

饲料中 $n-3$ HUFA 含量对花尾胡椒鲷亲鱼的生殖性能及血浆性类固醇激素水平季节变化的影响

李远友*, 陈伟洲, 孙泽伟, 陈洁辉, 吴克刚

(汕头大学 海洋生物广东省重点实验室, 广东 汕头 515063)

摘要: 以 $n-3$ HUFA 含量为 0.16%、1.27%、2.36% 和 3.47% 的 4 种人工配合饲料 (D1~D4) 及天然饲料 (冰鲜杂鱼, D5) 饲养花尾胡椒鲷 (*Plectorhynchus cinctus*) 雌亲鱼一周, 通过比较各饲料组亲鱼的产卵量、卵和仔鱼质量以及各月份的血浆性类固醇激素水平, 研究 $n-3$ HUFA 对生殖性能及性类固醇激素水平季节性变化的影响。平均每 kg 雌鱼的产卵量、卵受精率、仔鱼存活率、开口仔鱼体长等, D2 和 D3 组与 D5 组相近, 但 D1 和 D4 组显著低于 D5 组; 饲料中 $n-3$ HUFA 含量对血浆 17β -雌二醇 (E_2) 和睾酮 (T) 水平的季节性变化规律无明显影响, 但亲鱼性腺发育与成熟时期的 E_2 和 T 水平, D1 和 D4 组较 D5 组显著降低。 $n-3$ HUFA 含量对亲鱼离体卵泡 E_2 和 T 的分泌也有一定影响: D4 组卵泡 E_2 的基础分泌很少; 绒毛膜促性腺激素 (HCG, 100 IU/mL) 可刺激 D2—D5 组卵泡分泌 E_2 和 T, 但 D1 组卵泡对 HCG 无反应。结果提示, 花尾胡椒鲷亲鱼饲料中 $n-3$ HUFA 的适宜含量为 1.27%~2.36%, 不足或过高对亲鱼的生殖性能均有不利影响; 通过影响性类固醇激素的产生可能是饲料中 $n-3$ HUFA 含量影响鱼类生殖性能的机制之一。

关键词: 花尾胡椒鲷; $n-3$ 高度不饱和脂肪酸; 生殖力; 性类固醇激素

中图分类号: Q959.4 文献标识码: A 文章编号: 0254-5853(2004)03-0249-07

Effects of $n-3$ HUFA Content in Broodstock Diets on Reproductive Performance and Seasonal Changes of Plasma Sex Steroids Levels in *Plectorhynchus cinctus*

LI Yuan-you*, CHEN Wei-zhou, SUN Ze-wei, CHEN Jie-hui, WU Ke-gang

(Key Laboratory of Marine Biology of Guangdong Province, Shantou University, Shantou 515063, China)

Abstract: In order to study the effects of $n-3$ highly unsaturated fatty acids ($n-3$ HUFA) content in broodstock diets on the reproductive performance and seasonal changes of plasma sex steroids levels, five groups of *Plectorhynchus cinctus* female broodstocks were respectively fed a natural diet composed of trash fish (D5) and four artificial formulated diets containing 0.16% (D1), 1.27% (D2), 2.36% (D3) and 3.47% (D4) of $n-3$ HUFA, during the whole reproductive cycle. Their fecundity, egg and larval quality were evaluated, and the levels of plasma sex steroids were monthly monitored. It was found that the eggs production/kg of female, fertilization rate of eggs, larval survival and length at mouth-opening stage of both D2 and D3 group were equivalent to those of D5 group; however, those of D1 and D4 group were significantly lower than D5 group. Dietary $n-3$ HUFA content showed no obvious influence on the seasonal change pattern of plasma 17β -estradiol (E_2) and testosterone (T). However, the plasma E_2 and T levels in gonad developmental and mature seasons of D1 and D4 group were significantly lower than those of D5 group. Dietary $n-3$ HUFA content also displayed some influence on E_2 and T production by *in vitro* ovarian follicles. Little basic E_2 production was observed by ovarian follicles of D4 group. Human chorionic gonadotropin (HCG, 100 IU/mL) stimulated E_2 and T production by ovarian follicles of D2–D5 group; however, ovarian follicles of D1 group had no response to HCG. The results suggest that the optimum $n-3$ HUFA requirements in broodstock diet of *P. cinctus* range between 1.27% and 2.36%, deficient or high dietary $n-3$ HUFA content may have negative effect on reproductive performance of broodstocks; $n-3$ HUFA may affect the reproductive performance by influencing the production of sex steroids.

