

DOI: 10.3724/SP.J.1118.2016.15455

共轭亚油酸对珍珠龙胆石斑鱼幼鱼生长、体组成及肝代谢相关酶活力的影响

王明辉^{1,2}, 王际英², 宋志东², 李培玉², 李宝山², 李忠清^{1,2}, 孙永智², 张利民²

1. 上海海洋大学 水产与生命学院, 上海 201306;

2. 山东省海洋生态修复重点实验室, 山东省海洋资源与环境研究院, 山东 烟台 264006

摘要: 珍珠龙胆石斑鱼(*Epinephelus fuscoguttatus* ♀ × *E. lanceolatus* ♂)是鞍带石斑鱼(♂*E. lanceolatus*)与棕点石斑鱼(♀ *E. fuscoguttatus*)杂交出的新品种。本研究用共轭亚油酸(CLA)添加量为 0 (CLA0)、0.8% (CLA0.8)、1.6% (CLA1.6)、2.4% (CLA2.4)、3.2% (CLA3.2)的 5 种等氮等能饲料, 投喂初始体重为(63.57±0.56) g 珍珠龙胆石斑鱼幼鱼 8 周, 研究不同共轭亚油酸水平对其生长、体组成及肝代谢相关酶活的影响。结果表明: (1) 添加共轭亚油酸对实验鱼增重率、成活率、特定生长率、肥满度、肝体比和脏体比无显著影响; 蛋白质效率随着饲料中共轭亚油酸水平的升高而升高, 其他各组显著高于 CLA0 组($P<0.05$); 摄食率随着饲料中共轭亚油酸水平的升高而降低, CLA0 组显著高于其他各组($P<0.05$); 饲料系数呈降低趋势, 在 CLA2.4 组达到最低, 显著低于 CLA0 组($P<0.05$)。 (2) 肌肉脂肪含量随饲料 CLA 水平的升高而升高, 除 CLA0.8 组外, 其他各组显著高于 CLA0 组($P<0.05$), 肝脂肪含量随着饲料 CLA 含量的变化未见显著性差异。CLA1.6 组肌肉中饱和脂肪酸和 $C_{18:0}$ 含量显著高于 CLA0 组($P<0.05$), CLA3.2 组单不饱和脂肪酸和 $C_{18:1n-9}$ 显著低于 CLA0 组($P<0.05$)。CLA2.4 组和 CLA3.2 组肝中 $C_{16:0}$ 和 $C_{18:0}$ 含量显著高于 CLA0 组($P<0.05$), 而 $C_{16:1n-7}$ 、 $C_{18:1n-9}$ 和 $C_{18:1n-7}$ 含量显著低于 CLA0 组($P<0.05$)。CLA2.4 组和 CLA3.2 组肌肉和肝中 $C_{18:3n-3}$ 和 $C_{18:2n-6}$ 在显著低于 CLA0 组($P<0.05$)。肌肉和肝中 $C_{18:2c9}$ 、 $t11$ 和 $C_{18:2t10}$ 、 $c12$ 含量同共轭亚油酸添加水平呈现高度正相关, 且各添加组均显著高于 CLA0 组($P<0.05$)。 (3) 饲料中共轭亚油酸水平影响葡萄糖-6-磷酸脱氢酶(G6PD)的活性, 各实验组均显著高于 CLA0 组($P<0.05$); 饲料中共轭亚油酸水平影响酰基辅酶 A 氧化酶(ACO)的活性, 其中 CLA3.2 活性最高, 均高于其他组($P<0.05$); 除 CLA0.8 组的总酯酶和脂肪酸合成酶活力低于 CLA0 组外, 其他各组均高于 CLA0 组($P<0.05$)。实验结果表明, 日粮中适量添加 CLA 可显著提高珍珠龙胆石斑鱼幼鱼对饲料的利用, 改善肌肉和肝中脂肪酸组成, 同时增加肝脂肪代谢相关酶的活性。

关键词: 共轭亚油酸; 珍珠龙胆石斑鱼; 生长性能; 体组成; 脂肪代谢

中图分类号: S96

文献标志码: A

文章编号: 1005-8737-(2016)06-1300-11

共轭亚油酸(conjugated linoleic acid, CLA)是一种具有许多生物功能的天然不饱和脂肪酸, 是一系列双键位置和几何构型上呈异构的十八碳二烯酸混合物, 其共轭双键位置有多种排列形式, 主要形式为 cis-9, trans-11 和 trans-10, cis-12^[1]。共

轭亚油酸可改变脂肪代谢, 降低动物机体脂肪沉积, 提高机体蛋白含量^[2-3]。同时, 共轭亚油酸还参与免疫调控, 提高疾病抵抗力^[4]。对斑点叉尾鲷(*Ictalurus punctatus*)^[5]、大西洋鲑(*Salmo salar*)^[6]、尼罗罗非鱼(*Oreochromis niloticus*)^[7]、大黄鱼

收稿日期: 2015-12-09; 修订日期: 2016-02-24.

基金项目: 国家海洋公益性行业专项(201205025, 201205028); 国家海洋生物产业水生动物营养与饲料研发创新示范平台(201501005); 国家自然科学基金青年科学基金(31201973).

作者简介: 王明辉(1990-), 男, 硕士研究生, 研究方向为水产动物营养与饲料研究. E-mail: wangminghui1206@163.com

通信作者: 张利民, 研究员, 研究方向为水产动物营养与饲料研究. E-mail: ytzlm@126.com

(*Larimichthys crocea*)^[8]等的研究表明, 饲料中添加 CLA 对其生长性能无显著影响, 但对肝脂肪、肌肉脂肪和甘油三酯含量有一定的影响, 草鱼(*Ctenopharyngodon idellus*)^[9]饲料中添加 3% 的共轭亚油酸能够降低肌肉脂肪沉积及血清中的谷草转氨酶活性。张继泽等^[10]对大黄鱼的研究表明, 在其饲料中添加 CLA, 可以改善大黄鱼的免疫性能, 对于其抗细菌、抗病毒能力有一定的提高。

石斑鱼(*Epinephelus* sp.)隶属鲈形目(Perciformes)、鲷科(Serranidae), 广泛分布于热带及亚热带海域, 是一种肉食性、底栖性鱼类。近年来中国石斑鱼产业得到了快速的发展, 当前中国养殖的石斑鱼主要种类有: 青石斑鱼(*E. awoara*)、斜带石斑鱼(*E. coioides*)、赤点石斑鱼(*E. akaara*)、点带石斑鱼(*E. malabaricus*)、鲑点石斑鱼(*E. fario*)、云纹石斑鱼(*E. moara*)、鞍带石斑鱼(*E. lanceolatus*)等^[11]。珍珠龙胆石斑鱼, 又称龙虎斑或珍珠斑, 是鞍带石斑鱼(♂*E. lanceolatu*)(俗称龙胆石斑)与棕点石斑鱼(♀*E. fuscoguttatus*)(俗称老虎石斑)杂交出的新品种。珍珠龙胆石斑鱼以其肉质鲜美、生长迅速、适应力强等优点在沿海各地深受养殖户的青睐, 然而相对于其繁殖技术, 营养学研究相对滞后, 目前仅见于脂质替代^[12]、蛋白质和脂质需求^[13]等方面的研究。对养殖过程投喂高脂饲料常导致鱼类代谢紊乱、生长缓慢、免疫力降低等问题, 尚未见有关研究报道。CLA 作为饲料添加剂可改善动物体脂组成及产品的质量。因此本实验以珍珠龙胆石斑鱼幼鱼为研究对象, 研究 CLA 对其生长、体组成、脂肪酸组成及肝代谢过程中相关酶活力的影响, 为 CLA 在其配合饲料中的合理应用提供参考。

