

種魚飼料添加n-3高度不飽和脂肪酸對黃錫鯛產卵之影響

呂明毅·吳純衡

Effect of n-3 Highly Unsaturated Fatty Acids Supplement in Broodstock Diets on Reproduction of Silver Sea Bream, *Sparus sarba* (Temminck et Schlegel)

Ming-Yih Leu and Chwen-Herng Wu

The feeding experiment was conducted to examine the effects of supplementing broodstock diets with n-3 HUFA (highly unsaturated fatty acids) on spawning and egg quality of silver sea bream, *Sparus sarba*. The diets were prepared by adding both EPA (dicosapentaenoic acid) oil and soybean oil at different proportions. After a 5-month experimental period, the results indicated that the addition of EPA oil to the diet containing 0.31% n-3 HUFA improved the egg production, percentage of buoyant eggs, rate of hatching, and total length of larvae, while the abnormality in both eggs and hatched larvae were reduced. In addition, it appears that the cold tolerance of *S. sarba* broodstock fed with diets supplemented with n-3 HUFA was superior to those fed with diets supplemented with soybean oil.

Key words: Broodstock diets, n-3 HUFA, Spawning, Egg quality, *Sparus sarba*, Cold tolerance.

前 言

近年來，高經濟海水魚類養殖逐漸受到重視，又為積極發展本省之栽培漁業，大量放流高經濟海水魚類之種苗，亦將勢在必行，故未來對海水魚種苗之需求，必定更形殷切。本省海水魚類種苗生產技術，最近幾年雖有長足之進步，但尚不能生產大量可供放養之種苗，關鍵雖在種苗培育技術尚未確立，而根本問題在於無法獲得大量的良質卵，以供應種苗生產之所需。

種魚的營養狀態，對魚類之成熟、產卵及卵質有很大的影響⁽¹⁾⁽²⁾⁽³⁾，且種魚對營養的需求往往不同於稚魚或成長中的魚類⁽⁴⁾。以魚類的必需脂肪酸 (essential fatty acids, EFA) 而言，Watanabe 等⁽⁵⁾以缺乏EFA的飼料飼育虹鱒 (*Salmo gairdneri*) 三個月，結果顯示產卵量、發眼率及孵化率均顯著低下，而添加亞麻油酸 (linoleic acid, C18:2n-3) 則可改善卵質，表示產卵前短時間給餌，飼料

之質對卵質有極大的影響。而海水魚類的EFA主要為二十碳五烯酸 (C20:5n-3, EPA) 和二十二碳六烯酸 (C22:6n-3, DHA) 等n-3高度不飽和脂肪酸 (highly unsaturated fatty acids, HUFA) ⁽⁹⁾⁽⁷⁾，以不含HUFA之玉米油添加飼料中飼育嘉臘 (*Chrysophrys major*) 種魚，亦發現卵質不佳，孵化率極差，而添加富含HUFA之南極蝦抽出油或烏賊油可獲得改善之效果⁽⁸⁾⁽⁹⁾，可見飼料中添加HUFA有其必要性。

迄今，國內有關種魚飼料之質與卵質關連之研究報告仍付闕如，目前培育種魚幾乎全部以生餌（下雜魚蝦）為主，生餌不但來源不穩定，給餌費時、費力及鮮度保持困難，長期投餵不新鮮之餌，易發生水質污染及營養障礙或缺乏症等問題。因此，種魚飼料之開發，不但利於種魚之培育，且在營養充足的情況下，可獲得量多且質優的卵，提高種苗生產量。黃錫鯛 (*Sparus sarba*, Temminck et Schlegel) 為本省新興海水經濟養殖魚種之一，自1987年人為自然產卵成功以來⁽¹⁰⁾，廣受各界矚目，本文以添加n-3 HUFA之種魚飼料，探討其對黃錫鯛產卵之影響，以供開發種魚配合飼料之參考。