* 收稿日期: 2003-11-21; 接受日期: 2004-02-21

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (30070599)

* 通讯作者 (Corresponding author), E-mail: yyli@stu.edu.cn

Key words : *Plectorhynchus cinctus* ; *n-3* highly unsaturated fatty acid (*n-3* HUFA); Fecundity ; Sex steroid

捕自天然海区的亲鱼和鱼苗数量逐年减少,质量也不稳定,因而采用人工培育的亲鱼进行繁育已成为许多养殖种类鱼苗来源的重要手段,也是目前的发展方向。然而,目前的亲鱼饲养一般是以冰鲜杂鱼等作为生鲜饵料。生鲜饵料不但质量得不到保障,而且大量使用也是自然资源的浪费和破坏,还会带来严重的环境污染及病害流行。因此,研制亲鱼的配合饲料非常必要,这要求我们首先对各种亲鱼的营养需求有清楚的了解。

有关亲鱼的营养研究国外已有较多报道 (Izquierdo et al, 2001; Li et al, 2001; Chang et al, 2002; Watanabe & Vassallo-Agius, 2003)。然而,由于研究的难度和费用相对较大等原因,亲鱼营养仍然是鱼类营养中了解和研究得最少的领域之一 (Izquierdo et al, 2001)。在亲鱼的必需营养中,饲料必需脂肪酸,特别是 *n-3* 系列高度不饱和脂肪酸 (*n-3* highly unsaturated fatty acids, *n-3* HUFA) 是显著影响生殖性能 (卵子数量和质量等) 的主要营养成分之一 (Watanabe et al, 1984; Cerda et al, 1995; Abi-ayad et al, 1997; Rodriguez et al, 1998; Izquierdo et al, 2001), 其影响机制目前还在探讨。饲料中的蛋白质、脂肪或脂肪酸含量可影响狼鲈 (*Dicentrarchus labrax*) 血浆性类固醇激素水平 (Cerda et al, 1995; 1997); *n-3* HUFA 可影响金鱼离体卵巢或精巢组织的类固醇激素的产生 (Wade et al, 1994; Mercure & van der Kraak, 1995)。这些结果提示, *n-3* HUFA 可能通过影响亲鱼的血浆性类固醇激素水平来影响生殖性能。

国内有关亲鱼营养方面的研究仅见 Cai (1997) 对真鲷有过初步报道: 饵料缺少亲鱼所需的某种营养成分 (如磷、基础脂肪酸、蛋白质) 会明显影响繁殖性能。本研究拟以我国东南沿海的重要海水养殖鱼类——花尾胡椒鲷 (*Plectorhynchus cinctus*) 为研究对象, 以 *n-3* HUFA 含量不同而其他营养成分基本相同的 4 种人工配合饲料饲养亲鱼一周年, 研究 *n-3* HUFA 对亲鱼的产卵量、卵和仔鱼质量以及血浆性类固醇激素水平季节性变化的影响, 探讨 *n-3* HUFA 含量影响生殖性能的机制, 为鱼类营养生理学和生殖生理学充实新的内容, 为亲鱼饲料中 *n-3* HUFA 的适宜添加水平提供参考资料和依据。

1 材料与方法

1.1 亲 鱼

性成熟 (3 龄) 花尾胡椒鲷亲鱼 180 尾 (♀ 96 尾, ♂ 84 尾) 于 2001 年 1 月购自一家个体养鱼户, 饲养在汕头大学南澳临海实验站的海上网箱中, 网箱规格为 2.5 m × 2.5 m × 2 m。

1.2 饲 料

以鱼粉为蛋白源, 精制鱼油或猪油为脂肪源, 配制蛋白质、能量和总脂含量基本相等而 *n-3* HUFA 含量分别为 0.16%、1.27%、2.36%、3.47% 的粉状配合饲料 4 种 (D1—D4, 表 1), 用塑料袋分装后存放于 -20 °C 冰柜中备用; 天然饲料 (D5) 为冰鲜野杂鱼。鱼粉中粗蛋白含量用凯氏定氮法测定, 鱼粉、鱼油及猪油中脂肪含量用索氏抽提法测定, 鱼粉、鱼油中 *n-3* HUFA 含量用气相色谱面积归一化法测定。

1.3 实验设计

1.3.1 亲鱼血浆性类固醇激素水平季节性变化的检测 在 2001 年繁殖期过后的 6 月初, 将健康、大小较均匀的雌亲鱼 40 尾分为 5 组, 每组 8 尾 (体重见表 2), 分别以 D1—D5 饲料喂养至次年 5 月。D1—D4 组每天按初始体重的 1.5%、D5 组按 5% 分两次定时投喂; 配合饲料用适量淡水和匀, 捏成团状慢慢投喂; 冰鲜杂鱼稍微切碎后投喂。从 2001 年 6 月到 2002 年 4 月, 每月下旬对所有亲鱼定期取血一次。取血前, 先将亲鱼捞入含 $10^{-4} \sim 10^{-5}$ (W/V) MS-222 (SIGMA 公司) 的海水中麻醉, 然后用注射器从尾动脉取血。血样先注入置于碎冰中的 1.5 mL 塑料离心管内, 离心后收集血浆于其他离心管中, 每管加 0.5 ~ 1 μ L 1% 硫柳汞 (thimerosal) 防腐; 血浆入液氮中速冻后再置 -20 °C 冰箱中保存, 待测 17β -雌二醇 (17β -estradiol, E_2) 和睾酮 (testosterone, T) 含量。