1 材料与方法

1.1 试验饲料的配制

共轭亚油酸购于青岛鹏程生物科技有限公司, 含量为 80%, 其中 cis-9, trans-11 和 trans-10, cis-12 的含量分别为 37.7%和 39.5%。

以鱼粉和酪蛋白为主要蛋白源, 鱼油和豆油为主要脂肪源, 配制粗蛋白含量为 51%, 粗脂肪含量为 12%的基础饲料。在此基础上, 分别添加 0、0.8%、1.6%、2.4%、3.2%的共轭亚油酸, 配制 成 5 组等氮等脂的实验饲料, 命名为 CLA0、

CLA0.8、CLA1.6、CLA2.4、CLA3.2, 饲料配方及营养组成见表 1, 各组饲料脂肪酸组成见表 2。

表 1 实验饲料组成及营养水平
Tab. 1 Ingredients and proximate composition of the experimental diets
%, 干物质 dry matter

原料 ingredient	组别 group				
	CLA0	CLA0.8	CLA1.6	CLA2.4	CLA3.2
白鱼粉 white fish meal	45	45	45	45	45
酪蛋白 casein	20	20	20	20	20
小麦粉 wheat flour	8	8	8	8	8
α-淀粉 α-starch	12	12	12	12	12
鱼油 fish oil	4	4	4	4	4.8
豆油 soy bean oil	4	3.2	2.4	1.6	0.8
共轭亚油酸 CLA	0	0.8	1.6	2.4	3.2
磷脂 phospholipids	1	1	1	1	1
磷酸二氢钙 Ca(H ₂ PO ₄) ₂	1	1	1	1	1
维生素预混料 ¹⁾ vitamin mixture ¹⁾	2	2	2	2	2
复合矿物质 ²⁾ mineral mixture ²⁾	1	1	1	1	1
羧甲基纤维素钠 CMC	1.95	1.95	1.95	1.95	1.95
抗氧化剂 antioxidant	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05
合计 total	100	100	100	100	100
营养水平 ³⁾ nutrient levels (DM basis) ³⁾					
粗蛋白 crude protein	51.06	51.43	51.30	51.77	51.45
粗脂肪 crude lipid	12.28	12.19	12.34	12.17	12.09
粗灰分 crude ash	11.94	12.33	12.14	11.89	12.83
能量(kJ·g ⁻¹) energy	20.80	20.87	20.88	20.78	20.75

注: 1) 每千克维生素预混料中含有: 维生素 A 38.0 mg, 维生素 D₃ 13.2 mg, α-生育酚 210.0 mg, 肌醇 4000.0 mg, 硫酸素 115.0 mg, 核黄素 380.0 mg, 盐酸吡哆醇 88.0 mg, 泛酸 368.0 mg, 烟酸 1030.0 mg, 生物素 10.0 mg, 叶酸 20.0 mg, 维生素 B₁₂ 1.3 mg, 抗坏血酸 500.0 mg.
2) 每千克矿物质预混料中含有: 氯化钠 100.0 mg, 氯化钾 3020.5 mg, 七水硫酸锌 363.0 mg, 五水柠檬酸铁 1523.0 mg, 五水硫酸铜 8.0 mg, 七水硫酸镁 3568 mg, 四水硫酸锰 65.1 mg, 硫酸铝钾 11.3 mg, 亚硒酸钠 2.3 mg, 氯化钴 28.0 mg, 碘化钾 7.5 mg, 氟化钠 4.0 mg, 二水磷酸二氢钠 25558.0 mg, 乳酸钙 15978.0 mg.
3) 营养组成为实测值.
Note: 1) Each kilogram vitamin premix provided the following: vitamin A 38.0 mg, vitamin D₃ 13.2 mg, alpha-tocopherol 210.0 mg, inositol 4000.0 mg, thiamin 115.0 mg, riboflavin 380.0 mg, pyridoxine hydrochloride 88.0 mg, pantothenic acid 368.0 mg, nicotinic acid 1030.0 mg, biotin 10.0 mg, folic acid 20.0 mg, vitamin B₁₂ 1.3 mg, ascorbic acid 500.0 mg.
2) Each kilogram mineral premix provided the following: NaCl 100.0 mg, KCl 3020.5 mg, ZnSO₄·7H₂O 363.0 mg, C₆H₅O₇Fe·5H₂O 1523.0 mg, CuSO₄·5H₂O 8.0 mg, MgSO₄·7H₂O 3568 mg, MnSO₄·4H₂O 65.1 mg, KAl(SO₄)₂ 11.3 mg, Na₂SeO₃ 2.3 mg, CoCl₂ 28.0 mg, KI 7.5 mg, NaF 4.0 mg, NaH₂PO₄·2H₂O 25558.0 mg, Ca(C₃H₅O₃)₂ 15978.0 mg.
3) Proximate compositions were measured values.

表 2 饲料脂肪酸组成
Tab. 2 Fatty acids composition of diets
%总脂肪酸 total fatty acid

脂肪酸 fatty acid	组别 group				
	CLA0	CLA0.8	CLA1.6	CLA2.4	CLA3.2
C _{14:0}	4.90	4.78	4.84	4.78	4.60
C _{16:0}	19.36	18.78	19.34	19.37	19.21
C _{18:0}	5.20	5.07	5.03	4.92	4.73
C _{20:0}	0.45	0.46	0.44	0.46	0.45
ΣSFA	29.91	29.09	29.65	29.53	28.99
C _{16:1n-7}	4.49	4.41	4.40	4.37	4.23
C _{18:1n-9}	13.72	13.42	12.94	12.77	12.36
C _{18:1n-7}	2.81	2.76	2.73	2.75	2.61
C _{20:1n-7}	1.23	1.19	1.11	1.10	1.06
C _{22:1n-9}	0.99	1.01	0.96	0.99	1.01
ΣMUFA	23.24	22.79	22.14	21.98	21.27
C _{20:2n-9}	1.11	1.04	1.21	1.18	1.13
C _{18:3n-3}	2.88	2.59	2.40	2.22	1.98
C _{18:3n-6}	0.22	0.23	0.24	0.21	0.19
EPA	6.97	6.79	6.82	6.85	6.49
DPA	0.84	0.84	0.83	0.89	0.81
DHA	9.93	9.66	9.75	9.90	9.61
C _{18:2n-6}	21.11	19.48	18.05	16.77	15.26
ARA	0.64	0.63	0.62	0.60	0.59
C _{18:2c9, t11}	0	0.92	1.73	2.48	3.36
C _{18:2t10, c12}	0	0.83	1.70	2.39	3.26
ΣPUFA	43.48	42.78	43.11	43.28	42.68
Σn-3PUFA	20.62	19.88	19.80	19.86	18.89
Σn-6PUFA	21.97	22.09	22.34	22.45	22.66
n-3/n-6	0.95	0.91	0.90	0.89	0.83
EPA/DHA	0.70	0.70	0.70	0.69	0.68

注: SFA: 饱和脂肪酸; MUFA: 单不饱和脂肪酸; EPA: 二十碳五烯酸; DPA: 二十二碳五烯酸; DHA: 二十二碳六烯酸; ARA: 花生四烯酸; PUFA: 多不饱和脂肪酸。

Note: SFA: saturated fatty acids; MUFA: monounsaturated fatty acid; EPA: eicosapentaenoic acid; DPA: docosapentaenoic acid; DHA: docosahexaenoic acid; ARA: arachidonic acid; PUFA: polyunsaturated fatty acids.

