largemouth bass. *J. Nutr.* 111, 1085-1097.
- Andrews, J.W., Sick, I.V., and Baptist, G.J., 1972. The influence of dietary protein and energy levels on growth and survival of penaeid shrimp. *Aquaculture* 1, 341-347.

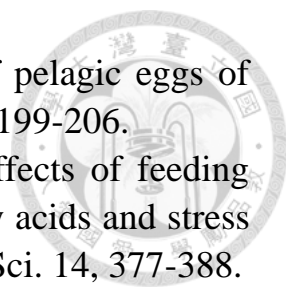
- 
- AOAC (Association of Official Analysis Chemists), 1995. Official Method of Analysis. 16 th ed. AOAC, Arlington, VA.
- Applebaum S.L., Ronnestad I., 2004. Absorption, assimilation and catabolism of individual free amino acids by larval Atlantic halibut (*Hippoglossus hippoglossus*). Aquaculture 230, 313-322.
- Arzel, J., M é aillier, R., Kerleguer, C., Delliou, H.L., Guillaume, J., 1995. The protein requirement of brown trout (*Salmo trutta*) fry. Aquaculture 130, 67-78.
- Baker, D.H., 1986. Problems and potfalls in animal experiments designed to establish dietary requirements for essential nutrients. J. Nutr. 116, 2339-2349.
- Balazs, G.H., 1973. Preliminary studies on preparation and feeding of crustacean diet. Aquaculture 2, 369-377.
- Bell, J.G., 1998. Current aspects of lipid nutrition in fish farming. In: K.D. Black, A.D. Pickering (Eds.) Biology of farmed fish. Sheffield Academic, Sheffield (UK), 114-145.
- Biswas, B.K., Ji, S.C., Biswas, A.K., Seoka, M., Kim, Y.S., Kawasaki, K.I., Takii, K., 2009. Dietary protein and lipid requirements for the Pacific Bluefin tuna *Thunnus orientalis* juvenile. Aquaculture 288, 114-119.
- Blaxter, J.H.S., Hempel., 1963. The influence of egg size on herring larvae (*Clupea harengus L.*). J. Cons. Int. Explo. Mer 28, 211-240.
- Blaxter, J.H.S., 1986. Development of sense organs and behavior in teleost larvae with special reference to feeding and predator avoidance. Trans. Am. Fish. Soc. 115, 98-114.
- Bowen, S.H., 1987. Dietary protein requirements - A reassessment. Can. J. Fish. Aquat. Sci. 44, 1995-2001.
- Bromage, N., Cumaranatunga, R., 1988. Egg production in the rainbow trout. Rec. Adv. Aquacult. 3, 63-138.
- Brooks, S., Tyker, C. R., Sumpter, J. P., 1997. Egg quality in fish: what makes a good egg? Rev. Fish Biol. Fisheries 7, 387-416.
- Brown, P.B., Dabrowski, K., Garling, D.L., 1996. Nutrition and feeding of yellow perch (*Perca flavescens*). J. Appl. Ichthyol. 12, 171-174.
- C. Dong, S. Weng, Y. Luo, M. Huang, H. Ai, Z. Yin, J. He., 2010. A new marine megalocytivirus from spotted knifejaw, *Oplegnathus punctatus*, and its pathogenicity to freshwater mandarin fish, *Siniperca chuatsi*. Virus. Res. 147, 98-106.
- Chen, H.Y., Chen, L.L., 1986. The experiment for the development of artificial diet for the grouper *Epinephelus salmonids*. In: Chuang J.L.

- and Shiau S.Y. (Eds.), Research and development of Aquatic Animal Feed in Taiwan. J. Fish. Soc. Taiwan 1, 95-100.
- Chen, H.Y., Tsai, J.C., 1994. Optimal dietary protein level for the growth of juvenile grouper, *Epinephelus malabaricus*, fed semipurified diets. Aquaculture 119, 256-271.
- Chen, J.M., Ye, J.Y., Pan, Q., Shen, B.Q., Wang, Y.H., 2010. Effect of dietary protein levels on growth performance and whole body composition of summerling and winterling spotted barbell (*Hemibarbus maculatus* Beeker). Aquac. Nutr. 16, 412-418.
- Cheng, Z.J., Hardy, R.W., Ursy, J.L., 2003. Effects of lysine supplementation in plant protein-base diets on the performance of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) and apparent digestibility coefficients of nutrients. Aquaculture 215, 225-265.
- Chong, A.S.C., Hashim, R., Ali, A.B., 2000. Dietary protein requirements for discus (*Symphysodon* spp.). Aquac. Nutr. 6, 275-278.
- Chou, R.L., Su, M.S., Chen, H.Y., 2001. Optimal dietary protein and lipid levels for juvenile cobia (*Rachycentron canadum*). Aquaculture 193, 81-89.
- Chou, Y.H., Liou, C.H., Lin, S.C., Wu, C.H., 1993. Effects of highly unsaturated fatty acids in broodstock diets on spawning and egg quality of black porgy (*Acanthopagrus schlegelii*). J. Fish. Soc. Taiwan 20, 167-176.
- Clark, A.E., Watanabe, W.O., Olla, B.L., Wicklund, R.I., 1990. Growth, feed conversion and protein utilization of Florida red tilapia fed isocaloric diets with different protein levels in seawater pools. Aquaculture 88, 75-85.
- Clarke, W.C., Higgs, A.D., Markert, J.R., Shelbourn, J.E., Castledine, A.J., 1982. Effect of varying dietary protein: lipid ratios on growth and body composition of coho salmon (*Oncorhynchus kisutch*) reared at different temperatures. Can. Data Rep. Fish. Aquat. Sci. 373, 18.
- Clarke, W.C., Higgs, A.D., 1984. Influence of varying dietary protein: lipid ratios and water temperature of juvenile coho salmon (*Oncorhynchus kisutch*). Proc. Int. Symp. Feeding Nutrition in Fish, Aberdeen, Scotland, 10-13.
- Corraze, G., 2001. Lipid nutrition. In: Guillaume, J., Kaushik, S., Bergot, P., Metailler, R., (Eds), Nutrition and Feeding of Fish and Crustaceans. Praxis press, Chichester, UK, 111-131.
- Craik J.C. A., Harvey S. M., 1984. Biochemical changes occurring

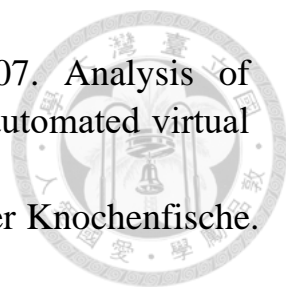
- during final maturation of eggs of some marine and freshwater teleosts. *J. Fish Biol.* 24, 599-610.
- Dabrowski, K., 1977. Protein requirements of grass carp fry (*Ctenopharyngodon idella* Val.). *Aquaculture* 12, 63-73.
- De Assis J.M.F., Carvalho R.F., Barbosa L., Agostinho, C.A., Dal Pai-Silva, M., 2004. Effects of incubation temperature on muscle morphology and growth in the pacu (*Piaractus mesopotamicus*). *Aquaculture* 237, 251-267.
- De la Higuera M., Garc á-Gallego M., Sanz A., Hidalgo M.C., Su árez M.D., 1989. Utilization of dietary protein by the eel (*Anguilla anguilla*): optimum dietary protein level. *Aquaculture* 79, 53-61.
- De long, D.C., Halver, J.E., Mertz, E.T., 1958. Nutrition of salmonid fishes. VI. Protein requirements of chinook salmon at two water temperatures. *J. Nutr.* 65, 589-599.
- De Pauw, N and G. Pruder, 1984. Use and production of microalgae as food in aquaculture. In M. Bilio, H. Rosenthal and G.J. Sindermann (eds.), *Realism in aquaculture: achievements, constraints, perspectives*.
- Deng, D.F., Refstie, S., Hemre, G.I., Crocker, C.E., Chen, H.Y., Cech, J.J., Hung, S.S.O., 2000. A new technique of feeding repeated sampling of blood and continuous collection of urine in white sturgeon. *Fish Physiol. Biochem.* 22, 191-197.
- Dong, C., Weng, S., Luo, Y., Huang, M., Ai, J., Yin, Z and He, J., 2010. A new megalocytivirus from spotted knifejaw, *Oplegnathus punctatus*, and pathogenicity to freshwater mandarin fish, *Siniperca chuatsi*. *Virus Res.* 147, 98-106.
- Dosoretz, C., Degani, D., 1987. Effect of fat-rich diet and temperature on growth and body composition of European eels (*Anguilla anguilla*). *Comp. Biochem. Physiol.* 87A, 733-736.
- Egusa, S., Miyazaki, T., Shiomitsu, T., Fujita., S., 1987. Epitheliocystis-like disease occurred among hatchery-reared fry of *Oplegnathus punctatus*. *Fish. Pathol.* 22, 33-34.
- El-Sayed, A.M., Teshima, S., 1992. Protein and energy requirements of Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*, fry. *Aquaculture* 103, 55-63.
- Essner, J.J., Vogan, K.J., Wagner, M.K., Tabin, C.J., Yost, H.J., Brueckner, M., 2002. Conserved function for embryonic nodal cilia. *Nature* 418, 37-38.
- Essner, J.J., Amack, J.D., Nyholm, M.K., Harris, E.B., Yost, H.J., 2005. Kupffer's vesicle is a ciliated organ of asymmetry in the zebrafish

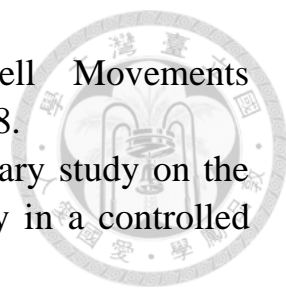
- embryo that initiates left-right development of the brain, heart and gut. *Development* 132, 1247-1260.
- Falk-Petersen I.B., 2005. Comparative organ differentiation during early life stages of marine fish. *Fish & Shellfish Immunology* 19, 397-412.
- Farkas, T., Csenger, I., Majoros, F., Olah., 1977. Metabolism of fatty acids in fish. I. Development of essential fatty acid deficiency in the carp, *Cyprinus carpio* L. *Aquaculture* 11, 147-147.
- Fiogbe, E.D., Kestemont, P., Melard, C., Micha, J.C., 1996. The effects of dietary crude protein on growth of the Eurasian perch *Perca fluviatilis*. *Aquaculture* 144, 239-249.
- Folch, J., Lee, M., Stanely, C.H.S., 1957. A simple method for the isolation and purification total lipids from animal tissue. *J. Biol. Chem.* 226, 497-509.
- Fournier-Betz, V., Quentel, C., Lamour, F., LeVen, A., 2000. Immunocytochemical detection of Ig-positive cells in blood, lymphoid organs and the gut associated lymphoid tissue of the turbot (*Scophthalmus maximus*). *Fish & Shellfish Immunology* 10, 187-202.
- Frank, H.H., 1998. Conditioning, spawning and rearing of fish with emphasis on marine clownfish. *Aquarium Sciences & Conservation* 2, 43-44.
- Fulks, W., Main, K., 1991. The design and operation of commercial scale live feeds production systems. In: Fulks, W., Main, K.L. (Eds), *Rotifer and Microalgae Culture Systems*. The Oceanic Institute, Honolulu, HI, 3-52.
- Furuhara, O., Yamamoto, K., Izumi, W., Ito, K., 1980. Basic study on deformation of seeding of marine fish-1. Abnormalities of vertebrae and color patterns of the parrot fish, *Oplegnathus fasciatus*. *Bull. Nansei Natl. Fish. Res. Inst.* 12, 21-30.
- Furuichi, M., Yone, Y., 1980. Effect of dietary dextrin levels on the growth and feed efficiency, the chemical composition of liver and dorsal muscle, and the absorption of dietary rotein and dextrin in fishes. *Bull. Jpn. Soc. Sci. Fish.* 46, 225-229.
- Furuita, H., Tanaka, H., Yamamoto, T., Shiraishi, M., Takeuchi, T., 2000. Effects of n-3 HUFA levels in broodstock diet on the reproductive performance and egg and larval quality of the Japanese flounder, *Paralichthys olivaceus*. *Aquaculture* 187, 387-398.
- Gao, Y., Lv, J., Lin, Q., Li, L., 2005. Effect of protein levels on growth, feed utilization, nitrogen and energy budget in juvenile southern

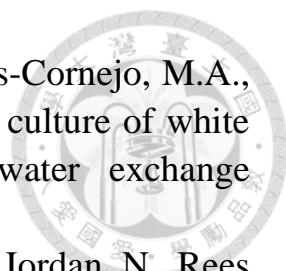
- 
- flounder, *Paralichthys lethostigma*. Aquac. Nutr. 11, 427-433.
- Garling, D.L., Wilson, R.P., 1976. Optimum dietary to energy ratio for channel catfish fingerling, *Ictalurus punctatus*. J. Nutr. 106, 1368-1375.
- Gavlik, S., Albino, M., Specker, J.L., 2002. Metamorphosis in summer flounder: manipulation of thyroid status to synchronize settling behavior, growth and development. Aquaculture 203, 359-373.
- Gisbert, E., Piedrahita, R.H., Conklin, D.E., 2004. Ontogenetic development of the digestive system in California halibut (*Paralichthys californicus*) with notes on feeding practices. Aquaculture 232, 455-470.
- Grisdale-Helland, B., Shearer, K., Gatlin, D., Helland, S., 2008. Effects of dietary protein and lipid levels on growth, protein digestibility, feed utilization and body composition of Atlantic cod (*Gadus morhua*). Aquaculture 283, 156-162.
- Grisdale-Helland, S.J., Helland, B., 1997. Replacement of protein by fat and carbohydrate in diets for Atlantic salmon (*Salmo salar*) at the end of the freshwater stage. Aquaculture 152, 167-180.
- Gunasekera, R.M., Silva, S.S.D., Collins, R.A., Gooley, G., Ingram, B.A., 2000. Effect of dietary protein level on growth and food utilization in juvenile Murray cod (*Maccullochella peelii peelii*). Aquac. Res. 31, 181-187.
- Helland, B., Grisdale-Helland, S.J., 1998. Growth, feed utilization and body composition of juvenile Atlantic halibut (*Hoglossus hippoglossus*) fed diets differing in the ratio between the macronutrients. Aquaculture 166, 49-56.
- Heming, T.A., Buddington, R.K., 1988. Yolk absorption in embryonic and larval fishes. In: W.S. Hoar and D.J. Randall (Eds.), Fish Physiology, Vol XI, Academic Press, London, 407-446.
- Hemre, G.I., Sandnes, K., Lie, Ø., Torrissen, Ø., Waagbø R., 1995. Carbohydrate nutrition in Atlantic salmon, *Salmo salar* L., growth and feed utilization. Aquac. Res. 26, 149-154.
- Hernandez, M., Takeuchi, T., Watanabe, T., 1995. Effect of dietary energy sources on the utilization of protein by *Collossoma macropomum* fingerlings. Fish. Sci. 61, 507-511.
- Hsieh, H.J., Hsien, Y.L., Jeng, M.S., Tsai, W.S., Su, W.C., Chen, C.A., 2008. Tropical fishes killed by the cold. Coral Reefs 27, 599-599.
- Hubbs, C.L., 1943. Terminology of early stages of fishes. Copeia, 260-260.