材料與方法

一、種魚培育：

1988年10月4日，自澎湖購入2齡種魚100尾，平均體重為 514.87 ± 66.01 g，平均體長（尾叉長）為 28.71 ± 1.25 cm，蓄養於1分池10個箱網中（ $2.1 \times 0.9 \times 0.8$ m），平日係以自製浮性飼料投餵。經過一個半月之馴養，於11月14日挑選20尾種魚（♀4：♂16）分養於二個室外水泥池中（ $3.9 \times 1.9 \times 1.1$ m），開始投餵試驗飼料，每日上、下午各投餌一次，又1989年元月14日再度將種魚移入室內2.5噸FRP桶內，繼續飼育至4月19日產卵結束。飼育期間並裝設加溫設備，以維持水溫和魚體健康。養殖用水係經砂石過濾後使用，每星期固定清池一次，每日紀錄水溫及鹽度等水質資料，每個月之平均水溫及各試驗組之平均攝餌量如圖1所示。

二、試驗飼料製作：

試驗飼料成分組成如表1所示，以大洋牌白魚粉為主蛋白源，糊化澱粉及小麥筋粉乃作為黏著劑，製成A、B二種飼料，其中A飼料係添加EPA油（n-3HUFA含量0.31%），B飼料則添加缺乏HUFA之大豆油以為對照組（n-3HUFA含量0.15%），其他成份組成量相同配製而成。維生素、礦物質之混合組成分別參考Halver⁽¹¹⁾及Sakamoto⁽¹²⁾。試驗飼料係以簡易形濕性飼料造粒機製成直徑1 cm之粒狀飼料，不經乾燥直接密封貯存於-20°C冰箱中備用。製成之種魚配合飼料，其脂肪酸組成如表2所示。

三、卵質評估方法：

有關種魚之產卵成績與卵質優劣的判斷，一般是以產卵量、受精率、卵之顏色、卵徑、油球徑、油球數、卵成分組成、孵化率、仔魚體長及畸形率等形質為基準⁽¹³⁾⁽¹⁴⁾，此外，大部分海水魚類產浮性卵，通常無受精卵和異常發生卵大多在孵化之前即沉至水底，故浮性卵率亦列入考慮⁽¹⁵⁾。本試驗的產卵成績與卵質之評估方法，分述如下：

(1)產卵量 (Egg produced/fish)：種魚產卵期間，於每日15：00至17：00利用虹吸法收集魚卵，再以容積法計算每日產卵量⁽¹⁰⁾，最後求得各組每尾雌魚之總產卵量。

(2)浮性卵率 (Rate of buoyant egg)：利用正常卵浮於水面之特性，每日將收集之卵置於豐年蝦孵化桶內，經攪動、靜置等步驟，待壞卵沉於水底時，即可分離之，求出浮性卵所佔之百分比。

(3)卵徑、油球徑、油球數 (Egg diameter, oil globules diameter, number of oil globules)：產卵期間，逢機取樣8次，每次取30粒受精卵（已發育至桑實期），在顯微鏡下測定其卵徑、油球徑及油球數（正常卵通常為單一油球）。