饲料原料粉碎过 80 目筛, 按比例称量混匀, 然后加入油脂及适量蒸馏水均匀混合, 制成粒径为 4.0 mm 的颗粒饲料, 阴凉处风干后-20℃冰箱保存备用。

1.2 试验用鱼和养殖条件

养殖实验在山东省海洋与资源环境研究院东营基地水循环养殖系统进行。实验鱼购自莱州明波水产有限公司, 驯养 2 周后(期间投喂 CLA0 组饲料), 选取规格均匀、体质健壮、体重为(63.5±

0.56) g 的石斑鱼 300 尾, 随机分为 5 组, 每组设 3 个平行, 每个平行 20 尾鱼, 分别放于圆柱形养殖桶内(直径 70 cm, 高 80 cm), 控制水深 50 cm 左右。养殖实验在微流水环境中进行, 采用充气增氧, 保证溶氧>7 mg/L, 水温(26.5±0.5)℃, 盐度在 23~26, pH 7.8~8.0, 亚硝酸氮、氨氮含量均<0.1 mg/L。实验期间每天饱食投喂 2 次(8:00, 16:30)。投喂 30 min 后, 从排水口将残饵排出, 记录残饵量。

1.3 样品采集

养殖实验进行 8 周后取样, 取样前, 实验鱼禁食 24 h, 称每桶鱼总重。每桶随机抽取 10 条鱼, 3 条用于全鱼分析, 另外 7 条抽取血液后进行称重、解剖, 称量内脏重、肝重。同时取背肌, -20℃保存, 待测。每桶随机取 2 尾鱼的肝收集编号后, 液氮中冷冻保存。

1.4 测定指标与分析方法

水分采用 105℃烘干恒重法测定(GB/T 6435-2006); 粗蛋白含量的测定则采用全自动凯氏定氮法, 粗脂肪采用索氏抽提法测定(GB/T 6433-2006); 粗灰分采用马弗炉 550℃失重法(GB/T 6433-2007)。总酯酶、脂肪酸合成酶、葡萄糖-6-磷酸脱氢酶、苹果酸酶、酰基辅酶 A 氧化酶活性用 Elisa 试剂盒(美国 R&D)在 Bio-TekELX800 酶标仪(美国)上测定。

1.5 组织脂肪酸分析

取新鲜的肌肉和肝样品, 真空冷冻干燥 40 h, 干燥完成后将组织捣碎。脂肪酸中油脂提取按 Folch 法(氯仿甲醇法)。脂肪酸分析采用 GC-2010 高效气相色谱仪(JAPAN)及 SP-2560 毛细管色谱柱(SUPELCO 公司), 具体操作步骤及方法参考 GB/T 22223-2008。

1.6 计算公式

本研究中各参数计算公式如下:

增重率(WGR, %)=($W_t - W_0$)/ $W_0 \times 100$;

特定生长率(SGR, %·d⁻¹)=(ln W_t -ln W_0)/ $d \times 100$;

蛋白质效率(PER/%)=($W_t - W_0$)/($F \times P$) $\times 100$;

摄食率(DFI, %)=($F/(W_t + W_0)$)/ $2 \times d \times 100$;

饲料系数(FCR)= $F/(W_t - W_0)$;

肝体比(HSI, %)=肝重/ $W_t \times 100$;

脏体比(VSI, %)=内脏质量/ $W_t \times 100$;
肥满度(CF, g/cm³)=体重/体长³ $\times 100$;
式中, W_0 为试验初鱼体重(g), W_t 为试验末鱼体重(g), F 为摄食干饲料质量(g), d 为养殖天数(d), P 为饲料蛋白百分含量。

1.7 数据统计

数据采用 SPSS 17.0 软件进行单因素方差分析(One-Way ANOVA), 当差异显著($P<0.05$)时, 用 Duncan 氏法进行多重比较。统计结果以平均值 $\pm$ 标准差($\bar{x} \pm SD$)的形式表示。

2 结果与分析

2.1 共轭亚油酸水平对珍珠龙胆石斑鱼幼鱼生长性能及饲料利用的影响

从表 3 可知, 添加共轭亚油酸对幼鱼增重率、成活率、特定生长率、肥满度、肝体比和脏体比并没有显著影响($P>0.05$); 随着饲料中共轭亚油酸水平的升高, 蛋白质效率呈升高趋势, 其他各组显著高于 CLA0 组($P<0.05$); 摄食率呈下降趋势, 对照组 CLA0 显著高于其他组($P<0.05$); 饲料系数呈降低的趋势, 在 CLA2.4 组达到最小值, 显著低于对照组($P<0.05$)。

2.2 共轭亚油酸对珍珠龙胆石斑鱼幼鱼体组织常规营养组成的影响

从表 4 可知, 饲料中 CLA 的添加对实验鱼肌

肉和肝的水分、灰分和粗蛋白含量未造成显著影响($P>0.05$)。肌肉脂肪含量随饲料 CLA 水平的升高而升高, 除 CLA0.8 组外, 其他各组显著高于 CLA0 组($P<0.05$)。肝脂肪含量随着饲料 CLA 含量的变化未见显著性差异($P>0.05$)。

2.3 共轭亚油酸对珍珠龙胆鱼幼鱼组织脂肪酸组成的影响

2.3.1 共轭亚油酸对珍珠龙胆石斑鱼幼鱼肌肉脂肪酸组成的影响 由表 5 所知, CLA1.6 组肌肉中 SFA 和 C_{18:0} 含量显著高于 CLA0 组($P<0.05$), 肌肉中 MUFA 含量和 C_{18:1n-9} 含量在 CLA3.2 时达到最低, 显著低于 CLA0 组($P<0.05$), 多不饱和脂肪酸中 C_{18:3n-3} 和 C_{18:2n-6} 含量在 CLA2.4 组和 CLA3.2 组显著低于 CLA0 组($P<0.05$)。肌肉中 C_{18:2c9, t11} 和 C_{18:2t10, c12} 含量同共轭酸添加水平呈现高度相关性($Y=0.5913X+0.048$, $R^2=0.9939$; $Y=0.5463X-0.01$, $R^2=0.9966$), 且各添加组均显著高于 CLA0 组($P<0.05$)。

2.3.2 共轭亚油酸对珍珠龙胆石斑鱼幼鱼肝脂肪酸组成的影响 由表 6 所知, CLA2.4 组和 CLA3.2 组肝中 C_{16:0} 和 C_{18:0} 含量显著高于 CLA0 组($P<0.05$), 而 C_{16:1n-7}、C_{18:1n-9} 和 C_{18:1n-7} 含量显著低于 CLA0 组($P<0.05$), MUFA 中 C_{18:3n-3} 含量和 C_{18:2n-6} 含量在 CLA2.4 组和 CLA3.2 组显著低于 CLA0 组($P<0.05$)。肝中 C_{18:2c9, t11} 和 C_{18:2t10, c12} 含量同共轭

表 3 共轭亚油酸对珍珠龙胆石斑鱼幼鱼生长性能及饲料利用的影响
Tab. 3 Effect of conjugated linoleic acid on growth performance and feed utilization of juvenile hybrid grouper