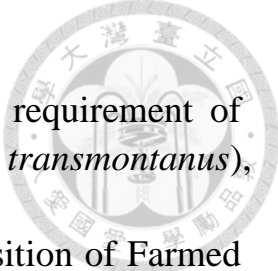
- 
- Ikeda T., Chuma S., Okiyama M., 1991. Identification of pelagic eggs of marine fishes by rearing method. *Jpn. J. Ichthyol.* 38, 199-206.
- Immanuel, G., Palavesam, A., Petermarian, M., 2001. Effects of feeding lipid enrich *Artemia nauplii* on survival, growth, fatty acids and stress resistance of postlarvae *penaeus indicus*. *Asian Fish. Sci.* 14, 377-388.
- Inui, Y., Miwa, S., 1985. Thyroid hormone induces metamorphosis of flunder larvae. *Gen. Comp. Endocrinol.* 60, 450-454.
- Izquierdo, M.S., Fernández-Palacios. H., Tacon, A.G.J., 2001. Effect of broodstock nutrition on reproductive performance of fish. *Aquaculture* 197, 25-42.
- Jantrarotai, W., Sitasit, P., Jantraorai, P., Viputhanumas, T., Srabua, P., 1998. Protein and energy levels for maximum growth, dets utilization, yield of edible flesh and protein sparing of hybrid *Clarias* catfish (*Clarias microcephalus* × *Claria gariepinus*). *J. World Aquacult. Soc.* 29, 281-289.
- Jauncey, K., 1982. The effects of varing dietary protein level on the growth, food conversion, protein utilization and body composition of juvenile tilapias (*Sarotherodon mossambicus*). *Aquaculture* 27, 43-54.
- Jobling, M., Wandsvik, M., 1983. Quantitive protein requirement of arctic charr *Salvelinus alpinus* (L.). *J. Fish Biol.* 22, 705-712.
- Kaushik, S.J., Médale, F., 1994. Energy requirements, utilization and dietary supply to salmonids. *Aquaculture* 124, 81-97.
- Kaushik, S.J., 2001. Carbohydrate nutrition: importance and limits of carbohydrate supplies. In: Guillaume, J., Kaushik, S., Bergot, P., Metailler, R. (Eds), *Nutrition and Feeding of Fish and Crustaceans*. Praxis Press, Chichester, UK, 131-144.
- Kendall, A.W. Jr., E.H. Ahlstrom., H.G. Moser., 1984. Early life history of fishes and their characters. *Ontogeny & systematics of fishes*, 11-22.
- Khan, M.S., Ang, K.J., Ambak, M.A., Saad, C.R., 1993. Optimum dietary protein requirement of a Malaysian freshwater catfish, *Mystus nemurus*. *Aquaculture* 112, 227-235.
- Khan, M.A., Jafri, A.K., Chadha, N.K., 2005. Effects of varing dietary protein levels on growth, reproductive performance, body and egg composition of rohu, *Labeo rohita* (Hamilton). *Aquac. Nutr.* 11, 11-17.
- Kimmel, C. B., Ballard, W.W., Kimmel, S.R., Ullmann, B., Schilling, T. F., 1995. Stages of embryonic development of the zebrafish. *Dev. Dyn.* 203, 253-310.
- Kim, J.D., Lall, S.P., Milley, J.E., 2001. Dietary protein requirements of

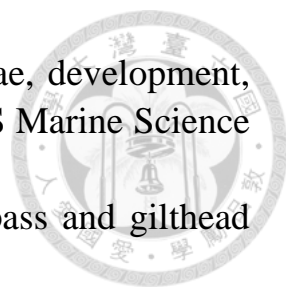
- juvenile haddock (*Melanogrammus aeglefinus* L.). *Aquac. Res.* 32, 1-7.
- Kim, K.I., 1997. Re-evaluation of protein and amino acid requirements of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquaculture* 151, 3-7.
- Kim, K.W., Wang, X.J., Bai, S.C., 2001. Reevaluation of the optimum protein level for the maximum growth of juvenile Korean rockfish, *Sebastes schlegeli* (Hilgendorf). *Aquac. Res.* 32, 110-125.
- Kim, K.W., Wang, X.J., Bai, S.C., 2002. Optimum dietary protein level for maximum growth of juvenile olive flounder *Paralichthys olivaceus*. *Aquac. Res.* 33, 673-679.
- Kim, K.W., Wang, X.J., Bai, S.C., 2003. Reevaluation of the Dietary Protein Requirement of Japanese Flounder *Paralichthys olivaceus*. *J. World Aquacult. Soc.* 34, 133-139.
- Kim, K.W., Wang, X.J., Han, K., Kang, J.C., Bai, S.C., 2004. Optimum dietary protein level and protein-to-energy ratio for growth of juvenile Korean rockfish *Sebastes schlegeli*. *J. World Aquacult. Soc.* 35, 305-314.
- Kim, K.W., Mohammad, M., Kim, K.D., Han, S.H., Yun, H., Lee, S., Bai, S.C., 2016. Re-evaluation of the optimum dietary protein level for maximum growth of juvenile barred knifejaw *Oplegnathus fasciatus* reared in cages. *Fish. Aquatic Sci.* 19, 24.
- Kiron, V., Watanabe, T., Fukuda, H., Okamoto, N., Takeuchi, T., 1995. Protein nutrition and degense mechanisms in rainbow trout *Oncorhynchus mykiss*. *Comp. Biochem. Physiol.* 111A, 351-359.
- Kitajima, C., Arakawa, T., Oowa, F., Fujita, S., Imada, O., Watanabe, T., Yone, Y., 1980, Dietary value for red sea bream larvae of rotifer *Brachionus plicatilis* cultured with new type of yeast. *Bull. Jpn. Soc. Sci. Fish.* 46, 43-46.
- Kjorsvik, E., Mangor-Jensen, A., Holmefjord, I., 1990. Egg quality in fishes. *Adv. Mar. Biol.* 26, 71-113.
- Kohno, H., Diani, S., Sunyoto, P., Slamet, B. and Imanto, P., 1990. Early development events associated with changeover of nutrient sources in the grouper *Epinephelus fuscoguttatus* larvae. *Bull. Pen. Perikanan*, 51-64.
- Kohno, H., Ordonio-Aguilar, R.S., Ohno, A., Taki, Y., 1997. Why is grouper larval rearing difficult?: an approach from the development of the feeding apparatus in early stage larvae of the grouper, *Epinephelus coioides*. *Ichthyol. Res.* 44, 267-274.

- 
- Kreiling, J.A., Prabhat, Williams, G., Creton, R., 2007. Analysis of Kupffer's vesicle in zebrafish embryos using a cave automated virtual environment. *Dev. Dyn.* 236,1963-1969.
- Kupffer, C., 1868. Beobachtungen über die Entwicklung der Knochenfische. *Arch. Mikrob. Anat.* 4, 209-272.
- Kureshy, N., Davis, D.A., 2002. Protein requirement for maintenance and maximum weight gain for the Pacific shrimp, *Litopenaeus vannamei*. *Aquaculture* 204, 125-143.
- Laining, A., Usman., Kabangnga, N., 2004. The effect of dietary protein level on apparent digestibility coefficient and biological performances of tiger grouper (*Epinephelus fuscoguttatus*) raised at floating net cages. *Journal Penelitian Perikanan Indonesia* 9, 29-34.
- Lee, D.J., Sinnhuber, R.O., 1972. Lipid requirements. In: Halver, J.E. (Eds.), *Fish Nutrition*, Academic Press. New York, 145-180.
- Lee, H.Y., Cho, K.C., Lee, J.E., Yang, S.G., 2001. Dietary protein requirement of juvenile giant croaker, *Nibea japonica* Temminck and Schlegel. *Aquac. Res.* 32, 112-118.
- Lee, J.Y., Kang, J.Y., Lee, S.M., Kim, I.B., 1993. Protein requirements of the Korean rockfish *Sebastes schlegeli*. *Aquaculture* 6, 13-27.
- Lee, S.M., Park, C.S., Bang, I.C., 2002. Dietary protein requirement of young Japanese flounder *Paralichthys olivaceus* fed isocaloric diets. *Fish. Sci.* 68, 158-164.
- Léger, P.H., Bengtson, D.A., Simpson, K.L., Sorgeloos, P., 1986. The use and nutritional value of *Artemia* as a food source. *Oceanogr. Mar. Biol. Ann. Rev.* 24, 521-623.
- Lemos, D., Ezquerea, J.M., Garcia-Carreno, F.L., 2000. Protein digestion in penaeid shrimp: digestive proteinases, proteinase inhibitors and feed digestibility. *Aquaculture* 186, 89-105.
- Li, M., Lovell, R.T., 1992. Effect of dietary protein concentration on nitrogenous waste in intensively fed catfish ponds. *J. World Aquacult. Soc.* 23, 122-127.
- Liang, M.Q., Lu, Q.K., Qian, C., Zheng, K.K., Wang, X.X., 2014. Effects of dietary n-3 to n-6 fatty acid ratios on spawning performance and larval quality in tongue sole *Cynoglossus semilaevis*. *Aquac. Nutr.* 20, 79-89.
- Lie, O., Lied, E., Lambertsen, G., 1988. Feed optimization in Atlantic cod (*Gadus morhua*): fat versus protein content in the feed. *Aquaculture* 68, 333-341.

- 
- Lilianna Solnica-Krezel, 2005. Conserved Patterns of Cell Movements during Vertebrate Gastrulation. *Curr. Biol.* 15, 213-228.
- Lim, C., Sukhawongs, S., Pascual, F.P., 1979. A preliminary study on the protein requirements of *Chanos chanos* (Forsk.) fry in a controlled environment. *Aquaculture* 17, 195-201.
- Lim, C., 1996. Substitution of cottonseed meal for marine animal protein in diets for *Penaeus vannamei*. *J. World Aquacult. Soc.* 27, 402-409.
- Lim, L.C., 1993. Larviculture of the greasy grouper *Epinephelus tauvina* and brownmarbled grouper *E. fuscoguttatus* in Singapore. *J. World Aquacult. Soc.* 24, 262-274.
- Lipton, D.W., Kim, D.H., 2007. Assessing the Economic Viability of Offshore Aquaculture in Korea: An Evaluation Based on Rock Bream, *Oplegnathus fasciatus*, Production. *J. World Aquacult. Soc.* 38, 506-515.
- Liu, Y., Feng, L., Jiang, J., Liu, Y., Zhou, X.Q., 2009. Effects of dietary protein levels on the growth performance, digestive capacity and amino acid metabolism of juvenile Jian carp (*Cyprinus carpio* var. Jian). *Aquac. Res.* 40, 1073-1082.
- Lovell, R.T., 1996. Feed deprivation increases resistance of channel catfish to bacterial infection. *Aquacult. Mag.* 22, 65-67.
- Lund, E.D., Plac, A.R., Sullivan, C.V., 1995. Lipid contents of female striped bass plasma and ovaries exhibit seasonal changes associated with oocyte maturation. *Fish symposium, Austin, TX (USA)*, 371.
- Luo, L., Ai, L.C., Li, T.L., Xue, M., Wang, J., Li, W.T., Wu, X.F., Liang, X.F., 2015. The impact of dietary DHA/EPA ratio on spawning performance, egg and offspring quality in Siberian sturgeon (*Acipenser baeri*). *Aquaculture* 437, 140-145.
- Luo, Z., Liu, Y.J., Mai, K.S., Tian, L.X., Liu, D.H., Tan, X.Y., 2004. Optimal dietary protein requirement of grouper *Epinephelus coioides* juveniles fed isoenergetic diets in floating net cages. *Aquac. Nutr.* 10, 247-252.
- Lønning, S., Kjørsvik, E., Falk-petersen, I.B., 1988. A comparative study of pelagic and demersal eggs from common marine fishes in Northern Norway. *Sarsia* 73, 49-60.
- Marte, C.L., Quintio, G., Caberoy, N., 1994. Spontaneous spawning of sex-inversed grouper *Epinephelus coioides* administered 17-alpha methyl-testosterone implants. *Fourth Asian Fisheries Forum* 16-20 Beijing, China, 5.

- 
- Martinez-Cordova, L.R., Campana-Torres, A., and Porchas-Cornejo, M.A., 2002. The effects of variation in protein level on the culture of white shrimp, *Litopenaeus vannamei* (Boone) in low-water exchange experimental ponds. *Aquac. Res.* 33, 995-998.
- Mazorra, C., Bruce, M., Bell, J.G., Davie, A., Alorend, E., Jordan, N., Rees, J.F., Papanikos, N., Porter, M.J.R., Bromage, N.R., 2003. Dietary lipid enhancement of broodstock reproductive performance and egg and larval quality in Atlantic halibut (*Hippoglossus hippoglossus*). *Aquaculture* 227, 21-33.
- McGurk, M.D., 1984. Effects of delayed feeding and temperature on the age of irreversible starvation and on the rates of growth and mortality of Pacific herring larvae. *Mar. Biol.* 84, 13-26.
- Meyer, G., Fracalossi, D.M., 2004. Protein requirement of jundia fingerlings, *Rhamdia quelen*, at two dietary energy concentrations. *Aquaculture* 240, 331-343.
- Miller, C.L., Davis, D.A., Phelps, R.P., 2005. The effects of dietary protein and lipid on growth and body composition of juvenile and sub-adult red snapper, *Lutjanus compechanus* (Poey, 1860). *Aquac. Res.* 36, 52-60.
- Millikin, M.R., 1982. Effects of dietary protein concentration on growth, feed efficiency, and body composition of age-0 striped bass. *Trans. Amer. Fish. Soc.* 111, 373-378.
- Millikin, M.R., 1983. Interactive effects of dietary protein and lipid on growth and protein utilization of age-0 striped bass. *Trans. Amer. Fish. Soc.* 112, 85-193.
- Miwa, S., Yamano, K., Inui, Y., 1992. Thyroid hormone stimulates gastric development in flounder larvae during metamorphosis. *J. Exp. Zool.* 261, 424-430.
- Miwa, S., Inui, Y., 1991. Thyroid hormone stimulates the shift of erythrocyte populations during metamorphosis of the flounder. *J. Exp. Zool.* 259, 222-228.
- Mohanta, K.N., S.N. Mohanty., J.K. Jena., N.P. Sahu., B. Patro., 2009. Carbohydrate level in the diet of silver barb, *Puntius gonionotus* (Bleeker) fingerlings effect on growth, nutrient utilization and whole body composition. *Aquac. Res.* 40, 927-937.
- Monentcham, S.E., Pouomogne, V., Kestemont, P., 2010. Influence of dietary protein levels on growth performance and body composition of African bonytongue fingerlings, *Heterotis niloticus* (Cuvier, 1829).