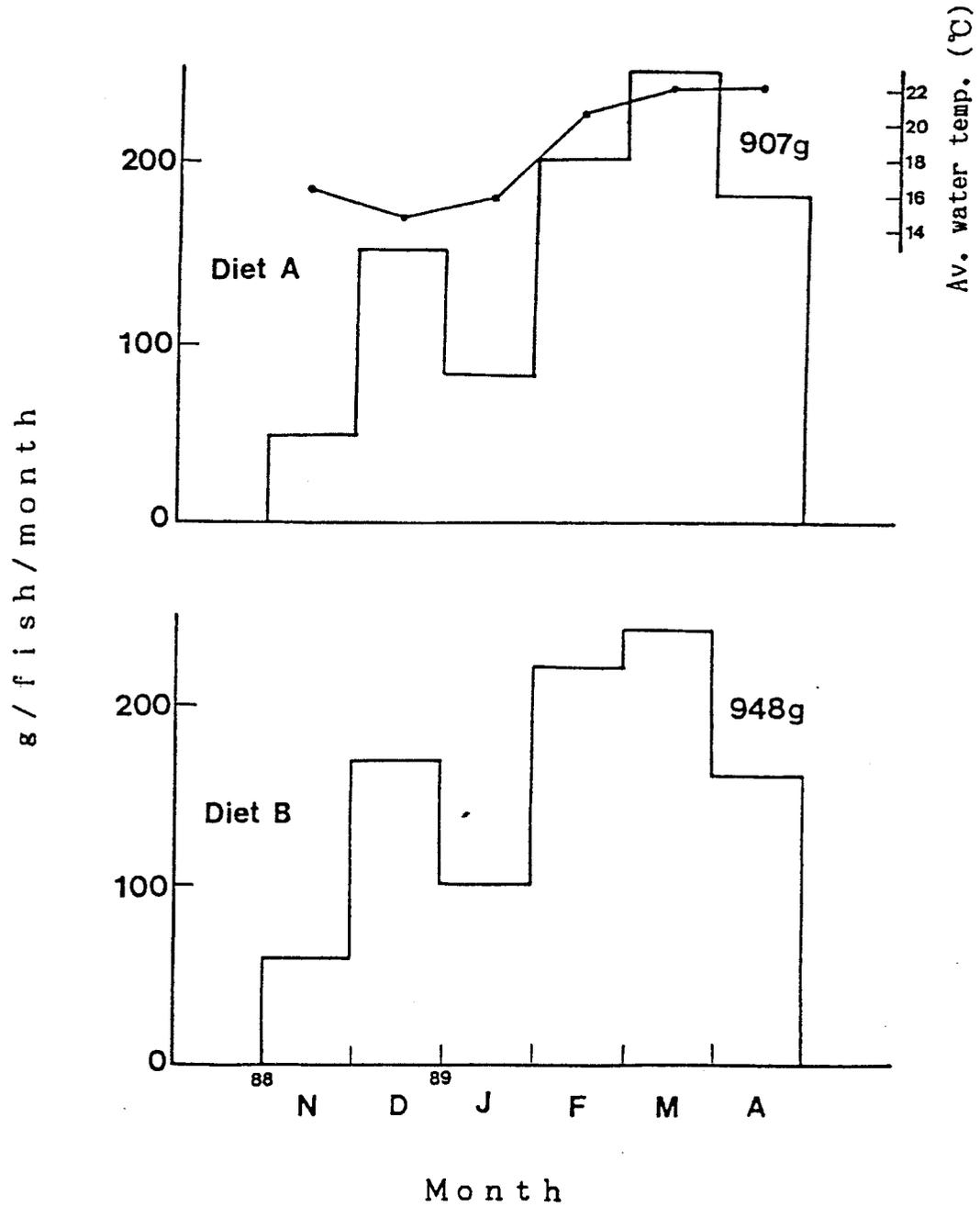


圖 1 試驗期間各月份之平均水溫與各組黃錫鯛種魚之投餌量
Fig. 1 The monthly water temperature and the amount of diets given to silver sea bream broodstock for each group.

表1 黃錫鯛種魚試驗飼料之組成

Table 1 Composition of the experimental diets for silver sea bream broodstock.

Ingredient (%)	Diet A	Diet B
White fish meal ^{#1}	72	72
α -Starch	10	10
Glutein	5	5
Mineral mix. ^{#2}	5	5
Vitamin mix. ^{#3}	2	2
Choline chloride	1	1
EPA oil ^{#4}	4	-
Soybean oil	-	4
Cellulose	1	1
-----Nutrient content calculated-----		
Crude protein	45	45
Crude lipid	10	10
-----Nutrient content determined-----		
Crude protein	42.2	43
Crude lipid	6.9	7.1
Gross energy (Kcal/100g)	292	296

#1 Crude protein: 62.5%, Crude lipid: 8.3%, $\Sigma \omega 3$ HUFA: 9.9%.

#2 Sakamoto salt mixture⁽¹²⁾.

#3 Halve's composition⁽¹¹⁾.

#4 $\Sigma \omega 3$ HUFA: 24.7%.

表 2 黃錫鯛種魚飼料脂質之脂肪酸組成

Table 2 Fatty acid composition of dietary lipids for silver sea bream broodstock.