%; $n=20$; $\bar{x} \pm SD$

指标 index	组别 group				
	CLA0	CLA0.8	CLA1.6	CLA2.4	CLA3.2
初重 IBM/g	64.07 $\pm$ 0.23	63.42 $\pm$ 0.25	63.55 $\pm$ 0.4	63.68 $\pm$ 0.34	63.81 $\pm$ 0.50
末重 FBW/g	162.05 $\pm$ 8.70	159.81 $\pm$ 5.34	172.20 $\pm$ 13.80	167.76 $\pm$ 8.01	168.86 $\pm$ 11.56
增重率 WG/%	152.91 $\pm$ 12.94	152.07 $\pm$ 9.39	170.87 $\pm$ 19.79	161.43 $\pm$ 14.72	165.13 $\pm$ 17.60
成活率 SR/%	100	100	100	100	100
特定生长率 SGR/(% $\cdot$ d ⁻¹)	1.55 $\pm$ 0.09	1.54 $\pm$ 0.06	1.66 $\pm$ 0.12	1.60 $\pm$ 0.10	1.62 $\pm$ 0.11
蛋白质效率 PER/%	2.05 $\pm$ 0.10 ^a	2.16 $\pm$ 0.08 ^a	2.53 $\pm$ 0.16 ^b	2.51 $\pm$ 0.13 ^b	2.43 $\pm$ 0.14 ^b
采食量 VFI/g	78.38 $\pm$ 0.42	76.15 $\pm$ 0.15	78.23 $\pm$ 1.34	76.77 $\pm$ 0.38	78.79 $\pm$ 0.77
摄食率 DFI/(% $\cdot$ d ⁻¹)	1.16 $\pm$ 0.08 ^c	0.97 $\pm$ 0.07 ^{ab}	0.99 $\pm$ 0.09 ^{ab}	0.96 $\pm$ 0.03 ^a	1.01 $\pm$ 0.06 ^b
饲料系数 FCR	0.80 $\pm$ 0.05 ^b	0.79 $\pm$ 0.03 ^b	0.72 $\pm$ 0.10 ^a	0.72 $\pm$ 0.05 ^a	0.75 $\pm$ 0.07 ^a
肥满度 CF/(g $\cdot$ cm ⁻³)	2.88 $\pm$ 0.10	2.84 $\pm$ 0.06	3.02 $\pm$ 0.16	2.80 $\pm$ 0.20	2.87 $\pm$ 0.25
肝体比 HSI/%	2.65 $\pm$ 0.36	2.68 $\pm$ 0.28	2.61 $\pm$ 0.32	2.51 $\pm$ 0.27	2.56 $\pm$ 0.33
脏体比 VSI/%	9.35 $\pm$ 0.48	8.90 $\pm$ 0.52	9.44 $\pm$ 0.39	8.86 $\pm$ 0.62	9.32 $\pm$ 0.57

注: 同行数据上标有不同小写字母表示差异显著($P<0.05$).
Note: Values with different small letter superscripts mean significant difference ($P<0.05$).

表 4 共轭亚油酸对珍珠龙胆石斑鱼幼鱼体组织常规营养组成的影响
Tab. 4 Effect of conjugated linoleic acid on tissue proximate composition of juvenile hybrid grouper

%; $n=20$; $\bar{x} \pm SD$

指标 index	组别 group				
	CLA0	CLA0.8	CLA1.6	CLA2.4	CLA3.2
肌肉 dorsal muscle					
水分 moisture	76.06±0.51	75.27±0.51	75.35±0.37	74.95±0.31	75.23±0.73
粗蛋白 crude protein	19.90±0.39	20.20±0.21	20.41±0.15	20.65±0.32	20.69±0.08
粗脂肪 crude lipid	1.75±0.06 ^a	1.71±0.06 ^a	2.13±0.04 ^b	2.16±0.16 ^b	2.01±0.24 ^b
粗灰分 ash	1.27±0.08	1.29±0.04	1.36±0.09	1.38±0.06	1.29±0.07
肝 liver					
水分 moisture	62.21±0.64	61.65±0.9	61.27±0.53	62.6±0.34	63.55±0.24
粗蛋白 crude protein	8.16±0.04	8.63±0.28	8.83±0.09	8.52±0.06	8.31±0.30
粗脂肪 crude lipid	4.80±0.27	5.14±0.16	5.13±0.10	4.87±0.30	4.82±0.06
粗灰分 ash	1.10±0.11	1.19±0.12	1.08±0.08	1.13±0.14	1.12±0.19

注: 同行数据上标有不同小写字母表示差异显著 ($P<0.05$).

Note: Values with different small letter superscripts mean significant difference ($P<0.05$).

表 5 共轭亚油酸对珍珠龙胆石斑鱼幼鱼肌肉脂肪酸组成的影响
Tab. 5 Effect of conjugated linoleic acid on fatty acids composition in the muscle of juvenile hybrid grouper

%; $n=20$; $\bar{x} \pm SD$

脂肪酸 fatty acid	组别 group				
	CLA0	CLA0.8	CLA1.6	CLA2.4	CLA3.2
C _{14:0}	4.12±0.26	4.57±0.39	4.47±0.08	4.67±0.18	4.57±0.14
C _{16:0}	21.06±0.48	21.03±0.80	21.71±0.48	20.81±0.17	20.90±0.78
C _{18:0}	7.39±0.07 ^a	7.35±0.22 ^a	7.94±0.28 ^b	7.27±0.39 ^a	7.76±0.17 ^{ab}
C _{20:0}	0.44±0.06	0.47±0.07	0.46±0.04	0.41±0.02	0.51±0.10
ΣSFA	33.08±0.83 ^a	33.57±1.24 ^{ab}	34.59±0.64 ^b	33.18±0.35 ^{ab}	33.78±0.92 ^{ab}
C _{16:1n-7}	4.47±0.33	4.57±0.21	4.42±0.07	4.46±0.10	4.23±0.01
C _{18:1n-9}	14.99±0.68 ^c	14.35±0.27 ^{bc}	14.58±0.07 ^{bc}	13.90±0.00 ^{ab}	13.32±0.41 ^a
C _{18:1n-7}	3.10±0.12	3.07±0.10	2.99±0.04	3.00±0.00	2.89±0.08
C _{20:1n-7}	1.51±0.17	1.68±0.22	1.53±0.02	1.52±0.02	1.63±0.28
C _{22:1n-9}	0.85±0.07	0.93±0.07	0.88±0.02	0.89±0.00	0.92±0.05
ΣMUFA	24.97±1.24 ^b	24.57±0.74 ^b	24.40±0.19 ^{ab}	23.80±0.17 ^{ab}	22.95±0.05 ^a
C _{20:2n-9}	0.66±0.01	0.69±0.08	0.69±0.05	0.73±0.01	0.69±0.04
C _{18:3n-3}	1.84±0.04 ^c	1.84±0.11 ^c	1.74±0.03 ^{bc}	1.69±0.01 ^b	1.49±0.08 ^a
EPA	4.75±0.16	4.88±0.37	4.77±0.15	4.89±0.20	4.72±0.26
DPA	1.92±0.13	1.75±0.10	1.84±0.02	1.93±0.02	1.83±0.08
DHA	10.30±0.35 ^b	10.90±0.19 ^b	9.84±0.06 ^a	9.84±0.50 ^a	9.90±0.74 ^a
C _{18:2n-6}	15.15±0.48 ^c	14.61±0.27 ^c	13.74±0.24 ^b	13.18±0.02 ^b	11.59±0.07 ^a
ARA	0.90±0.09	0.90±0.04	0.88±0.02	0.92±0.04	0.88±0.01
C _{18:2c9, t11}	0 ^a	0.55±0.02 ^b	1.01±0.02 ^c	1.54±0.06 ^d	1.87±0.03 ^c
C _{18:2t10, c12}	0 ^a	0.39±0.09 ^b	0.87±0.03 ^c	1.36±0.05 ^d	1.70±0.02 ^c
ΣPUFA	35.07±1.15	36.65±0.34	35.24±0.49	35.74±0.83	34.68±1.35
Σn-3PUFA	19.41±1.34	19.69±0.06	18.19±0.24	18.33±0.68	17.95±1.17
Σn-6PUFA	16.67±0.65	16.44±0.93	17.05±0.31	17.41±0.15	16.56±0.18
n-3/n-6	1.16±0.05	1.15±0.03	1.07±0.02	1.05±0.03	1.08±0.06
EPA/DHA	0.45±0.01 ^a	0.47±0.01 ^{ab}	0.48±0.01 ^{bc}	0.50±0.01 ^c	0.48±0.01 ^{bc}