- 
- Aquac. Nutr. 16, 144-152.
- Moore, B.J., Hung, S.S.O., Medrano, J.F., 1988. Protein requirement of hatchery-produced juvenile white sturgeon (*Acipenser transmontanus*), Aquaculture 71, 235-245.
- Morris, P.C. 2001. The Effects of Nutrition on the Composition of Farmed Fish, in Farmed Fish Quality. In: Kestin, S.C., Warris, P.D. (Eds.), Fishing News Books, London, 161-179.
- Mourente, G., Odriozola, J.M., 1990. Effects of broodstock diets on lipid lipid classes and their fatty acid composition in eggs of gilthead sea bream (*Sparus aurata*). Fish Physiol. Biochem. 8, 93-101.
- Mundy, B.C., 2005 Checklist of the fishes of the Hawaiian Archipelago, Bishop Mus. Bull. Zoo. 6, 1-704.
- Murugan, G., Nelis, H.J., Dumont, H.J., De Leenheer, A.P., 1995. Cis- and all-Trans-canthalaxanthin levels in fairy shrimps. Comp. Biochem. Physiol. 110B, 799-803.
- Nakabo, T., 2002. Fishes of Japan with Pictorial Keys to the Species, English Edition. Tokai University Press, Japan, 956.
- National Research Council (NRC), 1993. Nutrient Requirements of Fish. National Academy Press, Washington, DC, 114.
- Naviner, M., Bergé J.P., Durand, P., Le-Bris, H., 1999. Anti-bacterial activity of the marine diatom *Skeletonema costatum* against aquacultural pathogens. Aquaculture 174, 15-24.
- Ng, W.K., Soon, S.C., Hashim. R., 2001. The dietary protein requirement of a bagrid catfish, *Mystus nemurus* (Cuvier and Valenciennes), determined using semipurified diets of varying protein level. Aquac. Nutr. 7, 45-51.
- Ng, W.K., Abdullah, N., De Silva, S.S., 2008. The dietary protein requirement of the Malaysian mahseer, *Tor tambroides* (Bleeker), and the lake od protein-sparing action by dietary lipid. Aquaculture 284, 201-206.
- O'Connell C.P., 1981. Development of organ systems in the northern anchovy, *Engraulis mordax*, and other teleosts. Amer. Zool. 21, 429-446.
- Ogino, C., Saito, K., 1970. Protein nutrition in fish-I. The utilization of dietary protein by young carp. Bull. Jpn. Soc. Sci. Fish. 36, 250-254.
- Øie, G., Reitan, K.I., Olsen, Y., 1994. Comparison of rotifer culture quality with yeast plus oil and algal-based cultivation diets. Aquacult. Intern. 2, 225-238.

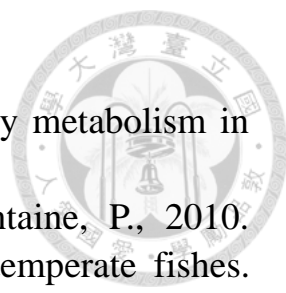
- 
- Osse, J.W.M., Boogaart, van den J.G.M., 1995. Fish larvae, development, allometric growth, and the aquatic environment. ICES Marine Science Symposia, 21-34.
- Oliva-Teles, A., 2000. Recent advance in European sea bass and gilthead sea bream nutrition. Aquacult. Intern. 8, 477-492.
- Ozorio, R.O.A., Valente, L.M.P., Pousao-Ferreira, P., Oliva-Teles, A., 2006. Growth performance and body composition of white seabream (*Diplodus sargus*) juvenile fed diets with different protein and lipid levels. Aquac. Res. 37, 255-263.
- Padrós, F., Crespo, S., 1996. Ontogeny of the lymphoid organs in the turbot *Scophthalmus maximus*: a light and electron microscope study. Aquaculture 144, 1-16.
- Page, J.W., Andrews, J.W., 1973. Interactions of dietary levels of protein and energy on channel catfish (*Ictalurus punctatus*). J. Nutr. 103, 1339-1346.
- Pandian, T.J., 1989. Protein requirements of fish and prawns cultured in Asia. In: De Silva, S. (Ed.), Fish Nutrition Research in Asia Proceedings of The Third Asian Fish Nutrition Network Meeting. Asian Fisheries Society, Manila, 11-22.
- Parazo, M.M., 1990. Effect of dietary protein and energy level on growth, protein utilization and carcass composition of rabbitfish, *Siganus guttatus*. Aquaculture 86, 41-49.
- Pavlov, D.A., 1986. Developing the biotechnology of culturing White Sea wolffish, *Anarhichas lupus marisalbi*. J. Ichthyol. 26, 156-169.
- Peres, H., Oliva-Teles, A., 1999. Effect of dietary lipid level on growth performance and feed utilization by European sea bass juvenile (*Dicentrarchus labrax*). Aquaculture 179, 325-334.
- Perez-Casanova, J.C., Murray, H.M., Gallant, J.W., Ross, N.W., Douglas, S.E., Johnson, S.C., 2006. Development of the digestive capacity in larvae of haddock (*Melanogrammus aeglefinus*) and Atlantic cod (*Gadus morhua*). Aquaculture 251, 377-401.
- Peter, R., 2007. The functional ontogeny of the teleost gill: Which comes first, gas or ion exchange. Comp. Biochem. Physiol. 148A, 732-742.
- Phillips Jr., A.M., Tunison, A.V., Brockway, D.R., 1948. Utilization of carbohydrates by trout. Fish. Res. Bull. 11, 3-44.
- Portz, L., Cyrino, J.E.P., Martino, R.C., 2001. Growth and body composition of juvenile Largemouth bass *Micropterus salmoides* in response to dietary protein and energy levels. Aquac. Nutr. 7, 247-254.

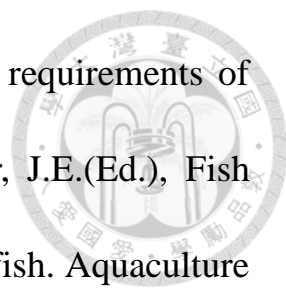
- Ren, M.C., Ai, Q.H., Mai, K.S., Ma, H.M., Wang, X.J., 2011. Effect of dietary carbohydrate level on growth performance, body composition, apparent digestibility coefficient and digestive enzyme activities of juvenile cobia, *Rachycentron canadum* L. *Aquac. Res.* 42, 1467-1475.
- Reimer, G., 1982, The influence of diet on the digestive enzymes of the amazon fish matrincha, *Brycon melanopterus*. *J. Fish Biol.* 21, 637-642.
- Sá R., Pousão-Ferreira, P., Oliva-Teles, A., 2006. Effect of dietary protein and lipid levels on growth and feed utilization of white sea bream (*Diplodus sargus*) juveniles. *Aquac. Nutr.* 12, 310-321.
- Salhi, M., Bessonart, M., Chediak, G., Bellagamba, M., Camevia, D., 2004. Growth, feed utilization and body composition of black catfish, *Rhamdia quelen*, fry fed diets containing different protein and lipids levels. *Aquaculture* 231, 435-444.
- Santiago, C.B., Reyes, O.S., 1991. Optimum dietary level for growth of bighead carp (*Aristichthys nobilis*) fry in a static water system. *Aquaculture* 93, 155-165.
- Santinha, P.J.M., Gomes, E.F.S., Coimbra, J.O., 1996. Effects of protein level of the diet on digestibility and growth of gilthead sea bream, *Sparus auratus* L. *Aquac. Nutr.* 2, 81-87.
- Sargent, J.R., 1995. Origins and functions of lipids in fish eggs: nutritional implications. In: Bromage, N.R., Roberts, R.J. (Eds.), *Broodstock Management and Egg and Larval Quality*. Blackwell Science, Oxford, 353-372.
- Sargent, J.R., Tocher, D.R., Bell, J.G., 2002. The lipids. In: Halver, J.E., Hardy, R.W. (Eds.), *Fish Nutrition*, Academic Press, London, 182-257.
- Satpathy, B.B., Mukherjee, D., Ray, A.K., 2003. Effects of dietary protein and lipid levels on growth, feed conversion and body composition in rohu, *Labeo rohita* (Hamilton), fingerlings. *Aquac. Nutr.* 9, 17-24.
- Serrano, J.A., Nematipour, G.R., Gatlin, D.M., 1992. Dietary protein requirement of red drum (*Sciaenops ocellatus*) and relative use of dietary carbon hydrate and lipid. *Aquaculture* 101, 283-291.
- Schuchardt, D., Vergara, J.M., Fernández-Palacios, H., Kalinowski, C.T., Hernández Cruz, C.M., Izquierdo, M.S., Robaina, L., 2008. Effects of different dietary protein and lipid levels on growth, feed utilization and body composition of red porgy (*Pagrus pagrus*) fingerlings. *Aquac. Nutr.* 14, 1-9.
- Schulz, C., Böhm, M., Wirth, M., Rennert, B., 2007. Effect of dietary protein on growth, feed conversion, body composition and survival of

- pike perch fingerlings (*Sander lucioperca*). *Aquac. Nutr.* 13, 373-380.
- Shearer, K.D., 1994. Factors affecting the proximate composition of cultured fishes with emphasis on salmonids. *Aquaculture* 119, 63-88.
- Shearer, K.D., 2001. The effect of diet composition and feeding regime on the proximate composition of farmed fishes. In: Kestin, S.C., Earriss, P.D. (Eds.), *Farmed Fish Quality*, Fishing News Book, Oxford, 31-41.
- Shiau, S.Y., Lan, C.W., 1996. Optimum dietary protein level and protein to energy ratio for growth of grouper (*Epinephelus malabaricus*). *Aquaculture* 145, 259-266.
- Shikata, T., Kheyali, D., Shimeno, S., 1993. Regulation of carbohydrate metabolism in fish. XV. Effect of feeding rates on hepatopancreas enzymes and body composition in common carp. *Bull. Jpn. Soc. Sci. Fish* 59, 835-839.
- Shimada, Y., K. Nokubi., S. Yamamoto., O. Murata., H. Kumai., 2009. Reproduction between *Oplegnathus fasciatus* and *O. punctatus*, and fertility of their interspecies. *Fish. Sci.* 75, 521-523.
- Shimeno, S., Hosokawa, H., Takeda, M., Kajiyama, H., 1980. Effects of calorie to protein ratios in formulated diet on the growth, feed conversion and body composition of young yellow-tail. *Bull. Jpn. Soc. Sci. Fish.* 46, 1083-1087.
- Shimeno, S., 1991. Yellowtail, *Seriola quiqueradiata*. In: Wilson, R.P.(Ed.), *Handbook of nutrient requirement of finfish*. CRC Press, Boca Raton, Florida, 181-191.
- Shimeno, S., Mima, T., Imanaga, T., Tomaru, K., 1993. Inclusion of combination of defatted soybean meal, meat meal, and corn gluten meal to yellowtail diets. *Bull. Jpn. Soc. Sci. Fish.* 59, 1889-1895.
- Shuang, F; Luo, Y.W., Xiong, X.P., Weng, S.P., Li, Y.M., He, J.G., Dong, C.F., 2013. Virions proteins of an RSIV-type megalocytivirus from spotted knifejaw *Oplegnathus punctatus* (SKIV-ZJ07). *Virology* 437, 89-99.
- Shiau, S.Y., Chuang, J.L., Sun, C.L., 1987. Inclusion of soybean meal in tilapia (*Oreochromis niloticus* × *O. aureus*) diets at two protein levels. *Aquaculture* 65, 251-261.
- Shiau, S.Y., Huang, S.L., 1989. Optimal dietary protein level for hybrid tilapia (*Oreochromis niloticus* × *O. aureus*) reared in seawater. *Aquaculture* 81, 119-127.
- Silva, P., Andrade, C.A.P., Timoteo, V.M.F.A., Rocha, E., Valente, L.M.P., 2006. Dietary protein, growth, nutrient utilization and body

- composition of juvenile blackspot seabream, *Pagellus bogaraveo* (Brunnich). *Aquac. Res.* 37, 1007-1014.
- Singh, R. K., Desai, A. S., Chavan, S. L., Khandagale, P. A., 2009. Effect of water temperature on dietary protein requirement, growth and body composition of Asian catfish, *Clarias batrachus* fry. *J. Therm. Biol.* 34, 8-13.
- Sitjà-Bobadilla, A., Pérez-Sánchez, J., 1999. Diet related changes in non-specific immune response of European sea bass (*Dicentrarchus labrax* L.). *Fish & Shellfish Immunology* 9, 637-640.
- Snell, T.W., Carrillo, K., 1984. Body size variation among strains of the rotifer, *Brachionus plicatilis*. *Aquaculture* 37, 359-367.
- Snell, T.W., 1991. Improving the design of mass culture systems for the rotifer, *Brachionus plicatilis*. In: Fulks, W., Main, K.L. (Eds.), *Rotifer and Microalgae Culture System*. The Oceanic Institute, 61-71.
- Southgate, P.C., Lou, D.C., 1995. Improving the n-3 HUFA composition of *Artemia* using microcapsules containing marine oils. *Aquaculture*, 134, 91-99.
- Su, H.M., M.S. Su., I.C. Liao., 2001. The culture and use of microalgae for larval rearing in Taiwan. *Aquacul. Fish Res. Manage*, 157-162.
- Takeda, M., Shimeno, S., Hosokawa, H., Kajiyama, H., Kaisyo, T., 1975. The effect of dietary calorie-to-protein ratio on the growth, feed conversion and body composition of young yellowtail. *Bull. Jpn. Soc. Fish.* 41, 443-447.
- Takeuchi, T., Watanabe, T., Ogino, C., 1978. Optimal ration of protein to lipid in diets of rainbow trout. *Bull. Jpn. Soc. Sci. Fish.* 44, 683-688.
- Takeuchi, T., Watanabe, T., Ogino, C., 1979. Availability of carbohydrate and lipid as dietary energy sources for carp. *Bull. Jpn. Soc. Sci. Fish.* 45, 977-982.
- Takeuchi, T., Arakawa, T., Satoh, S., Watanabe, T., 1992. Supplemental effect of phospholipids and requirement of eicosapentaenoic acid and docosahexaenoic acid of juvenile striped jack. *Nippon Suisan Gakkaishi* 58, 707-713.
- Tamaki, T., 1995. Behaviour of the Japanese striped knifejaw *Oplegnathus fasciatus* by underwater observation and tagging experiment at the Tajima Coast in the Japan Sea. *Journal of Fisheries Engineering* 32, 33-38.
- Tanaka, M., Tanangonan, J.B., Tagawa, M., Jesus, E.G. de Nishida, H., Isaka, M., Kimura, R., Hirano, T., 1995. Development of the pituitary,