1.3.2 产卵和孵化实验 在 2002 年繁殖期过后的 5 月下旬, 将健康、大小较均匀的雌鱼 90 尾分为 5 组, 每组 18 尾, 分别以 D1—D5 饲料喂养至次年 5 月; 将雄鱼 60 尾集中饲养在两个网箱中, 用 D5 饲料喂养。平时的投饲量同上, 产卵期间每天投喂一次。2003 年 4 月 26 日, 从各饲料组雌亲鱼中选取

表 1 实验饲料的组成 (重量百分比)
Table 1 Composition of the experimental diets (weight %)

成分 Ingredients	D1	D2	D3	D4	D5
鱼粉 Fish meal ¹	74	74	74	74	野杂鱼
鱼油 Fish oil ²	0	4.35	8.65	13	Trash fish
猪油 Lard ³	13	8.65	4.35	0	
淀粉 Starch	9	9	9	9	
混合无机盐 Mineral mixture ⁴	2	2	2	2	
混合维生素 Vitamin mixture ⁴	2	2	2	2	
总计 Total (%)	100	100	100	100	
粗蛋白质 Crude protein	52.48	52.78	53.10	52.92	
粗脂肪 Crude lipid	19.36	19.76	19.87	20.17	
能量 Energy ⁵ (kJ/100 g)	2.16×10^3	2.18×10^3	2.19×10^3	2.20×10^3	
<i>n</i> -3 HUFA ⁶	0.16	1.27	2.36	3.47	

¹ 粗蛋白质 (Crude protein): 67.14%; 粗脂肪 (Crude lipid): 10.19%; *n*-3 HUFA: 0.24%。

² 粗脂肪 (Crude lipid): 93.08%; *n*-3 HUFA: 25.46%。

³ 粗脂肪 (Crude lipid): 94.30%。

⁴ 按 Fernandez-Palacios et al (1995) 的配方 [Referred to Fernandez-Palacios et al (1995)]。

⁵ 由饲料中的蛋白质、脂肪及碳水化合物的产热量计算得来 (参考 Guan, 1988) (Estimated from the calorie produced by dietary protein, fat and carbohydrates; Referred to Guan, 1988)。

⁶ 由鱼油和鱼粉中的 *n*-3 HUFA 含量计算得出 (Calculated from *n*-3 HUFA content in fish oil and meal)。

表 2 实验亲鱼体重及性腺成熟系数
Table 2 Body weight and gonadosomatic index of experimental broodstocks

组别 Group	取血亲鱼体重 Body wt. for bleeding (kg) ♀ (n = 8)	产卵亲鱼体重 Body wt. for spawning (kg)		孵育实验 For incubation (♀, n = 2)	
		♀ (n = 8)	♂ (n = 11)	体重 Body wt. (kg)	性腺成熟系数 GSI (%)
D1	2.57 ± 0.15	2.70 ± 0.06	2.29 ± 0.12	1.95 ± 0.18	6.60 ± 2.65
D2	2.31 ± 0.11	2.51 ± 0.10	2.15 ± 0.11	1.73 ± 0.26	8.31 ± 0.13
D3	2.41 ± 0.06	2.51 ± 0.13	2.34 ± 0.12	1.67 ± 0.44	9.79 ± 3.89
D4	2.40 ± 0.16	2.70 ± 0.20	2.10 ± 0.09	1.97 ± 0.28	5.25 ± 1.16
D5	2.46 ± 0.13	3.27 ± 0.12	2.16 ± 0.10	2.40 ± 0.11	12.69 ± 0.25

8 尾发育较好的用于产卵实验, 配备雄亲鱼 11 尾, 称重 (表 2) 后放入各产卵网箱中, 让其自然交配产卵; 产卵从 4 月 27 日开始, 5 月 16 日结束, 各饲料组共产卵 11 ~ 12 d (批)。

产卵期间, 每天清晨检查是否有卵产出, 记录产卵量。在各饲料组亲鱼都有产卵的几天检查受精率 (受精后 8 ~ 10 h 的浮卵率), 测量卵径和油球径, 进行孵化实验; 每组共检查 3 ~ 7 批卵。计算受精率时, 每次 3 个重复, 每个重复 100 ~ 200 粒卵, 然后取 3 次的平均值。卵径和油球径在显微镜下用目测微尺测量, 每批测量 25 ~ 35 粒卵, 计算总的平均值。孵化实验用 1 000 mL 烧杯在 (24 ± 1) °C 的空调房中进行, 每次 3 个重复, 每个重复 100