注: SFA: 饱和脂肪酸; MUFA: 单不饱和脂肪酸; EPA: 二十碳五烯酸; DPA: 二十二碳五烯酸; DHA: 二十二碳六烯酸; ARA: 花生四烯酸; PUFA: 多不饱和脂肪酸。同行数据上标有不同小写字母表示差异显著 ($P<0.05$).

Note: SFA: saturated fatty acids; MUFA: monounsaturated fatty acid; EPA: eicosapentaenoic acid; DPA: docosapentaenoic acid; DHA: docosahexaenoic acid; ARA: arachidonic acid; PUFA: polyunsaturated fatty acids. Values with different small letter superscripts mean significant difference ($P<0.05$).

表 6 共轭亚油酸对珍珠龙胆石斑鱼幼鱼肝脂肪酸组成的影响
Tab. 6 Effect of conjugated linoleic acid on fatty acids composition in the liver of juvenile hybrid grouper
%; n=20; $\bar{x} \pm SD$

脂肪酸 fatty acid	组别 group				
	CLA0	CLA0.8	CLA1.6	CLA2.4	CLA3.2
C _{14:0}	5.18±0.40	5.05±0.26	5.32±0.42	5.15±0.29	5.15±0.29
C _{16:0}	24.05±0.39 ^a	25.29±0.44 ^a	26.20±0.65 ^{ab}	28.91±1.29 ^{bc}	29.46±1.86 ^c
C _{18:0}	6.28±0.37 ^a	8.60±0.64 ^b	10.70±0.47 ^{bc}	10.29±0.22 ^c	11.19±0.78 ^c
C _{20:0}	0.28±0.08	0.25±0.03	0.25±0.03	0.23±0.02	0.26±0.02
ΣSFA	35.40±1.27 ^a	38.75±1.09 ^b	43.55±1.55 ^c	44.56±1.03 ^c	42.80±0.61 ^c
C _{16:1n-7}	5.84±0.24 ^c	4.79±0.15 ^b	4.44±0.36 ^{ab}	4.31±0.16 ^a	4.25±0.07 ^a
C _{18:1n-9}	18.65±0.42 ^c	18.66±0.69 ^c	16.56±0.17 ^a	18.25±0.36 ^{bc}	17.46±0.65 ^{ab}
C _{18:1n-7}	2.97±0.09 ^c	2.72±0.12 ^{bc}	2.47±0.15 ^{ab}	2.38±0.22 ^a	2.38±0.10 ^a
C _{20:1n-7}	1.97±0.25	2.03±0.05	1.88±0.07	1.83±0.13	1.93±0.11
ΣMUFA	29.43±0.34 ^d	27.77±0.34 ^c	25.34±0.64 ^a	26.65±0.52 ^{bc}	26.02±0.56 ^{ab}
C _{20:2n-9}	1.45±0.05 ^b	1.33±0.16 ^{ab}	1.23±0.20 ^{ab}	1.09±0.10 ^a	1.16±0.11 ^{ab}
C _{18:3n-3}	1.27±0.18 ^c	0.98±0.15 ^b	1.02±0.10 ^{bc}	0.69±0.01 ^a	0.70±0.13 ^a
EPA	2.01±0.15 ^a	2.52±0.02 ^b	2.42±0.16 ^{ab}	2.22±0.28 ^{ab}	2.60±0.21 ^b
DPA	2.74±0.04	2.53±0.32	2.64±0.48	2.19±0.14	2.48±0.22
DHA	4.71±0.35 ^a	6.55±0.44 ^b	6.97±0.56 ^b	6.14±0.66 ^b	6.87±0.02 ^b
C _{18:2n-6}	11.28±0.43 ^b	9.78±0.89 ^b	9.62±0.68 ^b	6.82±0.50 ^a	6.95±1.01 ^a
ARA	0.61±0.04 ^{ab}	0.57±0.06 ^a	0.72±0.07 ^{bc}	0.74±0.06 ^c	0.58±0.03 ^a
C _{18:2c9, t11}	0 ^a	0.28±0.10 ^b	0.43±0.02 ^c	0.55±0.04 ^d	0.88±0.01 ^c
C _{18:2t10, c12}	0 ^a	0.27±0.02 ^b	0.36±0.04 ^c	0.48±0.01 ^d	0.65±0.02 ^c
ΣPUFA	25.37±1.68 ^{bc}	25.35±1.05 ^{bc}	26.94±1.61 ^c	21.50±0.35 ^a	23.76±1.42 ^{ab}
Σn-3PUFA	12.54±1.31 ^{ab}	13.08±0.38 ^{ab}	14.53±1.11 ^b	11.89±0.86 ^a	12.85±1.04 ^{ab}
Σn-6PUFA	11.89±0.39 ^c	10.93±0.83 ^{bc}	11.18±0.78 ^{bc}	8.54±0.37 ^a	9.75±0.50 ^{ab}
n-3/n-6	1.06±0.15 ^a	1.14±0.10 ^{ab}	1.23±0.08 ^{ab}	1.40±0.16 ^b	1.24±0.14 ^{ab}
EPA/DHA	0.29±0.01 ^a	0.34±0.03 ^{ab}	0.31±0.05 ^{ab}	0.35±0.04 ^{ab}	0.39±0.03 ^b

注: SFA: 饱和脂肪酸; MUFA: 单不饱和脂肪酸; EPA: 二十碳五烯酸; DPA: 二十二碳五烯酸; DHA: 二十二碳六烯酸; ARA: 花生四烯酸; PUFA: 多不饱和脂肪酸。同行数据上标有不同小写字母表示差异显著($P<0.05$)。
Note: SFA: saturated fatty acids; MUFA: monounsaturated fatty acid; EPA: eicosapentaenoic acid; DPA: docosapentaenoic acid; DHA: docosahexaenoic acid; ARA: arachidonic acid; PUFA: polyunsaturated fatty acids. Values with different small letter superscripts mean significant difference ($P<0.05$).