- thyroid and interrenal glands and applications of endocrinology to the improved rearing of marine fish larvae. *Aquaculture* 135, 111-126.
- Teng, S.K., Chua, T.E., Lim, P.E., 1978. Preliminary observation on the dietary protein requirement of estuary groupers, *Epinephelus salmonids* Maxwellm cultured in floating net-cages. *Aquaculture* 15, 257-271.
- Tibaldi, E., Beraldo, P., Volpelli, L.A., Pinosa, M., 1996. Growth response of juvenile dentex (*Dentex dentex* L.) to varying protein level and protein to lipid ratio in practical diets. *Aquaculture* 139, 91-99.
- Tibbetts, S.M., Lall, S.P., Anderson, D.M., 2000. Dietary protein requirement of juvenile American eel (*Anguilla rostrata*) fed practical diets. *Aquaculture* 186, 145-155.
- Tidwell, J.H., Webster, C.D., Coyle, S.D., 1996. Effects of dietary protein level on second year growth and water quality for largemouth bass (*Micropterus salmoides*) raised in ponds. *Aquaculture* 145, 213-223.
- Timmermans L.P.M., 1987. Early development and differentiation in fish. *Sarsia* 72, 331-339.
- Tocher, D.R., Sargent, J.R., 1984. Analysis of lipids and fatty acids in ripe roe of some northwest European marine fish. *Lipids* 19, 492-499.
- Toledo, J.D., M. Golez, M.Doï., Ohno, A., 1999. Use of copepod nauplii during early feeding stage of grouper *Epinephelus colonies*. *Fish. Sci.* 65, 390-397.
- Tredici, M.R., Biondi, N., Pomis, E., Rodolfi, L., Zittelli, G.C., 2009. Advances in microalgal culture for aquaculture feed and other uses. In: Burnell, G., Allan, G. (Eds.), *New Technologies in Aquaculture: Improving Production Efficiency, Quality and Environmental Management*. Woodhead Publishing, 610-676.
- Tsushima, M., T. Matsuno., 1999. Z-carotenoids in cysts of brine shrimp, *Artemia franciscana*. *Fish. Sci.* 65, 173-174.
- Tuan, L.A., Williams, K.C., 2007. Optimum dietary protein and lipid specifications for juvenile Malabar grouper (*Epinephelus malabaricu*). *Aquaculture* 267, 129-138.
- Tucker, J.W., 1998. *Marine Fish Culture*. Kluwer Academic Publishers, Norwell, Massachusetts, USA, 750.
- Villegas, C.T., Millamena, O., Escritor, F., 1990. Food value of *Brachionus plicatilis* fed three selected algal species as live food for milkfish, *Chanos chanos* Forsskal, fry production. *Aquac. Res.* 213-220
- Walne, P.R., 1974. "Culture of Bivalve Mollusks", 50 Years Experience at

- 
- Conway. Fishing News, 1-173.
- Walton, M.J., Cowey, C.B., 1982. Aspects of intermediary metabolism in salmonid fish. *Comp. Biochem. Physiol.* 73B, 59-79.
- Wang, N., Teletchea, F., Kestemont, P., Milla, S., Fontaine, P., 2010. Photothermal control of the reproductive cycle in temperate fishes. *Rev. Aquacult.* 2, 209-222.
- Watanabe, K., Ura, K., Yada, T., Kiron, V., Satoh, S., Watanabe, T., 2000. Energy and protein requirements of yellowtail for maximum growth and maintenance of body weight. *Fish. Sci.* 66, 1053-1061.
- Watanabe, T., Arakawa, T., Kilajima, C., Fujita, S., 1984a. Effect of nutritional quality of broodstock diets on reproduction of red sea bream. *Nippon Suisan Gakkaishi* 50, 495-501.
- Watanabe, T., Ohhashi, S., Itoh, A., Kilajima, C., Fujita, S., 1984b. Effect of nutritional composition of diets on chemical components of red sea bream broodstock and eggs produced. *Bull. Jpn. Soc. Sci. Fish.* 50, 503-515.
- Watanabe, T., Kiron, T., 1994. Prospects in larval fish dietetics. *Aquaculture* 124, 223-251.
- Watanabe, T., Vassallo-Agius, R., 2003. Broodstock nutrition research on marine finfish in Japan. *Aquaculture* 227, 35-61.
- Watanabe, W.O., Ellis, S.C., Chaves, J., 2001. Effects of dietary lipid and energy to protein ration on growth and feed utilization of juvenile mutton snapper (*Lutjanus analis*) fed isonitrogenous diets at two temperatures. *J. World Aquacult. Soc.* 32, 30-40.
- Wee, K.L., Tacon, A.G.J., 1982. A preliminary study on the dietary protein requirement of juvenile snakehead. *Bull. Jpn. Soc. Sci. Fish.* 48, 1463-1468.
- Wiegand, M.D., 1996. Composition, accumulation and utilization of yolk lipids in teleost fish. *Rev. Fish Biol. Fisheries.* 6, 259-286.
- Williams, K.C., Barlow, C.G., Rodgers, L., 2002. Efficiency of crystalline and protein-bound amino acid enrichment of diets for barramundi Asian seabass (*Lates calcarifer* Bloch). *Aquac. Res.* 32, 415-429.
- Williams, K.C., Barlow, C.G., Rodgers, L., Hockings, I., Agcopra, C., Ruscoe, I., 2003. Asian seabass, *Lates calcarifer* perform well when fed pelleted diets high in protein and lipid. *Aquaculture* 225, 191-206.
- Williams, K.C., Irvin, S., Barclay, M., 2004. Polka dot grouper *Cromileptes altivelis* fingerlings require high protein and moderate lipid diets for optimal growth and nutrient retention. *Aquac. Nutr.* 10, 125-134.

- 
- Wilson, R.P., Halver, J.E., 1986. Protein and amino acid requirements of fishes. *Ann. Rev. Nutr.* 6, 225-244.
- Wilson, R.P., 1989. Amino acid and protein. In: Halver, J.E.(Ed.), *Fish Nutrition*, Academic Press, Sandiego, CA, 112-153.
- Wilson, R.P., 1994. Utilization of dietary carbohydrate by fish. *Aquaculture* 124, 67-80.
- Winfrey, R.A., Stickney, R.R., 1981. Effect of dietary protein and energy on growth, feed conversion efficiency and body composition of *Tilapia aurea*. *J. Nutr.* 111, 1001-1012.
- Yamano, K., Miwa, S., Obinata, T., Inui, Y., 1991. Thyroid hormone regulates developmental changes in muscle during flunder metamorphosis. *Gen. Comp. Endocrinol.* 81,464-472.
- Yang, S.D., Liou, C.H., Liu, F.G., 2002. Effects of dietary protein level on growth performance, carcass composition and ammonia excretion in juvenile silver perch (*Bidyanus bidyanus*). *Aquaculture* 213, 363-372.
- Yang, S.D., Lin, T.S., Liou, C.H., Peng, H.K., 2003. Influence of dietary protein levels on growth performance, carcass composition and liver lipid classes of juvenile *Spinibarbus hollandi* (Oshima). *Aquac. Res.* 34, 661-666.
- Yengkokpam, S., Sahu, N.P., Pal, A.K., Mukherjee, S.C., Debnath, D., 2006. Gelatinized carbohydrates in the diets of *Catla catla* fingerlings: effects of levels and sources on nutrient utilization, body composition and tissue enzyme activities. *Asian-Australasian J. Anim. Sci.* 20, 89-99.
- Yone, Y., 1976. Nutritional studies of red sea bream, in *Pro. First Int. Conf. on Aquaculture Nutrition*. In: Price, K.S., Shaw, W.N., Danbergs, K.S. (Eds.), University of Delaware, Lewes, Delaware, USA, 39-64.
- Yone, Y., 1980. Essential fatty acids and nutritive value of dietary lipids for marine fish. *Pro. No. Pac. Aquaculture Symp.* Anchorage, Alaska, 60-70.
- Yoshimatus, T., Furuichi, M., Kitajima, C., 1992. Optimum level of protein in purified experimental diets for red lip mullet. *Bull. Jpn. Soc. Sci. Fish.* 58, 2111-2117.
- Yufera, M., Pascual, E., Polo, A., Sarasquete, M.C., 1993. Effect of starvation on the feeding ability of the gilthead seabream (*Sparus aurata* L.) larvae at first feeding. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* 169, 252-272.
- Zakeri, M., Marammazi, J.G., Kochanian, P., Savari, A., Yavari, V., Haghi,

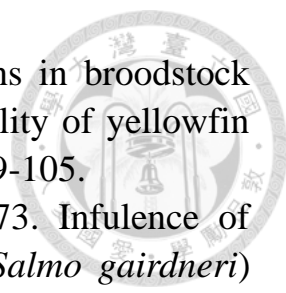
- 
- M., 2009. Effects of protein and lipid concentrations in broodstock diets on growth, spawning performance and egg quality of yellowfin sea bream (*Acanthopagrus latus*). *Aquaculture* 295, 99-105.
- Zeitoun, I.H., Tack, P.I., Halver, J.E., Ullery, D.E., 1973. Influence of salinity on protein requirements of rainbow trout (*Salmo gairdneri*) fingerlings. *J. Fish. Res. Board Can.* 30, 1867-1873.
- Zeitoun, I.H., Ullery, D.E., Tack, P.I., 1974. Effects of water salinity and dietary protein levels on total serum protein and hematocrit of rainbow trout (*Salmo gairdneri*) fingerlings. *J. Fish. Res. Board Can.* 31, 1133-1134.
- Zhang, J., Zhou, F., Wang, L.L., Shao, Q., Xu, Z., 2010. Dietary Protein Requirement of Juvenile Black Sea Bream, *Sparus microcephalus*. *J. World Aquacult. Soc.* 41, 151-164.

Table 1. The optimal protein level and protein source of fish.

Species	Protein sources	Requirements (%)	Reference
African bonytongue (<i>Heterotis niloticus</i>)	Fish meal and soybean meal	34.5	Monentcham <i>et al.</i> (2010)
Bass			
(<i>Centropristis striata</i>)	Herring meal and Krill meal	52.6	Alam <i>et al.</i> (2008)
(<i>Centropristis striata</i>)	Menhaden meal, Krill meal, Squid meal	44	Alam <i>et al.</i> (2009)
(<i>Dicentrarchus labrax</i>)	Fish meal	48	Peres and Oliva-Teles(1999)
(<i>Micropterus salmoides</i>)	Fish meal	43.6	Portz <i>et al.</i> (2001)
(<i>Micropterus salmoides</i>)	Fish meal and soybean meal	47	Tidwell <i>et al.</i> (1996)
(<i>Morone saxatilis</i>)	Fish meal	47	Millikin (1983)
Carp			
(<i>Aristichthys nobilis</i>)	Fish meal	30	Santiago and Reyes (1991)
(<i>Ctenopharyngodon idella</i>)	Casein	41 - 43	Dabrowski (1977)
(<i>Cyprinus carpio</i>)	Casein and Amino acids	38	Ogino and Saito (1970)
(<i>Cyprinus carpio</i>)	Casein and Amino acids	31	Takeuchi <i>et al.</i> (1979)
(<i>Ctenopharyngodon idella</i>)	Casein and fish meal	41 - 43	Dabrowski (1977)
Catfish			
(<i>Mystus nemurus</i>)	Fish meal, casein	44	Ng <i>et al.</i> (2001)
(<i>Mystus nemurus</i>)	Fish meal and soybean meal	42	Khan <i>et al.</i> (1993)
(<i>Ictalurus punctatus</i>)	Whole egg protein	32- 36	Garling and Wilson (1976)
Cobia			
(<i>Rachycentron canadum</i>)	Fish meal amd casein	44.5	Chou <i>et al.</i> (2001)
Rock porgy			
(<i>Oplegnathus fasciatus</i>)	Fish meal	47.91	黃 (2011)
(<i>Oplegnathus fasciatus</i>)	Fish meal	45.2	Kim <i>et al.</i> (2016)

Table 1. The optimal protein level and protein source of fish. (continue)

Species	Protein sources	Requirements (%)	Reference
Cod			
<i>(Gadus morhua)</i>	Fish meal	49	Grisdale-Helland <i>et al.</i> (2008)
<i>(Maccullochella peelii peelii)</i>	Fish meal, soybean meal	50	Gunasekera <i>et al.</i> (2000)
<i>(Melanogrammus aeglefinus)</i>	Fish meal, krill meal, casein and hydrolyzed fish meal	53.8	Kim <i>et al.</i> (2001)
Detex			
<i>(Detex dentex L.)</i>	Fish meal	49.3	Tibaldi <i>et al.</i> (1996)
Discus			
<i>(Symphysodon spp.)</i>	Danish fish meal and casein	44.9 - 50.1	Chong <i>et al.</i> (2000)
Eel			
<i>(Anguilla rostrata)</i>	Herring meal	47	Tibbetts <i>et al.</i> (2000)
<i>(Anguilla Anguilla)</i>	White fish meal and erring meal	40	De la Higuera <i>et al.</i> (1989)
Flounder			
<i>(Hippoglossus hippoglossus)</i>	Fish meal	51	Helland and Grisdale-Helland (1998)
<i>(Paralichthys lethostigma)</i>	White fish meal and casein	51.3	Gao <i>et al.</i> (2005)
<i>(Paralichthys olivaceus)</i>	White fish meal and casein	46.4 - 51.2	Kim <i>et al.</i> (2002)
Giant croaker			
<i>(Nibea japonica)</i>	White fish meal	45	Lee <i>et al.</i> (2001)
Grouper			
<i>(Cromileptes altivelis)</i>	Fish meal	55	鄭 (2006)
<i>(Epinephelus bruneus)</i>	Fish meal	54.48	孫 (2009)
<i>(Epinephelus coioides)</i>	Fish meal	48	Luo <i>et al.</i> (2004)
<i>(Epinephelus fuscoguttatus)</i>	White fish meal	50.9	Laining <i>et al.</i> (2004)

Table 1. The optimal protein level and protein source of fish. (continue)

Species	Protein sources	Requirements (%)	Reference
<i>(Epinephelus salmonides)</i>	Casein	40 - 50	Teng <i>et al.</i> (1978)
<i>(Epinephelus malabaricus)</i>	White fish meal	54	Chen and Chen (1986)
<i>(Epinephelus malabaricus)</i>	Casein	47.8	Chen and Tsai (1994)
<i>(Epinephelus malabaricus)</i>	Fish meal		
<i>(Epinephelus malabaricus)</i>	Fish meal ,krill hydrolysate, wheat gluten and casein	55 - 56	Tuan and Williams (2007)
<i>(Epinephelus tukula)</i>	Fish meal and casein	55	林 (2008)
Haddock			
<i>(Melanogrammus aeglefinus)</i>	Fish meal	53.8	Kim <i>et al.</i> (2001)
Jundia			
<i>(Rhamdia quelen)</i>	Casein	32.6 - 37.3	Meyer and Fracalossi (2004)
Mahseer			
<i>(Tor tambroides)</i>	Danish fish meal and casein	48	Ng <i>et al.</i> (2008)
Milkfish			
<i>(Chanos chanos)</i>	Casein	40	Lim <i>et al.</i> (1979)
Perch			
<i>(Bidyanus bidyanus)</i>	White fish meal	42.15	Yang <i>et al.</i> (2002)
<i>(Perca flavescens)</i>	Casein, glatin, amino acids	25	Brown <i>et al.</i> (1996)
<i>(Sander lucioperca)</i>	Fish meal	52.9 - 57.7	Schulz <i>et al.</i> (2007)
Rabbitfish			
<i>(Siganus guttatus)</i>	Fish meal and casein	35	Parazo (1990)
Red drum			
<i>(Sciaenops ocellatus)</i>	Red drum muscle	40	Serrano <i>et al.</i> (1992)

Table 1. The optimal protein level and protein source of fish. (continue)