Fatty acid	Diet A	Diet B
12:0	-	1.84
14:0	3.21	2.19
15:0	0.12	0.76
16:0	16.96	12.79
16:1 ω 7 ^{#1}	5.08	3.66
17:0	0.98	1.18
18:0	3.34	3.20
18:1 ω 9 ^{#1}	17.72	15.73
18:2 ω 6	8.49	16.26
18:3 ω 3	1.90	3.56
20:0	6.93	5.38
20:1	0.56	1.68
20:2	0.12	0.57
20:3 ω 3	1.39	1.99
20:4 ω 6		
20:4 ω 3	0.90	1.09
20:5 ω 3	14.55	11.65
22:0	2.70	2.05
22:2	1.05	3.19
22:4	0.51	1.57
22:6 ω 3	11.62	7.70
24:0	1.88	1.97
Σ ω 3HUFA ^{#2}	27.07	20.44
Lipid %	16.75	10.56

^{#1} Small amounts of the other monoens were included.

^{#2} C20:3 ω 3 fatty acids.

(4) 孵化率 (Rate of hatching) : 每日取100~300粒受精卵, 置於3公升玻璃燒杯內 (水溫20°C左右, 不打氣), 計算其孵化率。

(5) 仔魚畸形率 (Deformity of larvae) : 孵化仔魚於顯微鏡下觀察其發育情形, 畸形魚大多呈現體側彎曲或短軀症, 且死亡率極高。

(6) 仔魚全長 (Total length of larvae) : 每隔5日取10尾剛孵化之仔魚, 於顯微鏡下測定其全長。

(7) 將各組試驗數據, 以Student氏之t-test分析處理結果之差異性⁽¹⁶⁾

結 果

* 本試驗於黃錫鯛產卵前約三個月開始餵予不同油脂源之種魚飼料, 種魚於1989年元月10日開始自然產卵, 直到4月20日產卵期結束, 計飼育157天 (約五個月)。試驗種魚大小如表3所示, B飼料組種魚平均體重486.41g, 較產卵前509.15g輕, 而A飼料組平均體重534.06g, 則較產卵前518.95g略重, 顯示飼料中添加含量多之HUFA的EPA油有較好的成長效果。

種魚飼料中HUFA對黃錫鯛產卵及卵質影響之結果綜合於表4。添加EPA(A)飼料組平均一尾雌種魚之產卵量為 203.9×10^4 粒, 顯著高於添加大豆油(B)飼料組之 160.3×10^4 粒。此外, A、B兩組在浮性卵率分別為86.94%及79.07%, 孵化率為72.48%及63.78%, 仔魚畸形率為10.04%及13.22%, 孵化仔魚平均全長2.39mm及2.34mm, 以Student氏t-test檢定, 可看出兩組平均值間有極顯著的差異 ($p < 0.01$), 且油球數亦有顯著之差異 ($p < 0.05$), 而在卵徑及油球徑方面則看不出有明顯的差異存在。換言之, 即A飼料組有較高之產卵量、浮性卵數及孵化仔魚數, 卵及仔魚正常率也較高 (圖2)。

1989年元月14日, 因逢寒流來襲, 使水溫驟降至12.1°C, 攝食B飼料之種魚全部凍僵而失去平衡, 經緊急加溫搶救, 仍有3尾雄性種魚死亡; 但是, 添加EPA油的A飼料組則安然無恙。

表3 黃錫鯛種魚之平均體長及體重

Table 3 Average body length and body weight of the silver sea bream broodstock.

	Initial		Final	
	Body length (cm) ^{*1}	Body weight (g)	Body length (cm)	Body weight (g)
Diet A	28.98 ± 13.00 ^{**}	518.95 ± 63.14	29.25 ± 13.00	534.06 ± 63.98
Diet B	28.03 ± 10.50	509.15 ± 74.52	28.33 ± 11.80	486.41 ± 51.54

*1 Fork length.

*2 Mean ± SD, n=10 (Final Diet B: n=7).

表 4 種魚飼料對黃錫鯛產卵及卵質之影響
 Table 4 Effect of broodstock diets on the spawning and egg quality of silver sea bream.