粒浮性卵/800 mL 水, 光照 L:D = 13:11。孵化率、畸形率在孵化当天晚上计算, 仔鱼存活率在孵出的第 3 天 (即开口时) 计算。开口仔鱼体长的测量使用圆形孵化桶 (500 L) 中孵化的仔鱼, 每批测量 30 ~ 35 条, 计算总的平均值。

1.3.3 卵泡离体孵育实验 于 2003 年 4 月 28、29 日进行。卵泡来源于上述产卵实验没有用于交配产卵的雌亲鱼; 每组取 2 尾, 体重和性腺成熟系数 (gonadosomatic index, GSI) 见表 2。孵育液 DMEM/F-12 (Dulbecco's modified Eagle's medium 和 Ham's nutrient mixture F-12; 1:1, V/V) 参照 Yueh & Chang (2000) 的方法配制, pH 7.8, 含 15 mmol/L HEPES、100 IU/mL 青霉素钠和 100 μg/mL

链霉素。

取少量卵巢组织放入置于碎冰上的培养皿中,用 DMEM/F-12 孵育液清洗。用镊子将卵泡轻轻分离开,更换两次孵育液以清洗卵泡。用吸管将卵泡转入 24 孔培养板的小孔内,100 粒/孔,每条鱼的卵泡占 6 个孔。绒毛膜促性腺激素(human chorionic gonadotropin, HCG)处理组和孵育液对照组各设 3 个重复。培育前,用滴管更换各孔内的孵育液两次以清洗卵泡。进行 45 min 的预培育后,把培育过的孵育液吸走,每孔换上 1 mL 孵育液(对照组)或 HCG 溶液(100 IU/mL 孵育液)(处理组);在 $(24 \pm 0.5)^\circ\text{C}$ 下培育 26 h 后,将孵育液吸入 1.5 mL 离心管中,置 -20°C 冰箱中保存,待测 E_2 和 T 含量。

1.4 性类固醇激素含量测定

血浆及孵育液中的 E_2 和 T 含量采用北京北方生物技术研究所的 E_2 和 T 放射免疫测定试剂盒测定,在中山大学鱼类研究室完成。 E_2 和 T 的最低可测量(90% 特异性结合率时的计算值)分别为 5 pg/mL 和 0.1 ng/mL,批内变异系数分别为 7.8% (80 pg/mL, $n = 6$) 和 6.5% (2 ng/mL, $n = 6$)。

2 结果

2.1 饲料中 $n-3$ HUFA 含量对产卵量、卵和仔鱼质量的影响

各饲料组亲鱼的产卵量、卵和仔鱼质量见表 3。

平均每 kg 雌鱼的产卵量, D2、D3 组与 D5 组接近,均达到 D5 组的近 90%; D1 和 D4 组分别为 D5 组的 41% 和 54%。油球径, D1 和 D4 组较 D5 组极显著增大 ($t = 3.17$, $df = 161$, $P = 8.2 \times 10^{-6}$; $t = -4.59$, $df = 187$, $P = 1.8 \times 10^{-3}$)。受精率(浮性卵的百分率), D2、D3 组与 D5 组均无差异,但 D1 和 D4 组极显著低于 D5 组 ($t = 9.69$, $df = 28$, $P = 1.9 \times 10^{-10}$; $t = -4.59$, $df = 28$, $P = 8.6 \times 10^{-5}$)。仔鱼存活率, D1 组极显著低于 D5 组 ($t = 4.41$, $df = 16$, $P = 4.4 \times 10^{-4}$); 开口仔鱼的体长, D1、D4 组极显著低于 D5 组 ($t = 2.71$, $df = 179$, $P = 7.4 \times 10^{-3}$; $t = -3.05$, $df = 233$, $P = 2.5 \times 10^{-3}$)。

2.2 饲料中 $n-3$ HUFA 含量对亲鱼血浆 E_2 和 T 水平季节性变化的影响

除 5 月份产卵期外,其他各月雌亲鱼的血浆 E_2 和 T 含量见图 1。各饲料组亲鱼血浆的 E_2 、T 含量都呈现出明显而相同的季节性变化规律: E_2 含量在产卵前的春季(2—4 月)较高,峰值发生在卵巢快速生长发育和成熟期(3 月份),在 8 月份较低,其他月份基本检测不到;T 在产卵前的冬季和春季(12—4 月)可以测出,在其他月份基本检测不到。

尽管饲料中 $n-3$ HUFA 含量对血浆 E_2 和 T 水平的季节性变化规律无明显影响,但对 E_2 和 T 的绝对含量有较大影响。除 12 月份 D4 组、1 月份 D1 组

表 3 各饲料组亲鱼的产卵量、卵和仔鱼质量

Table 3 Fecundity, egg and larval quality exhibited by each diet group of broodstocks