Species	Protein sources	Requirements (%)	Reference
Rockfish			
<i>(Sebastes schlegeli)</i>	Fish meal	44	Lee <i>et al.</i> (1993)
<i>(Sebastes schlegeli)</i>	Rockfish muscle, casein	48.6	Kim <i>et al.</i> (2001)
Rohu			
<i>(Labeo rohita)</i>	Tuna fishmeal, soybean meal, groundnut meal	35	Khan <i>et al.</i> (2005)
<i>(Labeo rohita)</i>	Casein and gelatin	45	Satpathy <i>et al.</i> (2003)
Salmon			
<i>(Brachymystax lenok)</i>	Fish meal	43.6	Lee <i>et al.</i> (2001)
<i>(Oncorhynchus mykiss)</i>	Casein and dispensable amino acid mix	24	Kim (1997)
<i>(Oncorhynchus kisutch)</i>	Casein	40	Zeitoun <i>et al.</i> (1974)
<i>(Salmo gairdneri)</i>	Casein, gelatin	40	Zeitoun <i>et al.</i> (1973)
<i>(Salmo salar)</i>	Fish meal	55	Grisdale-Helland and Helland (1997)
<i>(Salmo trutta)</i>	Fish meal, casein, Soluble fish protein concentrate	53 - 57	Arzel <i>et al.</i> (1995)
Sea bream			
<i>(Acanthopagrus latus)</i>	Fish meal, Casein and Soybean meal	40	Zakeri <i>et al.</i> (2009)
<i>(Chrysophrys major)</i>	Casein	55	Yone (1976)
<i>(Diplodus sargus)</i>	Fish meal and soluble fish protein concentrate	38 - 42	S á <i>et al.</i> (2006)

Table 1. The optimal protein level and protein source of fish. (continue)

Species	Protein sources	Requirements (%)	Reference
(<i>Pagellus bogaraveo</i>)	Extruded peas meal, Wheat meal, LT fish meal, Deffatted soybean meal and Fish protein concentrate	40	Silva <i>et al.</i> (2006)
(<i>Pagrus pagrus</i>)	Fish meal	50	Schuchardt <i>et al.</i> (2008)
(<i>Sparus auratus</i>)	Fish meal and fish protein concentrate	45	Santina <i>et al.</i> (1996)
Shingi			
(<i>Heteropneustes fossilis</i>)	Casein	27 - 35	Akand <i>et al.</i> (1989)
Snakehead			
(<i>Channa micropeltes</i>)	Fish meal	52	Wee and Tacon (1982)
Tilapia			
(<i>Sarotherodon mossambicus</i>)	White fish meal	40	Jauncey (1982)
(<i>Oreochromis niloticus</i>)	White fish meal and wheat flour	45	EI-Sayed and Teshima (1992)
Tomato clownfish			
(<i>Amphiprion frenatus</i>)	Fish meal	50.24	王 (2008)
White sturgeon			
(<i>Acipenser transdmontanus</i>)	Casein wheat gluten, egg	40	Moore <i>et al.</i> (1988)
Yellowtail			
(<i>Seriola quinqueradiata</i>)	Sand eel and fish meal	55	Takeda <i>et al.</i> (1975)

Table 2. Composition of experimental diets for juvenile spotted knifejaw of experiment 2.

Treatment	A1	A2	A3	A4	A5	A6
Protein (%)	35	40	45	50	55	60
<i>Ingredients (g 100g-1)</i>						
Fish meal	51.3	58.7	66.1	73.6	80.8	88.4
Squid meal	1	1	1	1	1	1
Cod liver oil/Corn oil=2:1	3.9	3.3	2.8	2.2	1.6	1
α - starch	35.82	29.37	22.93	16.48	10.03	3.6
α - cellulose	1.98	1.63	1.17	0.72	0.57	0
Vitamin mix ^a	2	2	2	2	2	2
Mineral mix ^b	2	2	2	2	2	2
CMC ^c	2	2	2	2	2	2
<i>Proximate composition (%)</i>						
Moisture	6.49	6.03	7.16	7.89	8.65	5.87
Crude protein	36.92	42.77	47.74	52.75	57.44	62.98
Crude lipid	6.92	6.67	6.82	6.75	6.90	6.62
Ash	11.01	12.63	13.06	15.21	15.47	17.59
Calculated energy ^d (kcal / 100g diet)	350.04	351.73	352.89	352.33	352.20	352.31

^{ab} Golden Prawn Enterprise Co., Ltd

^c CMC: Carboxymethyl cellulose.

^d protein: 4.5kcal/g; lipid; 8.51kcal/g; carbohydrate; 3.49 kcal/g (Shiau and Huang, 1989)

Table 3. Embryonic development of *Oplegnathus punctatus* from fertilization to newly hatched larvae at 23 ± 1 °C.

Time*	Development stages	Description
	Zygote	
30 min	Fertilization	Blastoderm formed
	Cleavage	
1 hr 10 min	2-cell stage	First cleavage
1 hr 25 min	4-cell stage	Second cleavage
1 hr 50 min	8-cell stage	Third cleavage
2 hr 15 min	16-cell stage	Fourth cleavage
2 hr 45 min	32-cell stage	Fifth cleavage
3 hr 25 min	64-cell stage	Sixth cleavage
3 hr 40 min	Morula stage	Resembled a mulberry
4 hr 10 min	High blastula stage	Marginal cells migrated
4 hr 45 min	Low blastula stage	Blastocoel formed
	Gastrulation	
7 hr 50 min	Early gastrula stage	Germ ring formed and blastoderm expanded
10 hr 20 min	Middle gastrula stage	embryonic shield formed and blastoderm covers 1/2 of yolk sphere
11 hr 45 min	Late gastrula stage	Blastoderm covered 3/4 of yolk sphere
13 hr 25 min	Late gastrula stage	embryo formed
	Neurulation	
14 hr 25 min	Closure of blastopore	Neural tube formed and Blastopore closed
	Organogenesis	
15 hr 10 min	organogenesis	Optic vesicles formed
15 hr 45 min	organogenesis	Somits appeared
16 hr	organogenesis	Kupffer's vesicle appeared

* Time post fertilization.



Table 3. Embryonic development of *Oplegnathus punctatus* from fertilization to newly hatched larvae at 23 ± 1 °C. (continue)

Time*	Development stage	Description
16 hr 45 min	organogenesis	Otic capsule formed
18 hr 30 min	organogenesis	Brain vesicle formed and pigment cells formed on embryo
22 hr 15 min	organogenesis	formation of the crystalline lenses and chromatophore appeared on oil globule
23 hr 20 min	Tail bud stage	Tail free from yolk sac
25 hr 30 min	Heart-beating stage	Heart was visible with rhythmic heartbeat
Hatching		
28 hr 25 min	Pre-hatching stage	Muscular contraction, embryonic movements increase
29 hr 30 min	Newly hatched larvae	Larvae with an ellipsoid yolk-sac and an oil globule at the posterior end of the yolk-sac. Eyes are unpigmented and no fins and the mouth was not formed.

* Time post fertilization.

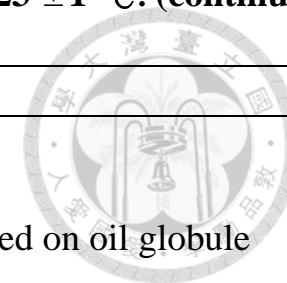


Table 4. The initial, final weight, weight gain, FCR, SGR, FI, PER (mean \pm S.D.) and survival of *Oplegnathus punctatus* of experiment 2 in 8 weeks.

Code (protein %)	Initial weight (g)	Final weight (g)	Weight gain (%)	SGR (% day ⁻¹)	FI (g)	FCR	PER	Survival (%)
A1 (35 %)	16.72 \pm 0.98 ^a	55.08 \pm 9.84 ^d	227.79 \pm 46.24 ^e	2.10 \pm 0.26 ^e	60.24 \pm 0.04	1.67 \pm 0.49 ^a	1.82 \pm 0.43 ^a	36
A2 (40 %)	16.87 \pm 1.06 ^a	70.49 \pm 11.66 ^c	315.61 \pm 50.55 ^d	2.53 \pm 0.28 ^d	70.17 \pm 0.05	1.42 \pm 0.66 ^b	1.91 \pm 0.38 ^a	93
A3 (45 %)	16.51 \pm 1.05 ^a	75.13 \pm 8.97 ^c	353.84 \pm 30.99 ^c	2.70 \pm 0.13 ^c	71.57 \pm 0.02	1.25 \pm 0.20 ^{bc}	1.82 \pm 0.25 ^a	90
A4 (50 %)	16.89 \pm 1.27 ^a	87.58 \pm 10.11 ^b	417.19 \pm 27.79 ^b	2.93 \pm 0.10 ^b	78.27 \pm 0.02	1.13 \pm 0.15 ^{cd}	1.81 \pm 0.23 ^a	90
A5 (55 %)	16.85 \pm 1.28 ^a	97.54 \pm 10.88 ^a	477.47 \pm 24.42 ^a	3.13 \pm 0.08 ^a	83.13 \pm 0.01	1.05 \pm 0.13 ^d	1.76 \pm 0.21 ^{ab}	96
A6 (60 %)	16.91 \pm 1.55 ^a	96.20 \pm 13.11 ^a	466.60 \pm 33.41 ^a	3.09 \pm 0.11 ^a	81.97 \pm 0.03	1.06 \pm 0.19 ^{cd}	1.61 \pm 0.24 ^b	96

Data in the same column with the different letters are significantly different ($p < 0.05$).

FCR: food conversion rate, diet (g) / weight gain (g)

SGR: specific growth rate, $\ln(\text{final weight} - \ln(\text{initial weight})) \times 100 / \text{day (s)}$

FI: feed intake

PER: protein efficiency ratio, $(\text{final weight} - \text{initial weight}) / \text{feed intake} \times \text{protein percentage}$

Table 5. CF, VSI and HSI of spotted knifejaw (*Oplegnathus punctatus*) of experiment 2 in 8 weeks.

Treatments (Protein %)	CF (%)	VSI (%)	HSI (%)
A1 (35 %)	2.39±0.06 ^b	8.18±0.75 ^a	2.11±0.20 ^a
A2 (40 %)	2.37±0.02 ^b	7.02±0.75 ^{ab}	1.70±0.34 ^{bc}
A3 (45 %)	2.45±0.03 ^{ab}	7.62±1.11 ^a	1.75±0.27 ^b
A4 (50 %)	2.49±0.05 ^a	7.94±0.81 ^a	2.12±0.26 ^a
A5 (55 %)	2.41±0.02 ^b	7.06±0.58 ^{ab}	1.74±0.31 ^b
A6 (60 %)	2.44±0.07 ^{ab}	6.18±1.12 ^b	1.36±0.14 ^c

Data in the same column with the different letters are significantly different ($p < 0.05$).

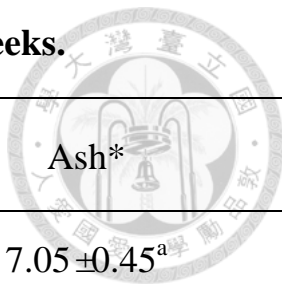
Data are means ±SD.

CF = body weight / (body length)³ × 100 %

VSI = (viscera weight / body weight) × 100 %

HSI = (liver weight / body weight) × 100 %

Table 6. Proximate analysis of muscle of spotted knifejaw (*Oplegnathus punctatus*) of experiment 2 in 8 weeks.



Treatments (Protein %)	Crude protein*	Crude lipid*	Ash*
A1 (35 %)	82.38±0.43 ^d	4.36±0.54 ^a	7.05±0.45 ^a
A2 (40 %)	83.96±0.51 ^c	2.85±0.17 ^b	6.40±0.42 ^b
A3 (45 %)	84.20±0.53 ^{bc}	2.58±0.22 ^b	6.42±0.30 ^b
A4 (50 %)	84.94±0.67 ^b	2.53±0.12 ^b	6.68±0.19 ^{ab}
A5 (55 %)	86.22±0.65 ^a	2.80±0.03 ^b	6.25±0.28 ^b
A6 (60 %)	86.47±0.48 ^a	2.82±0.10 ^b	6.30±0.14 ^b

Data in the same column with the different letters are significantly different ($p < 0.05$).

* % of dry weight.

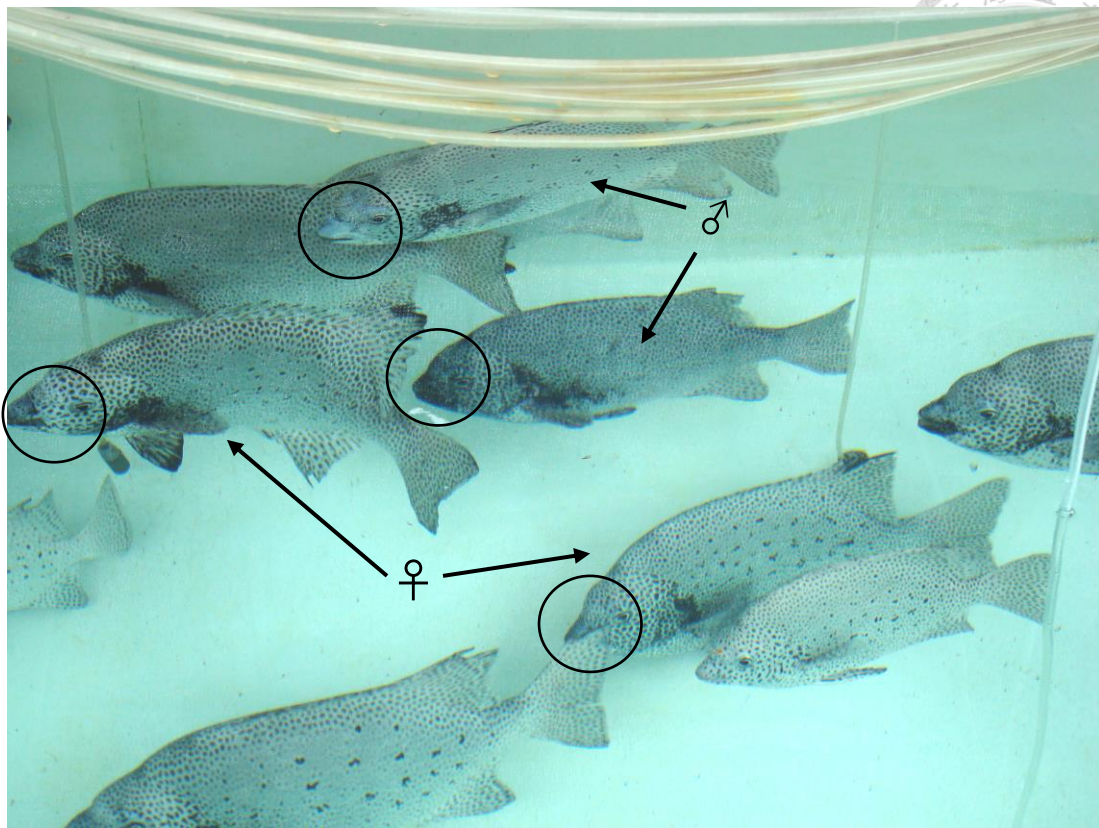


Figure 1. Broodstock of spotted knifejaw (*Oplegnathus punctatus*).