	Diet A	Diet B
Egg produced/fish ($\times 10^4$)	203.9	160.3
Rate of buoyant egg (%) ^{**}	86.94 \pm 14.89 [*]	79.07 \pm 21.44
Egg diameter (mm) ^{ns}	1.0327 \pm 0.0368	1.0315 \pm 0.0419
Oil globules diameter, (mm) ^{ns}	0.2162 \pm 0.0093	0.2191 \pm 0.0098
Number of oil globules [*]	1.06 \pm 0.29	1.09 \pm 0.68
Rate of hatching (%) ^{**}	72.48 \pm 15.75	63.78 \pm 25.69
Deformity of larvae (%) ^{**}	10.04 \pm 7.10	13.22 \pm 6.48
Total length of larvae (mm) ^{**}	2.3902 \pm 0.0949	2.3455 \pm 0.0962

* Mean \pm SD.

* Significant at 5% level.

** Significant at 1% level.

ns Not significant at 5% level.

討 論

Luquet和Watanabe⁽⁴⁾指出飼料中的EFA為正常產卵所必需，若缺乏EFA會使卵細胞發育受阻。由上述之試驗結果顯示，種魚飼料中添加 $n-3$ HUFAs對黃錫鯛產卵及卵質有較佳之效果，此結果和鯉魚⁽¹⁷⁾、虹鱒⁽⁵⁾及嘉臘魚⁽⁹⁾⁽¹⁸⁾等研究結果相似，攝食缺乏EFA之飼料，均會降低產卵量、受精率及孵化率。Watanabe等⁽⁹⁾亦發現攝食缺乏 $n-3$ HUFAs之嘉臘種魚所產出之卵，其浮性卵率顯著不良，且