	D1	D2	D3	D4	D5
产卵量 (g/kg 雌鱼) Fecundity (g/kg female)	168.02	287.03	302.54	181.64	335.23
卵 卵径 Egg diameter (μm)	785.00 ± 2.75	789.21 ± 1.61	786.15 ± 1.57	784.55 ± 2.13	788.46 ± 1.21
油球径 Oil droplet diameter (μm)	$230.50 \pm 2.58^{**}$	222.28 ± 1.03	217.35 ± 1.28	$225.45 \pm 1.22^{**}$	220.73 ± 0.87
受精率 Fertilization rate (%)	$23.52 \pm 1.20^{**}$	63.02 ± 2.21	61.76 ± 3.00	$46.35 \pm 2.06^{**}$	67.95 ± 2.93
卵质量 孵化率 Hatching rate (%)	93.09 ± 1.44	95.37 ± 0.49	95.79 ± 0.62	95.15 ± 1.00	96.76 ± 0.95
畸形率 Abnormal rate (%)	8.34 ± 1.30	6.32 ± 1.04	6.45 ± 1.06	8.99 ± 1.01	5.92 ± 0.76
仔鱼存活率 Larval survival (%)	$46.00 \pm 6.15^{**}$	71.00 ± 6.05	78.22 ± 4.81	74.00 ± 5.27	79.11 ± 4.31
仔鱼质量 开口仔鱼体长 Larval length (mm)	$2.62 \pm 0.01^{**}$	2.66 ± 0.01	2.67 ± 0.01	$2.63 \pm 0.01^{**}$	2.67 ± 0.01

表中数据为 3~7 批卵的平均值 \pm 标准误; ** 表示与 D5 组相比差异极显著 (t 检验, $P < 0.01$)。

Data are mean \pm SE of 3-7 batches of eggs. ** indicate very significantly different from group D5 (t test, $P < 0.01$).

的 T (图 1B), 以及 8 月份 D4 组的 E_2 含量 (图 1A) 较高外, 其他月份 D1、D4 组的 E_2 和 T 含量都较低 (图 1:A, B); 4 月份 D1、D2、D4 组和 3 月份 D1 组的 E_2 含量 (图 1A), 以及 4 月份 D1、D2、D4 组和 3 月份 D1 组的 T 含量 (图 1B) 都显著低于 D5 组 ($P < 0.05$)。

2.3 HCG 对离体卵泡 E_2 和 T 分泌活动的影响

卵泡离体孵育实验结果见图 2。除 D4 组外,

其他各组的对照孵育液中都能检测出一定水平的 E_2 (图 2A), 说明其卵泡可自主分泌 E_2 ; 但各组的对照孵育液都检测不到 T (图 2B), 说明 D1—D5 组卵泡基本上无自主分泌 T 的能力。HCG (100 IU/mL) 处理可不同程度地刺激 D2—D5 组卵泡分泌 E_2 和 T; 其中, D4 组孵育液的 E_2 含量 (图 2A), 以及 D3~D5 组孵育液的 T 含量 (图 2B), 其 HCG 处理都显著高于对照 (t 检验, $P < 0.05$)。