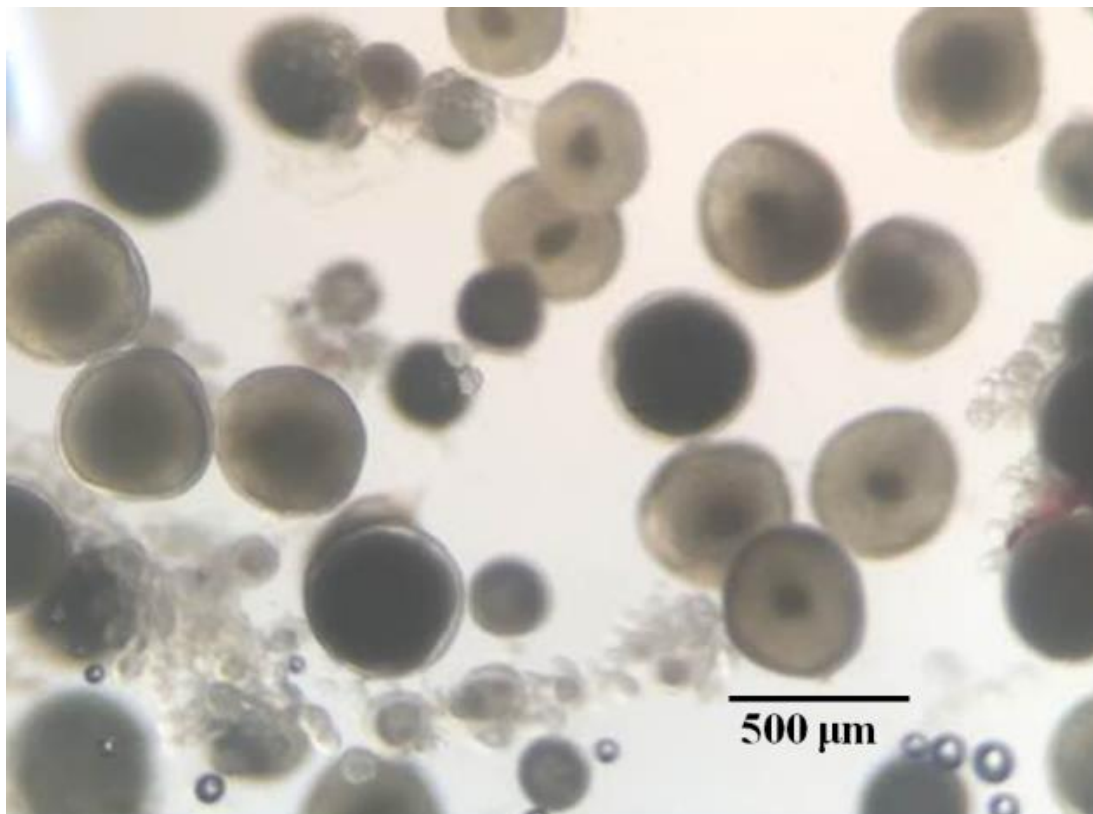


Figure 2. Oocyte of spotted knifejaw (*Oplegnathus punctatus*) before hormonal treatment.

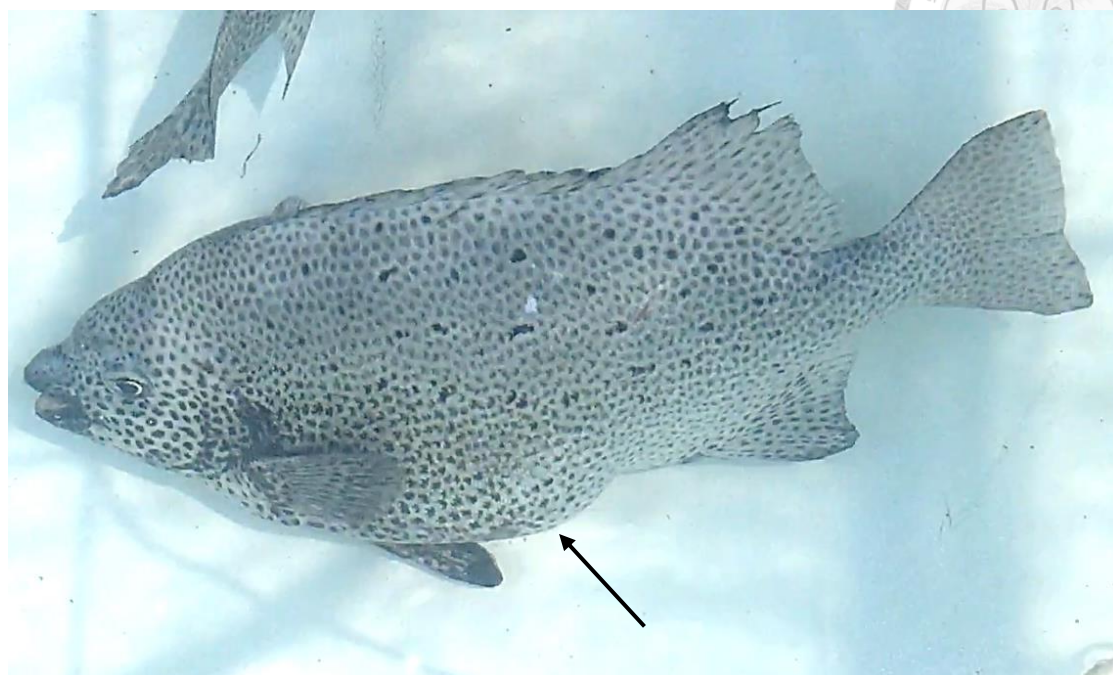


Figure 3. Morphological changes of female spotted knifejaw (*Oplegnathus punctatus*) after hormonal treatment.



Figure 4. Cloaca of mature female spotted knifejaw (*Oplegnathus punctatus*) before spawning.

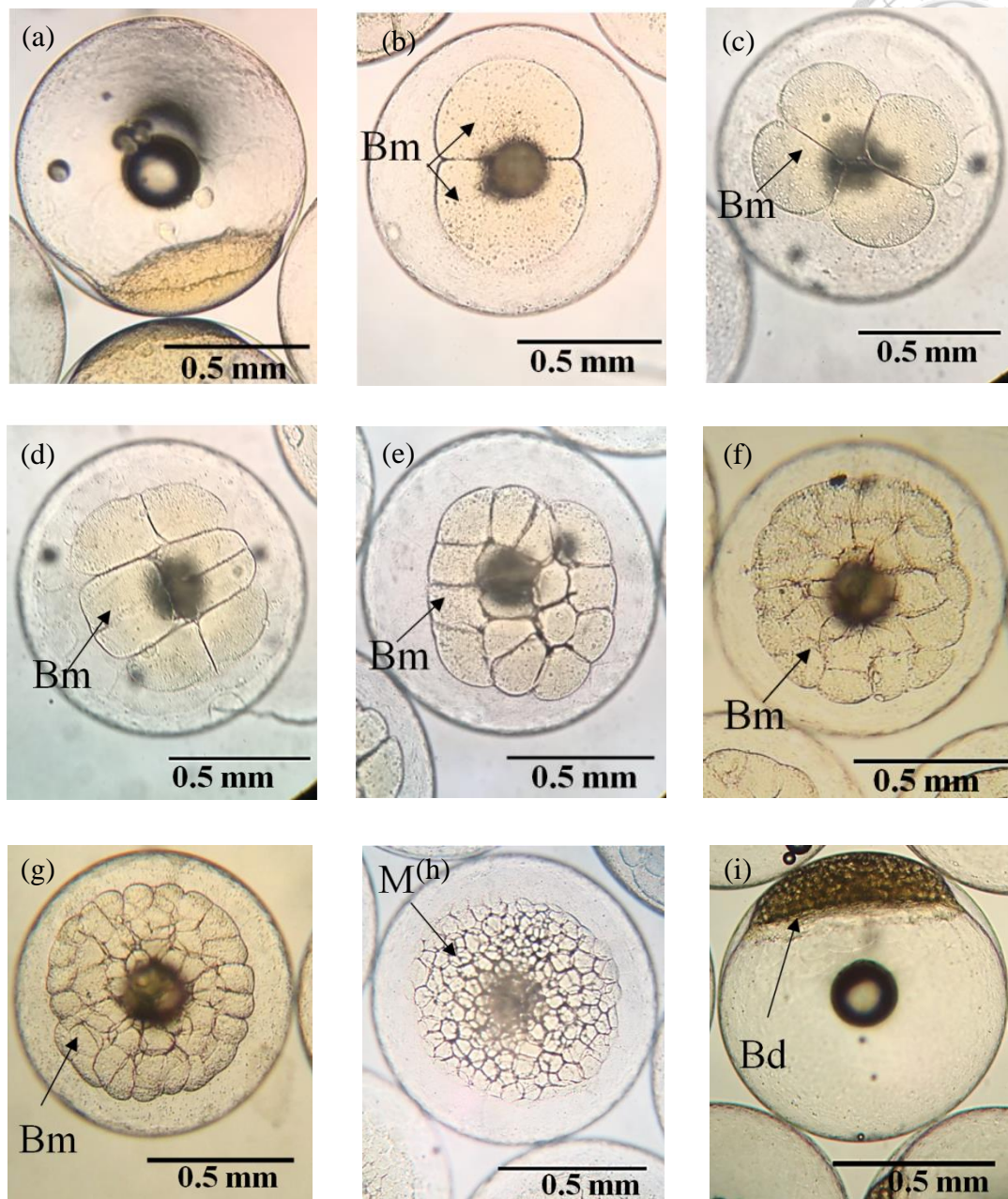


Figure 5. Embryonic development of *Oplegnathus punctatus* from fertilization to high blastula stage at 23 ± 1 °C.

(a) Fertilization, 0 h; 30 min (b) 2-cell stage, 1 h: 10 min; (c) 4-cell stage, 1 h: 25 min; (d) 8-cell stage, 1 h: 50 min; (e) 16-cell stage, 2 h: 15 min; (f) 32-cell stage, 2 h: 45 min; (g) 64-cell stage, 3 h: 25 min; (h) Morula stage, 3 h: 40 min; (i) High blastula stage, 4 h: 10 min.

Bd: Blastoderm, Bm: Blastomeres, M: Morula.

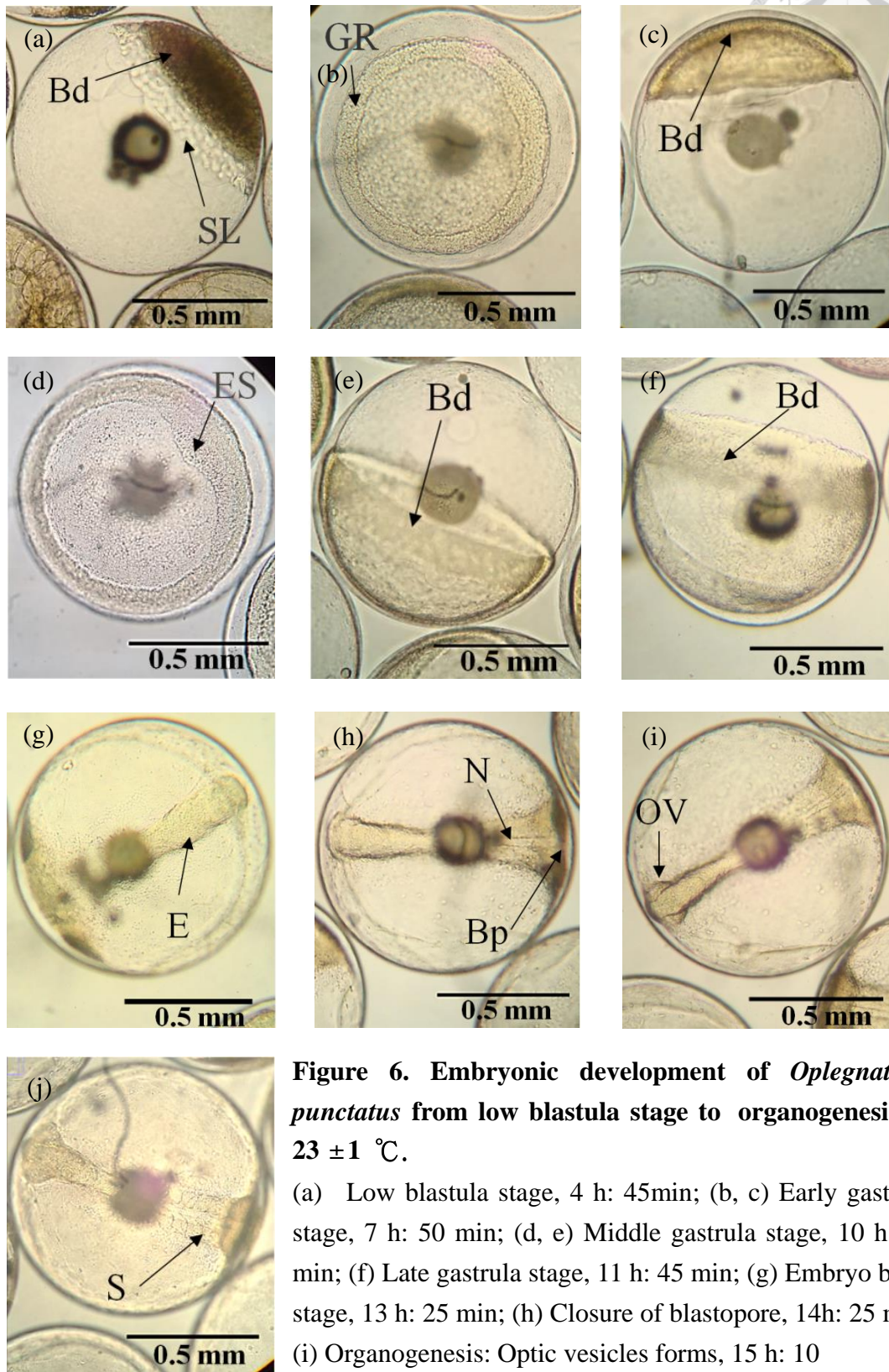


Figure 6. Embryonic development of *Oplegnathus punctatus* from low blastula stage to organogenesis at 23 ± 1 °C.

(a) Low blastula stage, 4 h: 45min; (b, c) Early gastrula stage, 7 h: 50 min; (d, e) Middle gastrula stage, 10 h: 20 min; (f) Late gastrula stage, 11 h: 45 min; (g) Embryo body stage, 13 h: 25 min; (h) Closure of blastopore, 14h: 25 min; (i) Organogenesis: Optic vesicles forms, 15 h: 10 min; (j) Somites forms, 15 hr 45 min.

Bd: Blastoderm, Bp: Blastopore, E: Embryo, ES: Embryonic shield, GR: Germinal ring, N: Neural tube, OV: Optic vesicle, S: Somite, SL: Syncytial layer.