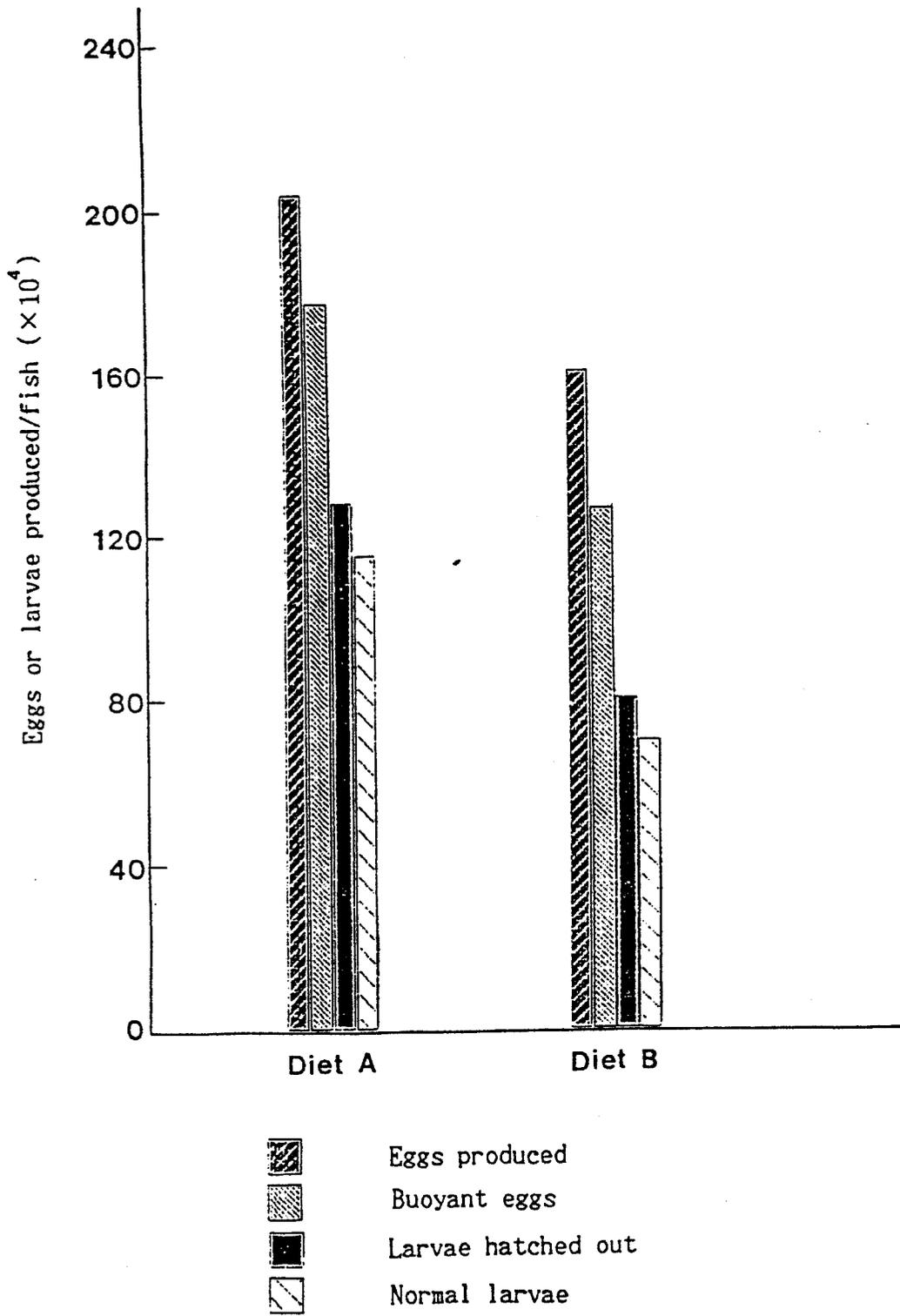


圖2 種魚飼料的營養價對黃錫鯛產卵之影響

Fig. 2 EFFECT of the nutritional quality of broodstock diets on the spawning of silver sea bream.

這些卵之平均油球數較多，尚可見多數各式各樣的畸形仔魚，但添加富含 $n-3$ HUFA 的烏賊肝油則可改善卵質，此與本試驗結果類似。另外，餵飼添加 EPA 油(A)飼料，其孵化仔魚體長明顯地較大，一般認為體長較大的仔魚在天然環境中有較佳的活存率⁽¹⁹⁾⁽²⁰⁾，因此推測仔魚之體長可能與仔魚之健苗性有關連。一般水產動物的 EFA 為 $n-3$ 系列脂肪酸，對海水魚而言，以碳原子數 20 以上之 $n-3$ HUFA 扮演了重要的角色，另一方面，含多量亞麻油酸 (C18:2 $n-6$) 的大豆油則幾乎不含 $n-3$ HUFA，且 C18:2 $n-6$ 易對 $n-3$ HUFA 之攝入產生拮抗作用，卵一經蓄積亞麻油酸則轉換利用困難⁽⁶⁾，故其作為海水魚的 EFA 之效果非常低，此可解釋 B 飼料組卵質低下的現象。

雖然許多研究認為多次產卵的魚類，如攝餌或營養不足，會產生交配與產卵遲延或停滯現象⁽²¹⁾⁽²²⁾，黃錫鯛係多次產卵的海水魚類，本試驗結果卻發現，種魚攝食富含 $n-3$ HUFA 的 A 飼料之產卵期反較 B 飼料慢約一個月餘、但其平均產卵量則顯著高於 B 飼料組。即 B 飼料組之種魚雖較早開始產卵，產卵期也較長 (76 日)，相對地，A 飼料組卻以較短的產卵期 (63 日) 產下較多的卵，其可能原因是否和飼料中添加油脂或其他生理因素有關，仍待進一步探討。

此外，魚類為變溫動物，在寒冷的環境中需要藉著增加體內 HUFA 含量來維持正常的生理功能⁽²³⁾。Farks 等⁽²⁴⁾更認為鯉魚缺乏 EFA 次亞麻油酸 (C18:3 $n-3$) 時，對低溫環境的忍耐力會降低，而本試驗亦發現餵食大豆飼料之黃錫鯛對低溫環境的耐力較差。Kitajima 和 Tsukashima⁽²⁵⁾曾指出黃錫鯛在水溫低於 8.0°C 時會橫臥靜止，降至 5.0°C 左右則死亡。雖然林等⁽²⁶⁾指出黃錫鯛在水溫 14.2°C 時仍可自然產卵，而本試驗之水溫曾低至 13.0°C 時亦能順利產卵，但當水溫自 15.7°C 驟降至 12.1°C 時，種魚即停止產卵，且攝食添加大豆油(B)飼料組有 3 尾雄性種魚死亡，而添加 EPA 油的 A 飼料組則不受影響，由此推測飼料中 $n-3$ HUFA 含量對產卵期中的黃錫鯛之耐低溫能力有明顯地影響。