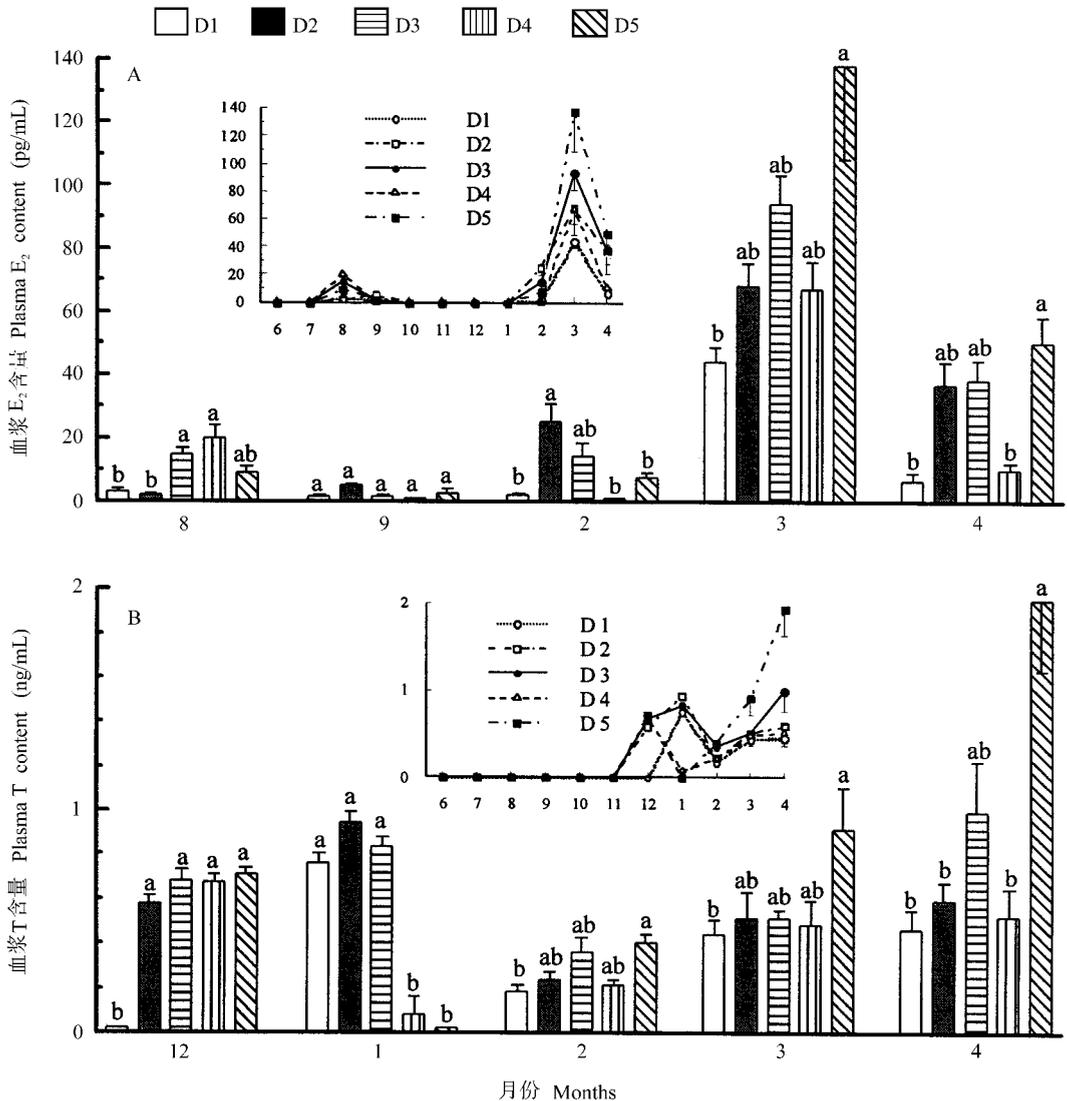


图 1 各饲料组花尾胡椒鲷雌亲鱼血浆 17β -雌二醇 (E_2) 和睾酮 (T) 水平的季节性变化

Fig.1 Seasonal changes in plasma levels of 17β -estradiol (E_2) and testosterone (T) in each diet group of *Plectorhynchus cinctus* female broodstocks

线形图显示 E_2 和 T 的季节性变化规律, 柱形图是各饲料组间的比较。数据为平均值 \pm 标准误 ($n = 6 \sim 8$); 同一月份中, 柱上不同字母者表示相互间差异显著 (Tukey 参数多重比较, $P < 0.05$)。

Line figures show the seasonal change pattern of E_2 and T, and column figures are values comparison. Data are mean \pm SE ($n = 6 \sim 8$). Columns with different letters in the same month indicate a significantly difference (Tukey's Parametric Multiple Comparisons, $P < 0.05$).

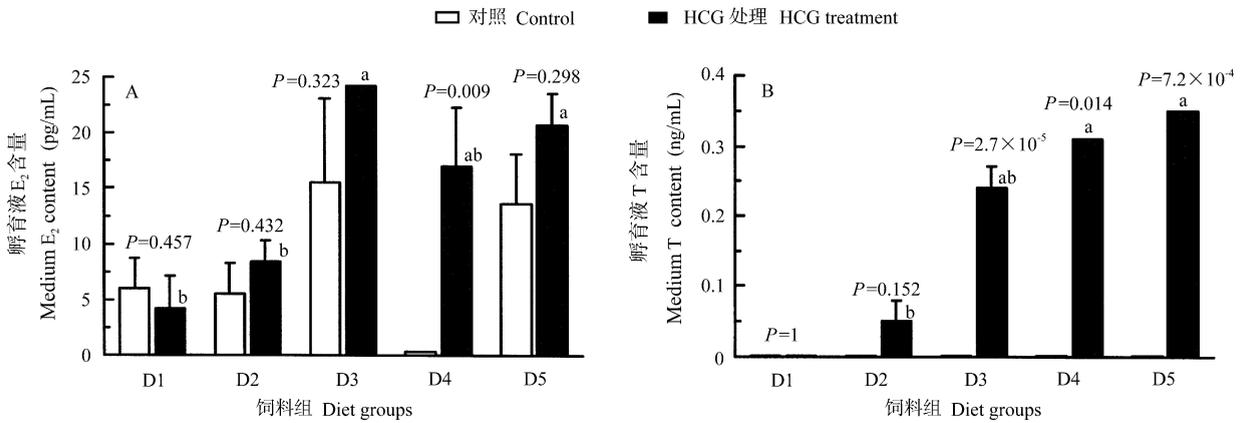


图 2 HCG 对各饲料组花尾胡椒鲷亲鱼离体卵泡 17β -雌二醇 (E_2) 和睾酮 (T) 分泌的影响

Fig. 2 Effects of human chorionic gonadotropin (HCG) on 17β -estradiol (E_2) and testosterone (T) production by *in vitro* ovarian follicles from each diet group of *Plectorhynchus cinctus* broodstocks

数据为平均值 \pm 标准误 ($n=6$)；各饲料组的 HCG 处理的柱上不同字母者，表示相互间差异显著 (Tukey 参数多重比较, $P < 0.05$)； P 值为各饲料组的对照和 HCG 处理间的比较 (t 检验)。

Data are mean \pm SE ($n=6$). Columns with different letters in HCG-treatment groups indicate a significantly difference (Tukey's Parametric Multiple Comparisons, $P < 0.05$). P values are the parameters of comparison between control and HCG-treatment in each diet group (t test).