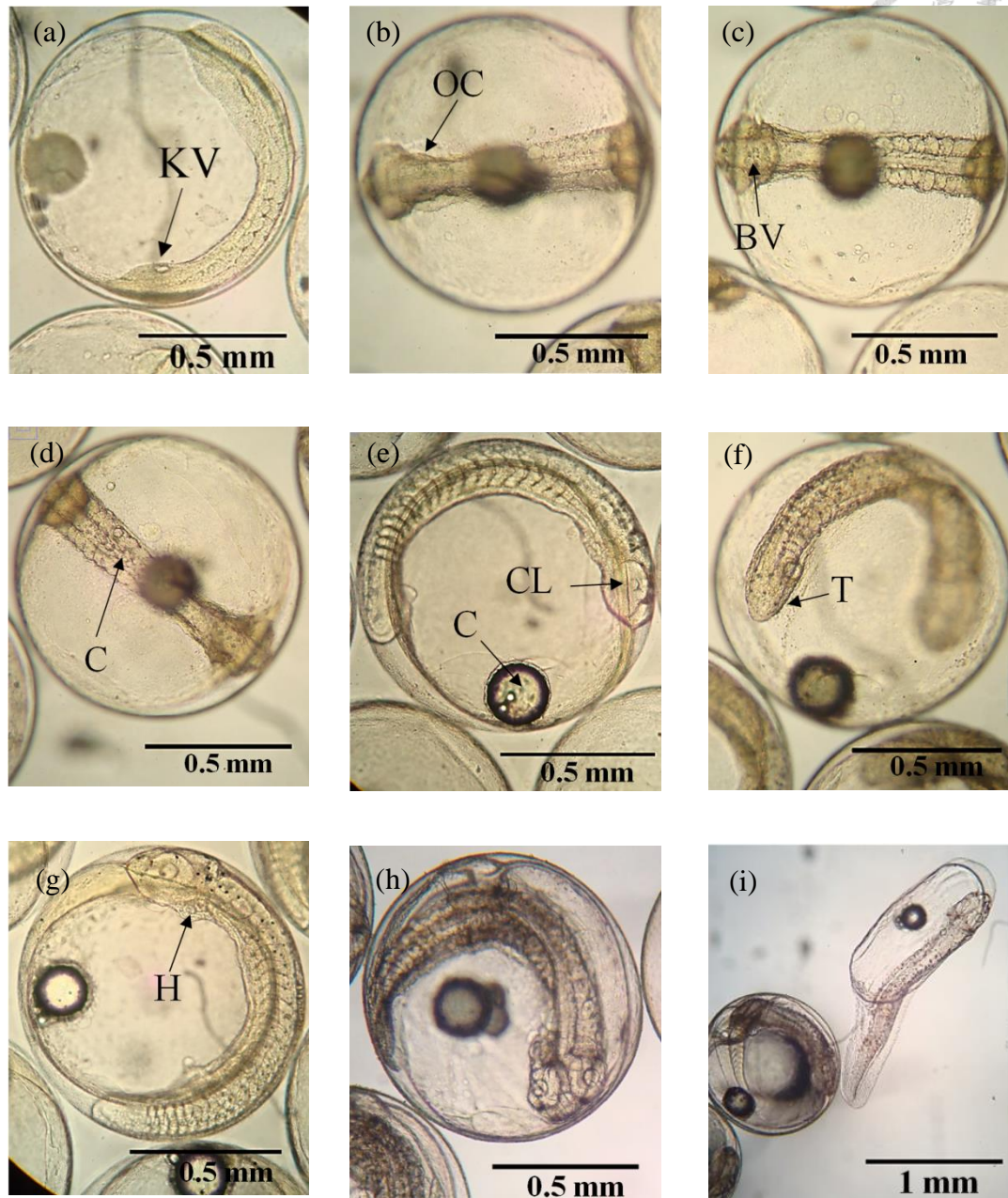


Figure 7. Embryonic development of *Oplegnathus punctatus* from organogenesis to Pre-hatching stage at 23 ± 1 °C.

Organogenesis: (a) Kupffer's vesicle forms, 16 h; (b) Otic capsule forms, 16 h: 45 min; (c, d) Brain vesicle and Crystalline lenses forms, 18 h 30 min; (e) Crystalline lenses forms, 22 h: 15 min; (f) Tail bud stage, 23 h: 20 min; (g) Heart-beating stage, 25 h: 30 min; (h) Pre-hatching stage, 28 h: 25 min. (i) Newly-hatched larvae, 29 h: 30 min.

BV: Brain vesicle, C: Chromatophore, CL: Crystalline lenses, H: Heart, KV: Kupffer's vesicle, OC: Otic capsule, T: Tail bud.

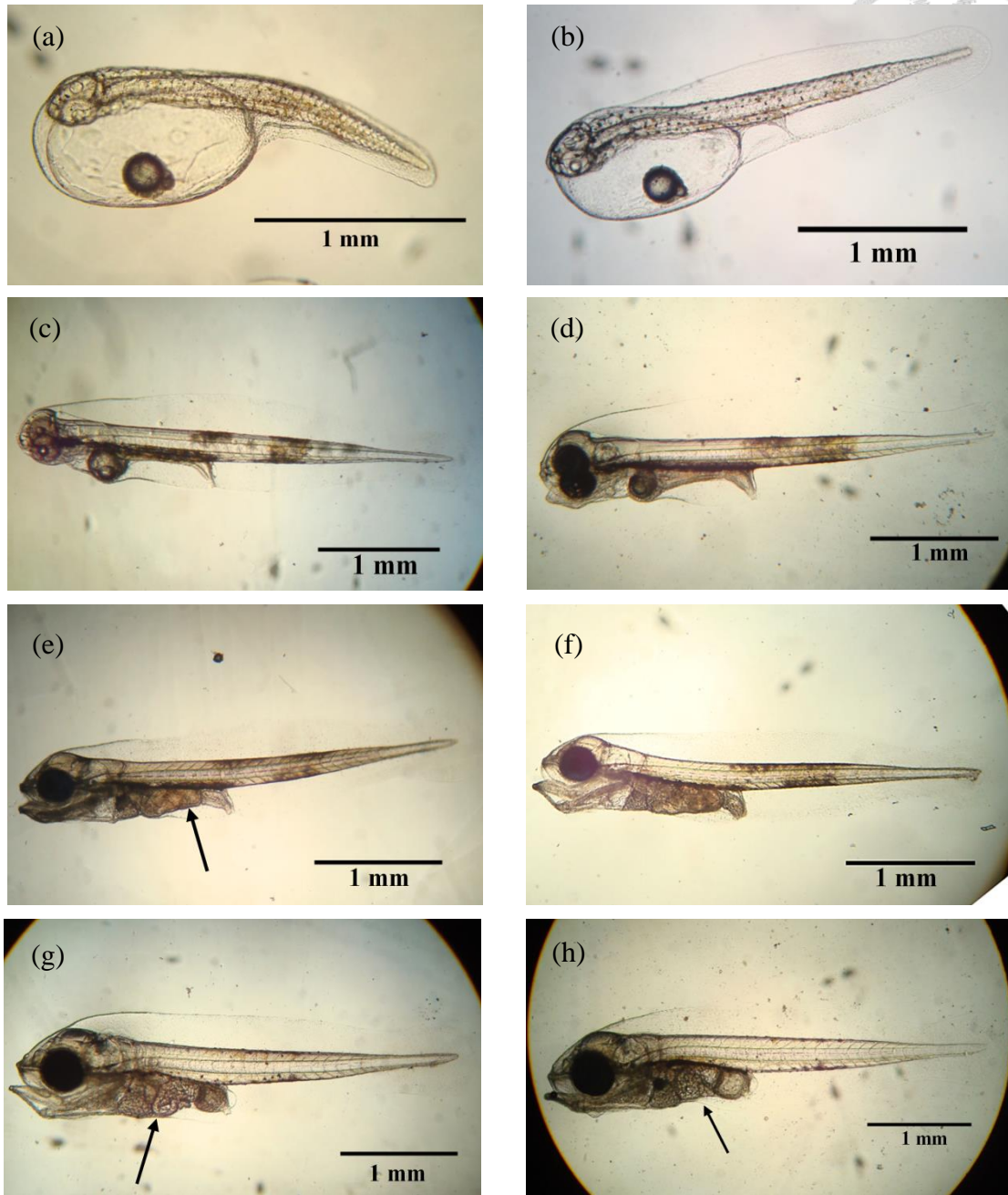


Figure 8. The morphological changes of *Oplegnathus punctatus* in larval stage at 26 ± 1 °C.

(a) 0 day post-hatch (dph), 1.96 ± 0.01 mm in standard length; (b) 0.5 dph, 2.69 ± 0.09 mm in standard length; (c) 1 dph, 3.35 ± 0.07 mm in standard length; (d) 2 dph, 3.61 ± 0.10 mm in standard length; (e) 3 dph, 3.64 ± 0.17 mm in standard length; (f) 4 dph, 3.81 ± 0.22 mm in standard length; (g) 5 dph, 3.87 ± 0.15 mm in standard length; (h) 6 dph, 4.02 ± 0.17 mm in standard length.

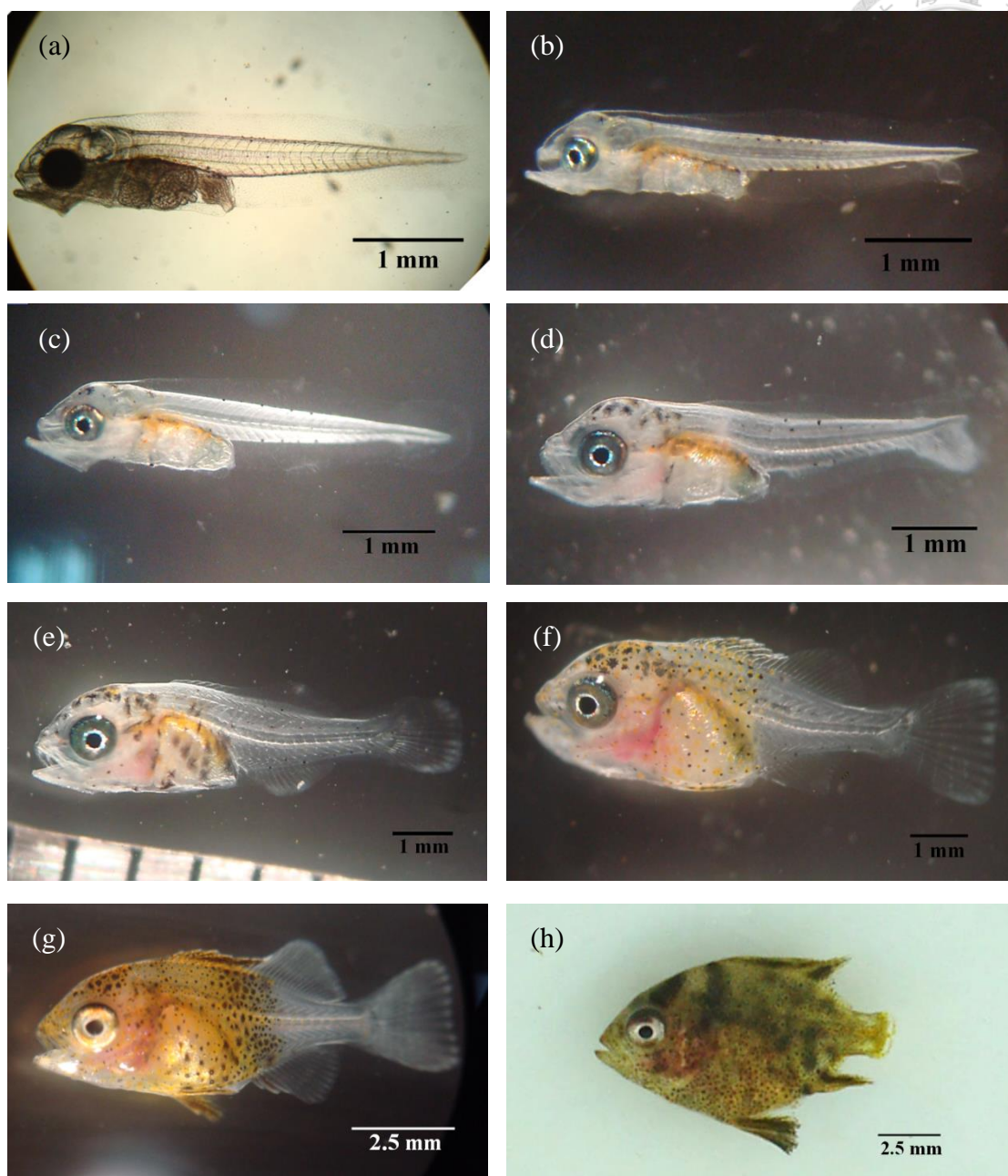


Figure 9. The morphological changes of *Oplegnathus punctatus* from larval stage to Metamorphosis stage at 26 ± 1 °C.

(a) 7 day dph, 4.12 ± 0.12 mm in standard length; (b) 9 dph, 4.39 ± 0.12 mm in standard length; (c) 11 dph, 4.48 ± 0.25 mm in standard length; (d) 13 dph, 5.16 ± 0.09 mm in standard length; (e) 17 dph, 5.82 ± 0.42 mm in standard length; (f) 21 dph, 6.89 ± 0.41 mm in standard length. (g) 24 dph, 8.20 ± 0.75 mm in standard length; (h) 28 dph, 9.54 ± 1.18 mm in standard length.

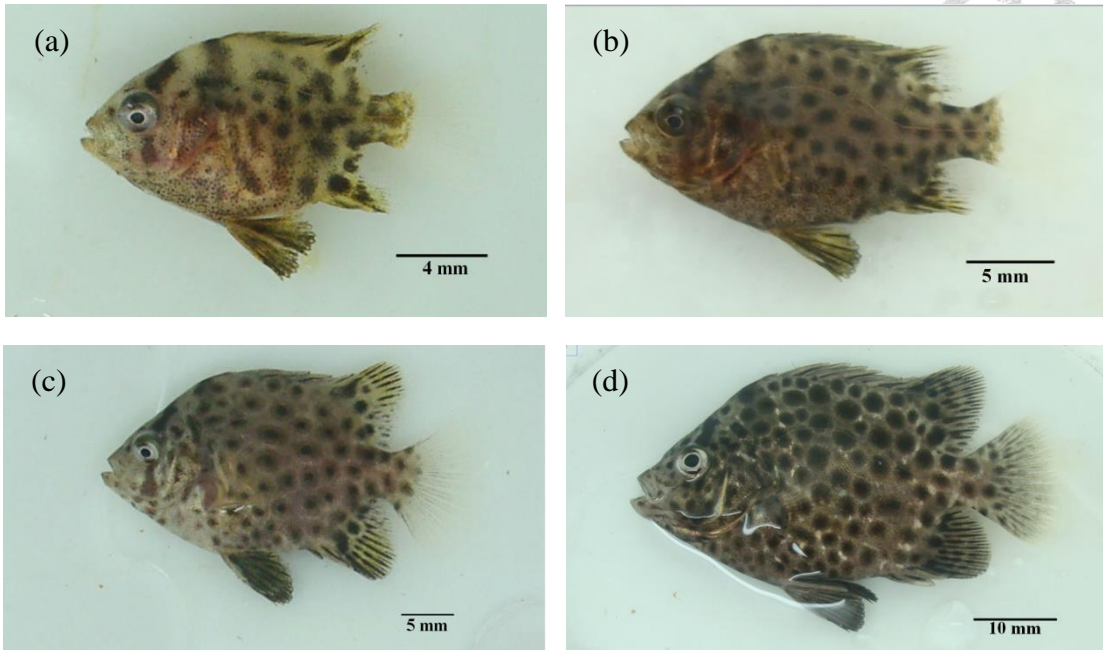


Figure 10. The morphological changes of *Oplegnathus punctatus* from Metamorphosis stage to juvenile stage at 26 ± 1 °C.

(a) 31 dph, 12.87 ± 1.54 mm in standard length; (b) 37 dph, 18.04 ± 1.53 mm in standard length; (c) 44 dph, 25.98 ± 3.70 mm in standard length; (d) 54 dph, 40.05 ± 3.93 mm in standard length.