到目前為止，卵之脂肪酸分佈與卵質之相關仍然不明。卵之脂肪酸組成雖可反映飼料的脂肪酸組成⁽¹⁷⁾⁽²⁷⁾，但虹鱒與嘉臘魚之卵即使含量的 $n-3$ HUFA，卵質不良之例亦頗多發現⁽⁹⁾，故目前由卵之化學成份來評價卵質，尚需累積更多詳細的資料。又米⁽⁶⁾指出嘉臘魚對 $n-3$ HUFA 或 EPA 的需求量都是飼料中約為 0.5% 以上，而本試驗中，以 $n-3$ HUFA 含量約 0.3% 之飼料投餵黃錫鯛種魚，即顯示對產卵及卵質已具改善之效果。大體而言，不論從種魚之產卵量，或產出卵的浮性率、孵化率及仔魚畸形率等角度來判斷，均顯示作為黃錫鯛種魚產卵用飼料，以添加富含 $n-3$ HUFA 之 EPA 油較大豆油優良。黃錫鯛生殖腺成熟與卵間之脂肪酸代謝機制、卵脂肪酸之功能及種魚飼料之適當添加量，仍待進一步瞭解，以開發其最合適之配合飼料。

摘 要

本試驗目的在探討添加 $n-3$ HUFA 之種魚飼料對黃錫鯛產卵及卵質的影響。使用 EPA 油及大豆油分別調配成二種不同脂肪酸含量的飼料進行飼育，為期 5 個月。結果顯示添加含 0.31% $n-3$ HUFA 的 EPA 油飼料，可提高種魚的產卵量、浮性卵率及孵化率，並減少不正常卵（油球數二個以上）與畸形仔魚的出現率。此外，亦發現餵食添加 $n-3$ HUFA 飼料之種魚有較佳的耐低溫能力。

謝 辭

本試驗承蒙本所加工系王政研究員和葉蕙玲小姐協助飼料之一般成份及脂肪酸分析，試驗期間分所同仁周昱翰、楊順德、林益州等之鼎力協助，方能順利完成，特此一併致謝。

参考文献

1. Bagenal, T. B. (1969). The relationship between food supply and fecundity in brown trout *Salmo trutta*. *L. J. Fish Biol.*, 1, 167-182.
2. Hislop, J. R. G., A. P. Robb and J. A. Gauld (1978). Observations on effects of feeding level on growth and reproduction in haddock, *Melanogrammus aeglefinus* (L.) in captivity. *Ibid*, 13, 85-98.
3. Watanabe, T. (1985). Importance of the study of broodstock nutrition for further development of aquaculture, In *Nurtition and Feeding in Fish* (C. B. Cowey, A. M. Mackie and J. G. Bell, eds.) ,395-414. Academic Press, London.
4. Luquet, P. and T. Watanabe (1986). Interaction "nutrition-reproduction" in fish. *Fish Physiol. & Biochem.* ,2, 121-129.
5. Watanabe, T., T. Takeuchi, M. Saitoh and K. Nishimura (1984). Effect of low protein-high calory or essential fatty acid deficiency diet on reproductoin of rainbow trout. *Nippon Suisan Gakkaishi*, 50(3),1207-1215.
6. 米 康夫 (1978). 海水魚の必須脂肪酸と脂質の 栄養價 。養魚と飼料脂質 (日本水産學會編) , 水産學シリーズ (22) , 43-59 , 恒星社厚生閣 , 東京 .
7. 米 康夫 (1989). マダイの 栄養と飼料 : 脂質の 栄養價 。養殖 , 309, 76-79 .
8. Watanabe, T., T. Arakawa, C. Kitajima and S. Fujita (1984). Effect of nutritional quality of broodstock diets on reproduction of red sea bream. *Nippon Suisan Gakkaishi*, 50(3) , 495-501.
9. Watanabe, T., A. Itoh, A. Murakami, Y. Tsukashima, C. Kitajima and S. Fujita (1984). Effect of nutritional quality of diets given to broodstock on the verge of spawning on reproduction of red sea bream. *Ibid*, 50(6),1023-1028.
10. 林金榮、張仁謀、劉繼源、方玉昆、陳其林、莊成意、涂嘉猷 (1988). 黃錫鯛之人爲自然產卵及 胚胎發育。台灣省水產驗所試驗報告 , 45 , 1-16 .
11. Halver, J. E. (1957). Nutrition of salmonoid fishes III. Water-soluble vitamin requirements of chinook salmon. *J. Nutrition*, 62, 225-243.
12. Sakamoto, S. (1981). Requirements and defficiency symptoms of dietary minerals in red sea bream. *Rep. Fish. Res. Lab. Kyushu Univ.*, 5, 1-99.
13. 清野通康 (1974). 産出卵の卵質評價 : 海産魚。魚類の成熟と産卵 (日本水産學會編) , 水産學シリーズ(6) , 113-119 , 恒星社厚生閣 , 東京 .
14. 尾田 正, 萱野泰久, 村田 守 (1988). ヒラメの産卵期間中における卵質について。岡山水試報 , 3 , 33-40 .
15. 山口正男 (1978). タイ養殖の基礎と實際。133-246 , 恒星社厚生閣 , 東京 .
16. 葉樹藩 (1974). 試験設計學 , 第一部分 : 生物統計學 (第六版) 。廣文書局 , 台北 , 326頁 .
17. 新聞一郎, 鈴木 亮, 山口元吉, 秋山敏男 (1977). SCP飼料を與えたコイ親魚の脂質性狀と卵のふ化率。淡水研報 , 27, 35-48 .
18. Watanabe, T., T. Koizumi, H. Suzuki, S. Satoh, T. Takeuchi, N. Yoshida, T. Kitada and Y. Tsukashima (1985). *Improvement of quality of red sea bream eggs by feeding brood-*