在各饲料组之间，HCG 刺激分泌的 E_2 水平，D3、D5 组显著高于 D1、D2 组 (图 2A)；T 水平，D4、D5 组显著高于 D1、D2 组 (图 2B) (Tukey 参数多重比较, $P < 0.05$)。

3 讨论

3.1 花尾胡椒鲷亲鱼饲料 $n-3$ HUFA 的适宜含量

本研究结果表明，饲料中 $n-3$ HUFA 含量不足或含量过高都会降低花尾胡椒鲷亲鱼的生殖性能 (表 3)。这与对虹鲟 (Watanabe et al, 1984)、金头鲷 (Fernandez-Palacios et al, 1995) 及真鲷 (Rodriguez et al, 1998) 的研究结论基本一致。从产卵量、卵和仔鱼质量等指标来看 (表 3)，花尾胡椒鲷亲鱼饲料中 $n-3$ HUFA 的适宜含量为 1.27% ~ 2.36%，与牙鲆、金头鲷的适宜含量 (1.5% ~ 2.0%) (Fernandez-Palacios et al, 1995; Furuita et al, 2000) 相近，但高于鲑科亲鱼约 1% (Izquierdo et al, 2001)，以及鲷科幼鱼 0.5% ~ 0.8% (Izquierdo, 1996) 的适宜含量。因此，饲料中 $n-3$ HUFA 的适宜添加水平因种而异，且亲鱼大于幼鱼。

3.2 饲料中 $n-3$ HUFA 含量对血浆性类固醇激素水平的影响机制

本文各饲料组亲鱼血浆的 E_2 水平在产卵前的 2—4 月较高，在 8 月份较低，其他月份基本检测不到；T 水平在产卵前的 12—4 月可以测出，在其

他月份也基本上检测不到。这种 T 水平月份提前， E_2 、T 水平都呈现出明显而相近的季节性变化规律与 Cerda et al (1995, 1997) 对狼鲈的研究结果相似。其原因可能是卵黄的形成和积累需要 E_2 的刺激，在性腺快速生长发育和成熟的 2—4 月，为满足大量合成卵黄的生理需要，血浆 E_2 水平提高；而 E_2 是在芳构化酶的作用下由 T 转变而来的，T 和 E_2 的底物与产物关系可能是上述结果的原因之一。

血浆性类固醇激素水平是由其在性腺等组织中的产生速度及其在血液和组织中的代谢速度等因素决定的。 $n-3$ HUFA [二十碳五烯酸 (eicosapentaenoic acid, EPA) 和二十二碳六烯酸 (docosahexaenoic acid, DHA)] 可降低金鱼离体卵泡的类固醇产生 (Mercure & van der Kraak, 1995)，提示 $n-3$ HUFA 对性腺类固醇激素产生的抑制作用可能是其影响血浆性类固醇激素水平的机制之一。在本研究的离体孵育实验中，HCG 对各饲料组亲鱼离体卵泡分泌 E_2 和 T 的刺激效果不同 (图 2: A, B)，即卵泡对 HCG 的反应敏感性不同。说明饲料中 $n-3$ HUFA 含量对性腺类固醇形成的影响作用还延续到了离体卵泡。由于性类固醇激素的产生受“脑—脑垂体—性腺”功能轴的调节，饲料成分对血浆性类固醇激素水平的影响可能是由于营养不足或不平衡对“脑—脑垂体—性腺”内分泌系统的功能产生影响的结果。这方面的详细作用机制还有待进一步阐

明。

3.3 饲料中 $n-3$ HUFA 含量影响生殖性能的机制

在花尾胡椒鲷亲鱼性腺快速生长发育和成熟时期(3~4月), 饲料中 $n-3$ HUFA 含量不足的 D1 组或含量过高的 D4 组, 亲鱼血浆 E_2 和 T 水平较低(图 1), 生殖性能也较差(表 3)。说明饲料中 $n-3$ HUFA 含量、血浆性类固醇激素水平和生殖性能存在明显的相关性。由于长链脂肪酸, 特别是 $n-3$ HUFA 是卵黄蛋白原(vitellogenin, VTG)和胚胎细胞生物膜的重要成分之一(March, 1992), 而 VTG 的合成需要 E_2 刺激。因此, 饲料中 $n-3$ HUFA 含量影响生殖性能的因素可能有两个: 一方面,