酸添加水平呈现高度相关性($Y=0.2538X+0.022$, $R^2=0.9713$; $Y=0.1888X+0.05$, $R^2=0.9666$), 且各添加组均显著高于 CLA0 组($P<0.05$)。

2.4 共轭亚油酸对珍珠龙胆石斑鱼幼鱼脂肪代谢相关酶活的影响

从表 7 可知, 饲料中共轭亚油酸水平影响脂肪合成相关酶 G6PD 和 FAS 的活性, 各实验组均显著高于 CLA0 组($P<0.05$), 而对 ME 的活性未有显著影响($P>0.05$)。饲料共轭亚油酸水平影响脂肪分解相关酶 LPS 和 ACO 的活性, 各实验组显著高于 CLA0 组($P<0.05$)。

3 讨论

3.1 共轭亚油酸对珍珠龙胆石斑鱼幼鱼生长性能及饲料利用的影响

本实验结果显示, 饲料中添加 0.8%~3.2%共轭亚油酸, 对珍珠龙胆石斑鱼幼鱼的增重率和特定生长率并无显著影响。在其他鱼类上也发现类似的结果, 如在大西洋鲑饲料中添加 0、0.5%、1.0%和 2%的共轭亚油酸对其增重率和体成分并无显著影响^[14]。同样, 添加 0、0.5%和 1%的共轭亚油酸对欧洲鲈(*Dicentrarchus labrax*)^[15]的生

表 7 饲料中添加共轭亚油酸对珍珠龙胆石斑鱼幼鱼肝代谢相关酶活的影响
Tab. 7 Effect of dietary conjugated linoleic acid on liver metabolism related enzyme activity of juvenile hybrid grouper
%; n=20; $\bar{x} \pm SD$

指标 index	组别 group				
	CLA0	CLA0.8	CLA1.6	CLA2.4	CLA3.2
葡萄糖-6-磷酸脱氢酶 (G6PD)/(U·mL ⁻¹)	10.83±0.48 ^a	12.48±0.03 ^b	12.10±0.44 ^b	12.20±0.34 ^b	12.62±0.58 ^b
苹果酸酶 (ME)/(U·mL ⁻¹)	12.99±0.20 ^{ab}	12.31±0.45 ^a	12.75±0.54 ^{ab}	12.38±0.42 ^a	13.29±0.37 ^b
脂肪酸合成酶 (FAS)/(μmol·mL ⁻¹)	75.98±6.07 ^a	82.73±5.13 ^{ab}	85.87±8.02 ^{bc}	92.01±7.53 ^c	89.72±2.43 ^{bc}
酰基辅酶 A 氧化酶 (ACO)/(ng·g ⁻¹)	426.31±6.86 ^a	448.03±8.21 ^b	460.21±9.68 ^b	484.64±10.10 ^c	486.79±7.24 ^c
总酯酶 (TLP)/(pg·mL ⁻¹)	278.84±9.69 ^a	283.84±9.76 ^{ab}	307.93±4.27 ^b	323.88±7.31 ^b	316.98±8.82 ^b

注：同行数据上标有不同小写字母表示差异显著(P<0.05).
Note: Values with different small letter superscripts mean significant difference (P<0.05).

长性能并无显著影响。本实验研究结果显示, 0.8%~3.2%的共轭亚油酸能显著降低珍珠龙胆石斑鱼幼鱼的摄食率和饲料系数, Twibell 等^[16]研究表明, 在杂交条纹鲈(*Morone saxatilis*)饲料中添加 1%和 2%的共轭亚油酸能显著降低摄食率, 这与本研究结果相似。同样, 在鲈鱼(*Sparus aurata* L.)^[17]和黄颡鱼(*Pelteobagrus fulvidraco*)^[18]中也有类似的实验结果。研究还发现, 共轭亚油酸在降低摄食率的同时, 提高了饲料的蛋白质效率。摄食率降低的原因可能与提高饲料效率、调节机体的能量代谢和营养再分配有关^[19-20]。另外, 共轭亚油酸还可以提高 β -氧化相关酶的活性, 增强鱼体对脂肪酸氧化利用的能力, 从而降低摄食率^[21]。Twibell 等^[16]的报告显示, 饲料中添加共轭亚油酸能够显著提高鱼类对饲料的利用效率, 这与本文的研究结果相似。但有的实验表明, 饲料中共轭亚油酸的提高对饲料系数并无显著影响^[22-23], 这可能与鱼类的种类以及鱼类对共轭亚油酸的利用效率有关。共轭亚油酸应用结果的不同取决于物种、共轭亚油酸水平、喂养时间以及共轭亚油酸在食物中的化学形式^[24]。使用配合饲料饲养, 鱼通常会出现腹部膨胀、肝肥大, 可食用部分相对减少, 从而影响鱼的体质和肉质。在本实验中, 饲料中共轭亚油酸水平对鱼体肥满度、肝体比和脏体比并无显著影响, 结果表明饲料中添加共轭亚油酸不会导致肝肥大, 也没有改变鱼的体形。

3.2 共轭亚油酸对珍珠龙胆石斑鱼幼鱼体组织常规营养组成的影响

本实验研究结果显示, 饲料中添加 CLA 对实验鱼肌肉和肝的水分、灰分和粗蛋白含量无显著影响, 这表明 CLA 的添加对实验鱼蛋白质沉积和矿物质利用率无显著作用。本实验研究发现, 珍珠龙胆石斑鱼肌肉脂肪含量随 CLA 水平的升高而升高。然而各实验鱼肝脂肪含量并没有显著差异。在大西洋鲑实验中研究显示, 随着饲料中 CLA 水平的升高, 肌肉脂肪含量也会随之升高^[25]。但也有研究显示, CLA 未对斑点叉尾鲷^[5]、大西洋鲑^[6]和虹鳟(*Oncorhynchus mykiss*)^[26]幼鱼肝脂肪含量产生影响。而其他研究结果则显示随着饲料 CLA 含量的升高, 全鱼和肝脂肪会下降^[14, 26]。研究发现, CLA 中两种异构体的相对含量能够影响鱼类脂肪的沉积, trans10, cis12-CLA 能够减少动物体内脂肪含量, 而 cis9, trans11-CLA 对体内脂肪含量并无显著影响。同时, 研究发现, 肌肉和肝虽然都能吸收 cis-9, trans-11 和 trans-10, cis-12, 但是会倾向于优先吸收 cis-9, trans-11, 可能是因为同 cis-9, trans-11 相比, trans- 10, cis-12 同分异构体在吸收前更容易被氧化^[12]。这种吸收不仅有优先性差异, 且在两种组织中沉积量也不相同, 共轭亚油酸在肌肉中的沉积量一般为肝的 2~3 倍^[27]。此外, 饲料脂肪酸组成的不同可能也是导致 CLA 对鱼类脂肪沉积影响存在差异的原因之一。本实

验各组饲料含有相同的 PUFA, 而以前类似的研究因饲料中鱼油含量的不同导致 PUFA 呈升高趋势, 研究发现, 饲料 PUFA 能够促进参与脂肪氧化和产热的酶类基因的表达, 抑制脂肪合成基因的表达, 促进脂肪降解, 减少体脂沉积。在金头雕的研究发现, 鱼体脂肪含量会随着饲料 n-3HUFA 的升高而升高^[28]。随着饲料 n-3/n-6 PUFA 的升高, 金头雕(*Sparus aurata*)^[29]和黄颡鱼^[30]体脂肪会随之升高。