- stock on a diet containing cuttlefish meal or on raw krill shortly before spawning. *Nippon Suisan Gakkaishi*, **50**(9),1511-1521.
19. Bagenal, T. B. (1969). Relationship between egg size and fry survival in brown trout *Salmo trutta* L. *J. Fish Biol.*, **1**, 349-353.
 20. Springate, J. R. C., N. R. Bromage and P. R. T. Cumaranatunga (1985). *The effects of different ration on fecundity and egg quality in the rainbow trout (Salmo gairdneri)*. In *Nutrition and Feeding in Fish* (C. B. Cowey, A. M. Mackie and J. G. Bell, eds.) 371-393. Academic Press, London.
 21. Wootton, R. J. (1982). Environmental factors in fish productions. In *Reproductive Physiology of Fish* (C. J. J. Richter and H. J. Th. Goos, eds.) 210-219. Pudoc, Wageningen.
 22. Townshend, T. J. and R. J. Wootton (1984). Effects of food supply on the reproduction of the convict cichlid, *Cichlasoma nigrofasciatum*. *J. Fish Biol.*, **24**, 91-104.
 23. Hazel, J. R. and C. L. Prosser (1974). Molecular mechanisms of temperature compensation in poikilotherms. *Physiol. Rev.*, **54**, 620-677.
 24. Farks, T., I. Csengeri, F. Mazoros and J. Olah (1980). Metabolism of fatty acids in fish III. Combined effect of environmental temperature and diet on formation and deposition of fatty acids in the carp, *Cyprinus carpio* Linnaeus 1758. *Aquaculture*, **20**, 29-40
 25. Kitajima, C. and Y. Tsukashima (1983). Morphology, growth and low temperature and low salinity-tolerance of sparid hybrids. *Jap. J. Ichthyol.*, **30**(3),275-283.
 26. 林金榮、張仁謀、涂嘉猷、劉繼源 (1989)。黃錫鯛繁殖試驗一種魚培育、三齡種魚自然產卵及卵之孵化試驗。台灣省水產試驗所試驗報告，47,21-37。
 27. Watanabe, T., S. Ohhashi, A. Itoh, C. Kitajima and S. Fujita (1984). Effect of nutritional composition of diets on chemical components of red sea bream broodstock and eggs produced. *Nippon Suisan Gakkaishi*, **50**(3),503-515.