$n-3$ HUFA 含量不足或不平衡(含量过高)所导致的气浆性类固醇激素水平的降低会阻碍亲鱼合成卵黄物质的能力, 进而抑制卵巢的发育成熟, 使生殖力下降; 另一方面, 饲料中 $n-3$ HUFA 含量可能通过影响卵和仔鱼的脂肪酸含量和组成等影响其质量(另文发表)。

致谢: 血浆性类固醇激素含量测定在中山大学鱼类研究室完成; 亲鱼养殖和卵收集等得到本实验室南澳临海实验站吴若坤、毛方奇和杜汉初等先生的帮助, 本室杜永兵同学参与类固醇激素含量测定。在此一并表示感谢。

参考文献:

- Abi-ayad SMEA, Melard C, Kastemont P. 1997. Effects of $n-3$ fatty acids in Eurasian perch broodstock diet on egg fatty acid composition and larvae stress resistance [J]. *Aquacult. Int.*, **5**: 161-168.
- Cai QH. 1997. Effects of nutrition quality in broodstock diets on spawning in *Pagrosomus major* [J]. *China Feed*, (21): 27-28. [蔡清海. 1997. 怀卵亲鱼饲料的营养质量对真鲷产卵的影响. 中国饲料, (21): 27-28.]
- Cerda J, Zauny S, Carrillo M, Ramos J, Serrano R. 1995. Short- and long-term effects on female sea bass *Dicentrarchus labrax*: Seasonal changes in plasma profiles of lipids and sex steroids in relation to reproduction [J]. *Comp. Biochem. Physiol.*, **111C**: 83-91.
- Cerda J, Zanuy S, Carrillo M. 1997. Evidence for dietary effects on plasma levels of sexual steroids during spermatogenesis in the sea bass [J]. *Aquacult. Int.*, **5**(5): 473-477.
- Chang Q, Liang MQ, Xue H, Wang AB. 2002. Research advance in broodstock nutrition [J]. *Mar. Fisher. Res.*, **23**(2): 65-71. [常青, 梁萌青, 薛华, 王爱波. 2002. 亲鱼营养的研究进展. 海洋水产研究, **23**(2): 65-71.]
- Fernandez-Palacios H, Izquierdo MS, Robaina L, Valencia A, Salhi M, Vergara J. 1995. Effect of $n-3$ HUFA level in broodstock diets on egg quality of gilthead seabream *Sparus aurata* L [J]. *Aquacult.*, **132**: 325-337.
- 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* [J]. *Aquacult.*, **187**: 387-398.
- Izquierdo M. 1996. Essential fatty acid requirements of cultured marine fish larvae [J]. *Aquacult. Nutr.*, **2**: 183-191.
- Izquierdo MS, Fernandez-Palacios H, Tacon AGJ. 2001. Effect of broodstock nutrition on reproductive performance of fish [J]. *Aquacult.*, **197**: 25-42.
- Li YY, Sun ZW, Chen WZ, Lin XQ, Yang YF. 2001. Progress in nutrition research for marine broodstocks [J]. *Mar. Sci.*, **25**(1): 20-22. [李远友, 孙泽伟, 陈伟洲, 林学群, 杨宇峰. 2001. 海水养殖亲鱼的营养研究动态. 海洋科学, **25**(1): 20-22.]
- March BE. 1992. Essential fatty acids in fish physiology [J]. *Can. J. Physiol. Pharmacol.*, **71**: 684-689.
- Mercure F, van der Kraak G. 1995. Inhibition of gonadotropin-stimulated ovarian steroid production by polyunsaturated fatty acids in teleost fish [J]. *Lipids*, **30**: 547-554.
- Rodriguez C, Cejas JR, Martin MV, Badia P, Samper M, Lorenzo A. 1998. Influence of $n-3$ highly unsaturated fatty acid deficiency on the lipid composition of broodstock gilthead sea bream (*Sparus aurata*) and on egg quality [J]. *Fish Physiol. Biochem.*, **18**: 177-187.
- Wade MG, van der Kraak G, Gerrits MF, Ballantyne JS. 1994. Release and steroidogenic actions of polyunsaturated fatty acids in the goldfish testis [J]. *Biol. Reprod.*, **51**: 131-139.
- Watanabe T, Takeuchi T, Saito M, Nishimura K. 1984. Effect of low protein-high calorie or essential fatty acid deficiency diet on reproduction of rainbow trout [J]. *Nippon Suisan Gakkaishi*, **50**(7): 1207-1215.
- Watanabe T, Vassallo-Agius R. 2003. Broodstock nutrition research on marine finfish in Japan [J]. *Aquacult.*, **227**: 35-61.
- Yueh WS, Chang CF. 2000. Morphological changes and competence of maturing oocytes in the protandrous black porgy, *Acanthopagrus schlegelii* [J]. *Zool. Stud.*, **39**(2): 114-122.