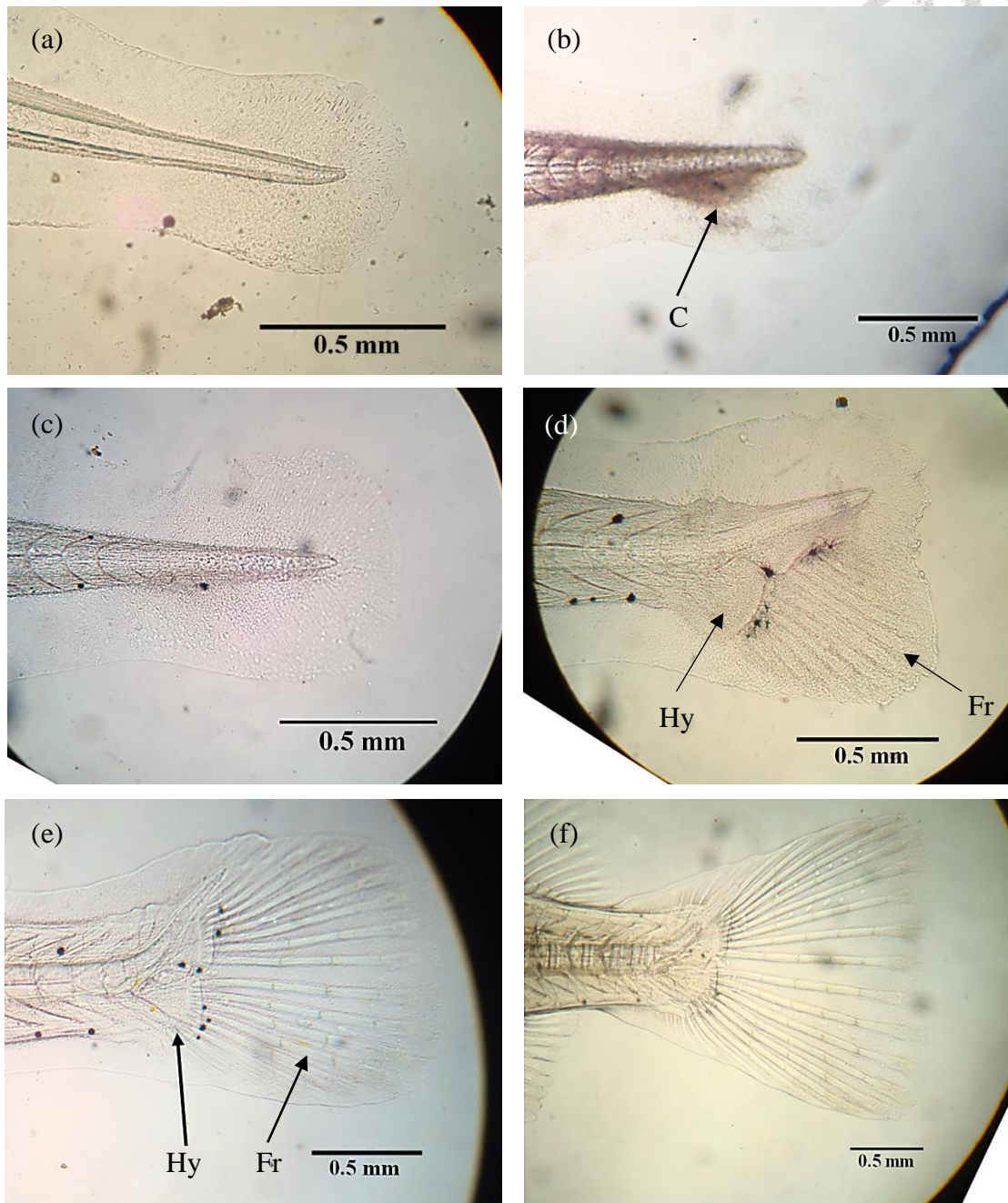


Figure 11. The development of caudal fin skeletons in *Oplegnathus punctatus* from 2 dph to 21 dph stage at 26 ± 1 °C.

C: Chromatophore, Fr: Fin ray, Hy: Hypural.

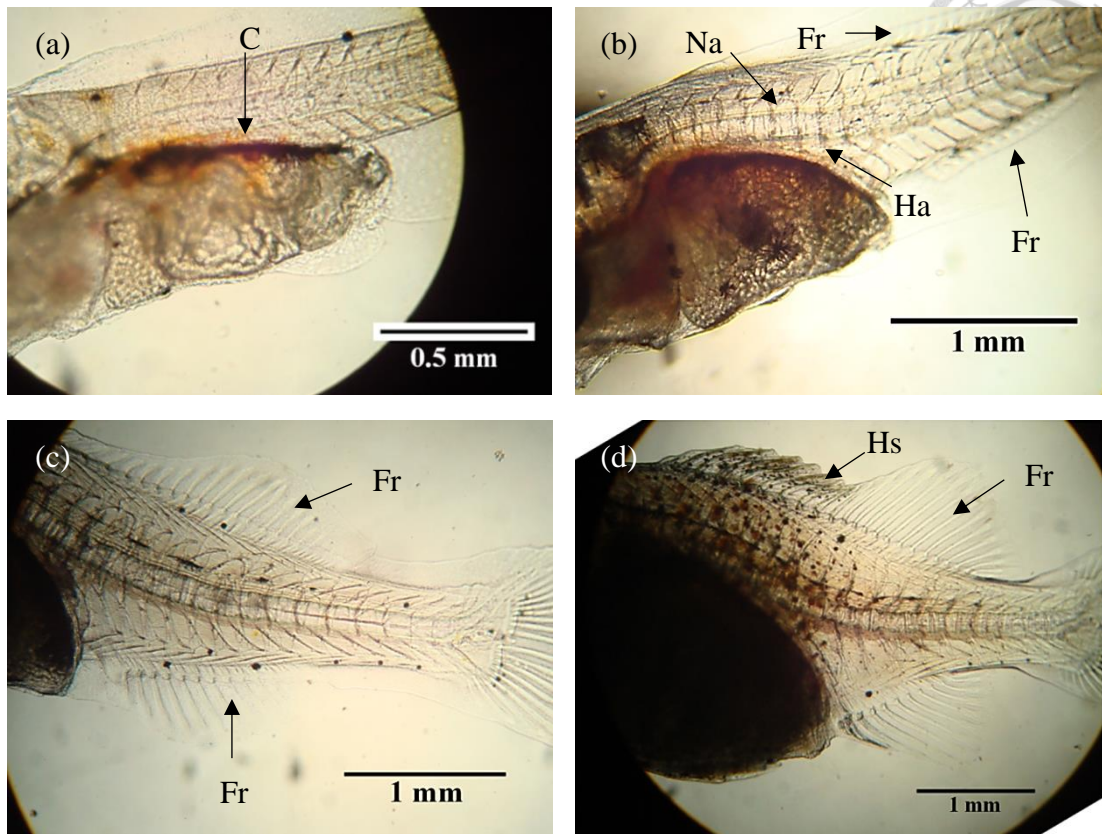


Figure 12. Development of vertebral column, dorsal fin and anal fin in *Oplegnathus punctatus* from 11 dph to 21 dph stage at 26 ± 1 °C.

C: Chromatophore, Fr: Fin ray, Na: Neural arch, Ha: Haemal arch, Hs: Hard spine.

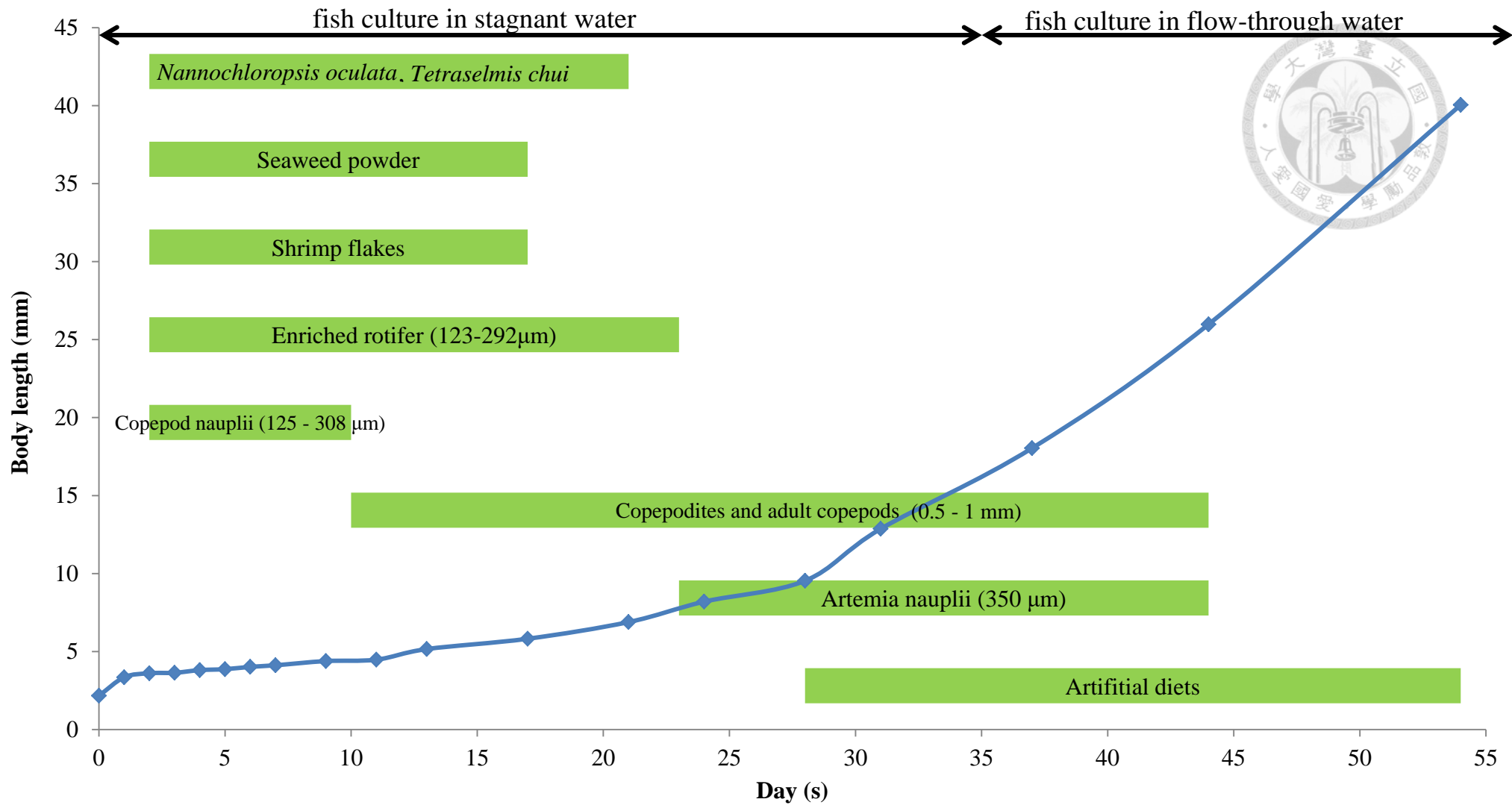


Figure 13. Feeding program and growth of *Oplegnathus punctatus* at 26 ± 1 °C from 0 to 54 days post-hatch.

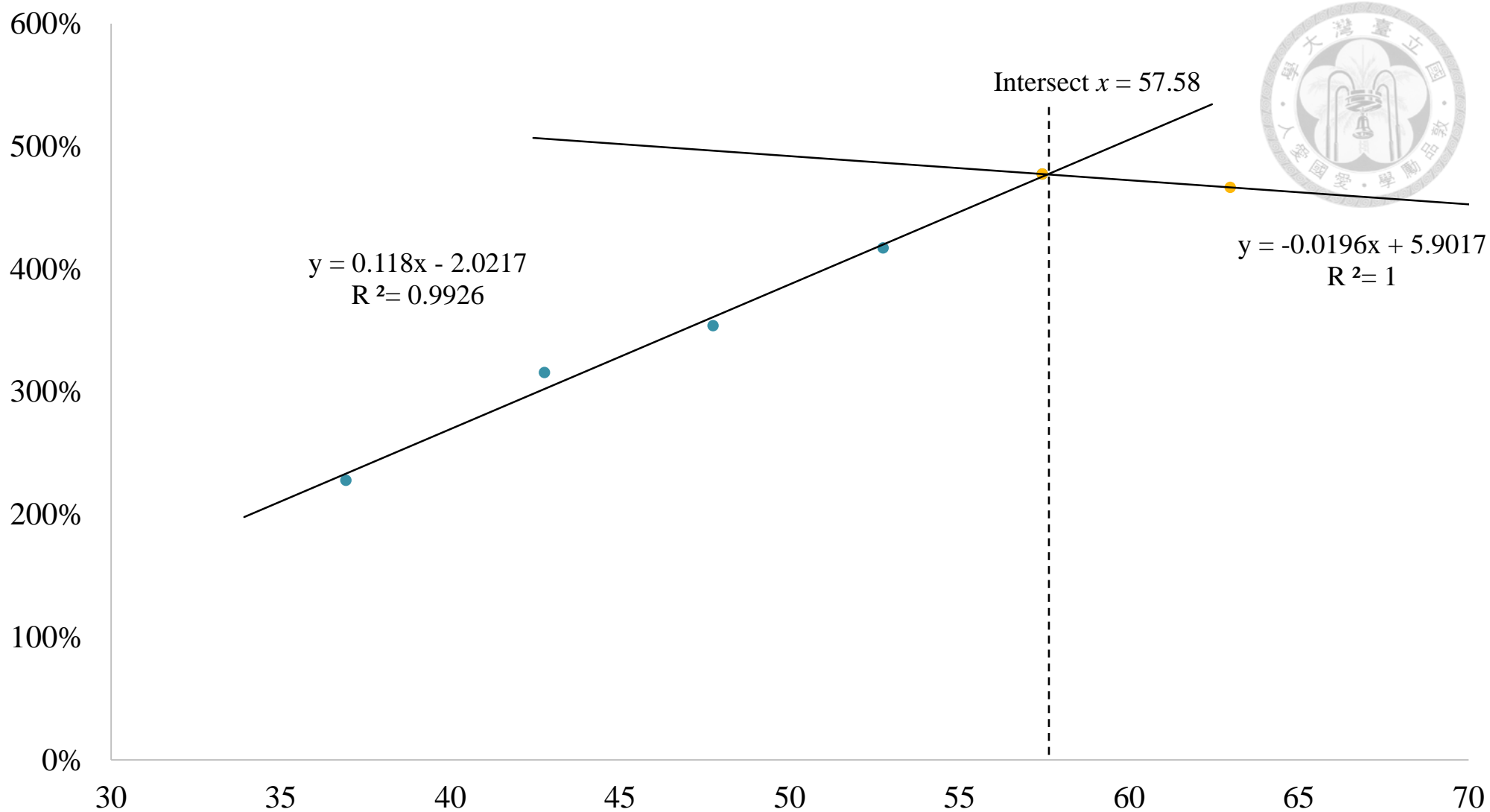


Figure 14. Broken - line regression of weight gain (y) on dietary protein level (x) of juvenile *Oplegnathus punctatus* (initial TW > 16 g) in experiment II in 8 weeks.