Δ -9 去饱和酶是饱和脂肪酸转化为单不饱和脂肪酸的限速酶。在欧洲鲈稚鱼^[31]、大西洋鲑^[12]和虹鳟^[27]等鱼类上发现, 在 Δ -9 去饱和酶的作用下, $C_{16:0}$ 可以转化成 $C_{16:1n-7}$ 。本实验中, 肝和肌肉中 $C_{16:0}$ 和 $C_{18:0}$ 等饱和脂肪酸增加, 而主要是由于 $C_{16:1n-7}$ 与 $C_{18:1n-7}$ 等单不饱和脂肪酸减少, 产生这种变化的原因可能是 CLA 抑制了 Δ -9 去饱和酶的活性^[32]。同时, 研究发现, 肌肉和肝脂肪酸中 EPA/DHA 比值随饲料 CLA 水平的升高而升高, 这可能是 CLA 增加了 HUFA 合成过程中的关键酶—脂肪酸 Δ -5 和 Δ -6 去饱和酶的表达量所致^[26, 33]。一般认为, 海水鱼类的必需脂肪酸为 DHA 和 EPA。高淳仁等^[34]认为, EPA 和 DHA 对海水鱼类生长、存活、发育的影响尤为重要, 而且饲料中 EPA 和 DHA 的比例也是影响海水仔、稚、幼鱼生长和存活的重要因素。本实验饲料中 EPA 和 DHA 的比例并没有显著变化, 而肌肉和肝中 EPA/DHA 比值升高, 说明 CLA 可能通过改变脂肪酸的组成来影响鱼类的生长和发育。

3.3 共轭亚油酸对珍珠龙胆石斑鱼幼鱼肝代谢相关酶活的影响

在鱼类脂肪代谢过程中, 肝起着重要的调节作用, 体脂的沉积是脂肪合成代谢与分解代谢动态平衡的结果。饲料中添加 CLA 影响了动物体内几种与脂质代谢有关的酶的表达和活性, 从而影响了脂肪细胞脂类的合成与分解代谢。然而, 目前为止, CLA 对鱼类脂肪代谢酶活影响的研究较少。

G6PD 作为戊糖磷酸途径的关键酶, 其活性的高低直接关系到 NADPH 的生成量, 从而影响脂质的生物合成。脂肪酸合成酶(FAS)负责乙酰辅酶 A 和丙二酰辅酶 A 从头合成一种长链软脂酸

(棕榈酸酯)的所有催化步骤^[35]。研究发现, G6PD、FAS 的活性与肝中多不饱和脂肪酸呈负相关^[36]。本实验结果显示, 随着饲料 CLA 水平的升高, 肝中 PUFA 含量显著降低, 然而本实验采用等脂饲料, 所以 G6PD、FAS 活性的高低很可能与 CLA 在饲料中的水平相关。肝中苹果酸酶(ME)是脂肪酸生物合成能力的指标, 它的活性未受 CLA 水平的影响, 这与 Leaver 等^[37]的研究结果相似。ME 可能会与摄食率的降低或脂肪沉积有关, 其原因可能是 CLA 影响了厌氧葡萄糖代谢或胰岛素的拮抗作用^[38]。酰基辅酶 A 氧化酶(ACO)主要分布在肝和肾, 能够促进肝摄取游离脂肪酸, 防止脂肪酸进入细胞后流失。研究显示, ACO 基因敲除小鼠缺乏 ACO, 肝细胞严重脂肪变性和自发过氧化体增殖^[39-40]。本研究中, 随着饲料 CLA 水平的升高, ACO 活性显著升高, 促进肝对脂肪酸的分解, 避免肝脂肪堆积。脂蛋白酯酶(LPL)和肝脂酶(HL)是肝胰脏中参与脂肪降解的两种关键酶, 合称总酯酶(TLP), 这两种酶活性的降低, 可能会引起脂肪代谢障碍。目前, CLA 对鱼类 LPL、HL 和 TL 活性的影响还未见报道, 但对其他实验动物和人类上的研究发现 LPL 和 HL 活性降低易导致脂肪肝的发生^[41-42]。本实验结果表明, CLA 通过提高合成和分解代谢酶的活性增强脂肪的代谢, 维持肝的正常生理功能, 降低脂肪肝发生的可能性, 从而促进鱼体健康。

4 结论

本研究表明, 共轭亚油酸能够提高珍珠龙胆石斑鱼幼鱼对饲料的利用效率, 而对生长性能无显著影响。饲料中添加共轭亚油酸能够降低肌肉和肝中单不饱和脂肪酸含量, 改善脂肪酸的组成, 提高肝脂肪代谢效率, 维持肝脂肪代谢的正常运转。同时珍珠龙胆石斑鱼幼鱼能够吸收和沉积共轭亚油酸, 使其成为人类对共轭亚油酸的潜在摄入来源。

参考文献:

- [1] Pariza M W, Park Y, Cook M E. Mechanisms of action of conjugated linoleic acid: evidence and speculation[J]. Pro-

- ceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine, 2000, 223(1): 8–13.
- [2] Wei H Y, Wang J Q. Structure and biological function of conjugated linoleic acid[J]. China Animal Husbandry and Veterinary, 2006, 29 (3): 14–16. [魏宏阳, 王加启. 共轭亚油酸的结构与生物学功能[J]. 中国畜牧兽医, 2006, 29(3): 14–16.]
- [3] Wu J H, Qiu A Y. Physiological functions of conjugated linoleic acid (I)[J]. Chinese Oil, 2001, 26(5): 49–51. [吴冀华, 裘爱泳. 共轭亚油酸的生理功能(I)[J]. 中国油脂, 2001, 26(5): 49–51.]
- [4] Jing L Z, Wang B W, Zhang X H, et al. The regulation of conjugated linoleic acid on the immune function of animals[J]. China Feed, 2006(14): 14–16. [荆丽珍, 王宝维, 张旭晖, 等. 共轭亚油酸对动物免疫功能的调节[J]. 中国饲料, 2006(14): 14–16.]
- [5] Twibell R G, Wilson R P. Effects of dietary conjugated linoleic acids and total dietary lipid concentrations on growth responses of juvenile channel catfish (*Ictalurus punctatus*)[J]. Aquaculture, 2003, 221(1): 621–628.
- [6] Kennedy S R, Campbell P J, Porter A, et al. Influence of dietary conjugated linoleic acid (CLA) on lipid and fatty acid composition in liver and flesh of Atlantic salmon (*Salmo salar*)[J]. Comp Biochem Physiol B: Biochem Mol Biol, 2005, 141(2): 168–178.
- [7] Yasmin A, Takeuchi T. Influence of dietary levels of conjugated linoleic acid (CLA) on juvenile tilapia (*Oreochromis niloticus*)[J]. Fish Sci, 2002, 68(sup1): 991–992.
- [8] Zhao Z Y. Effects of conjugated linoleic acid (CLA) on lipid metabolism, immunity, fish quality and PPAR gene expression large yellow croaker (*Larimichthys crocea*)[D]. Hangzhou: Zhejiang University, 2008. [赵占宇. 共轭亚油酸 (CLA) 对大黄鱼脂肪代谢, 免疫, 肉质及 PPAR 基因表达的影响[D]. 杭州: 浙江大学, 2008.]
- [9] Chen C, Huang F, Shu Q Y, et al. Conjugated linoleic acid on the growth of grass carp, muscle composition, aspartate aminotransferase and alanine aminotransferase activity[J]. Acta Hydrobiologica Sinica, 2010, 34(3): 647–651. [陈晨, 黄峰, 舒秋艳, 等. 共轭亚油酸对草鱼生长, 肌肉成分, 谷草转氨酶及谷丙转氨酶活性的影响[J]. 水生生物学报, 2010, 34(3): 647–651.]
- [10] Zhang J Z, Wu T X, Wang J B. Effect of Dietary Conjugated Linoleic Acid on the Immunity of Large Yellow croaker (*Pseudosciaena crocea*)[J]. Journal of Hydroecology, 2009 (3): 20. [张继泽, 吴天星, 王进波. 共轭亚油酸对大黄鱼免疫功能的影响[J]. 水生生态学杂志, 2009(3): 20.]
- [11] Ou Y J. Artificial breeding technology for groupers[J]. Marine and Fisheries, 2009(3): 14–15. [区又君. 石斑鱼类的人工繁育技术[J]. 海洋与渔业, 2009(3): 14–15]
- [12] Feng Y. A comparative study on Utilization of lecithin and fish oil of pearl gentian ($\text{♀Epinephelus Fuscoguttatus} \times \text{♂Epinephelus Lanceolatu}$) and *Epinephelus Coioides* Larvae[D]. Haikou: Hainan University, 2013. [冯煜. 珍珠龙胆与斜带石斑鱼稚鱼卵磷脂及鱼油利用比较研究[D]. 海口: 海南大学, 2013.]
- [13] Samad R. Effects of dietary protein and lipid levels on growth performance, feed utilization and body composition of juvenile hybrid grouper (*Epinephelus fuscoguttatus* $\times$ *E. lanceolatus*)[J]. Aquaculture, 2015, 446: 283–289.
- [14] Berge G M, Ruyter B, Åsgård T. Conjugated linoleic acid in diets for juvenile Atlantic salmon (*Salmo salar*); effects on fish performance, proximate composition, fatty acid and mineral content[J]. Aquaculture, 2004, 237(1): 365–380.
- [15] Makol A, Torrecillas S, Caballero M J, et al. Effect of long term feeding with conjugated linoleic acid (CLA) in growth performance and lipid metabolism of European sea bass (*Dicentrarchus labrax*)[J]. Aquaculture, 2012, 368: 129–137.
- [16] Twibell R G, Watkins B A, Rogers L, et al. Effects of dietary conjugated linoleic acids on hepatic and muscle lipids in hybrid striped bass[J]. Lipids, 2000, 35(2): 155–161.
- [17] Diez A, Menoyo D, Pérez-Benavente S, et al. Conjugated linoleic acid affects lipid composition, metabolism, and gene expression in gilthead sea bream (*Sparus aurata* L.)[J]. J Nutr, 2007, 137(6): 1363–1369.
- [18] Tan X Y, Luo Z, Xie P, et al. Effect of dietary conjugated linoleic acid (CLA) on growth performance, body composition and hepatic intermediary metabolism in juvenile yellow catfish (*Pelteobagrus fulvidraco*)[J]. Aquaculture, 2010, 310(1): 186–191.
- [19] House R L, Cassady J P, Eisen E J, et al. Conjugated linoleic acid evokes delipidation through the regulation of genes controlling lipid metabolism in adipose and liver tissue[J]. Obes Rev, 2005, 6(3): 247–258.
- [20] Inoue N, Nagao K, Hirata J, et al. Conjugated linoleic acid prevents the development of essential hypertension in spontaneously hypertensive rats[J]. Biochem Biophys Res Commun, 2004, 323(2): 679–684.
- [21] Sakono M, Miyanaga F, Kawahara S, et al. Dietary conjugated linoleic acid reciprocally modifies ketogenesis and lipid secretion by the rat liver[J]. Lipids, 1999, 34(9): 997–1000.
- [22] Dugan M E R, Aalhus J L, Schaefer A L, et al. The effect of conjugated linoleic acid on fat to lean repartitioning and feed conversion in pigs[J]. Can J Anim Sci, 1997, 77(4): 723–725.

- [23] Szymczyk B, Pisulewski P M, Szczurek W, et al. Effects of conjugated linoleic acid on growth performance, feed conversion efficiency, and subsequent carcass quality in broiler chickens[J]. *Brit J Nutr*, 2001, 85(4): 465–473.
- [24] Makol A, Torrecillas S, Fernández-Vaquero A, et al. Effect of conjugated linoleic acid on dietary lipids utilization, liver morphology and selected immune parameters in sea bass juveniles (*Dicentrarchus labrax*)[J]. *Comp Biochem Physiol B: Biochem Mol Biol*, 2009, 154(2): 179–187.
- [25] Kennedy S R, Campbell P J, Porter A, et al. Influence of dietary conjugated linoleic acid (CLA) on lipid and fatty acid composition in liver and flesh of Atlantic salmon (*Salmo salar*)[J]. *Comp Biochem Physiol B: Biochem Mol Biol*, 2005, 141(2): 168–178.
- [26] Bandarra N M, Nunes M L, Andrade A M, et al. Effect of dietary conjugated linoleic acid on muscle, liver and visceral lipid deposition in rainbow trout juveniles (*Oncorhynchus mykiss*)[J]. *Aquaculture*, 2006, 254(1): 496–505.
- [27] Terpstra A H M. Differences between humans and mice in efficacy of the body fat lowering effect of conjugated linoleic acid: role of metabolic rate[J]. *J Nutr*, 2001, 131(7): 2067–2068.
- [28] Kalogeropoulos N, Alexis M N, Henderson R J. Effects of dietary soybean and cod-liver oil levels on growth and body composition of gilthead bream (*Sparus aurata*)[J]. *Aquaculture*, 1992, 104(3): 293–308.
- [29] Robaina L, Izquierdo M S, Moyano F J, et al. Increase of the dietary n-3/n-6 fatty acid ratio and addition of phosphorus improves liver histological alterations induced by feeding diets containing soybean meal to gilthead seabream (*Sparus aurata*)[J]. *Aquaculture*, 1998, 161(1): 281–293.
- [30] Tan X, Luo Z, Xie P, et al. Effect of dietary linolenic acid/linoleic acid ratio on growth performance, hepatic fatty acid profiles and intermediary metabolism of juvenile yellow catfish (*Pelteobagrus fulvidraco*)[J]. *Aquaculture*, 2009, 296(1): 96–101.
- [31] Valente L M P, Bandarra N M, Figueiredo-Silva A C, et al. Influence of conjugated linoleic acid on growth, lipid composition and hepatic lipogenesis in juvenile European sea bass (*Dicentrarchus labrax*)[J]. *Aquaculture*, 2007, 267(1): 225–235.
- [32] Wijendran V, Pronczuk A, Bertoli C, et al. Dietary trans-18:1 raises plasma triglycerides and VLDL cholesterol when replacing either 16 : 0 or 18 : 0 in gerbils[J]. *J Nutr Biochem*, 2003, 14(10): 584–590.
- [33] Pereira S L, Leonard A E, Mukerji P. Recent advances in the study of fatty acid desaturases from animals and lower eukaryotes[J]. *Prostaglandins, Leukot Essent Fatty Acids*, 2003, 68(2): 97–106.
- [34] Gao C R, Lei Q L. Highly unsaturated fatty acid seawater fish nutrition research[J]. *Journal of Marine Aquaculture Research*, 2000, 21(3): 72–76. [高淳仁, 雷霖霖. 海水鱼类高度不饱和脂肪酸营养研究概况[J]. *海洋水产研究*, 2000, 21(3): 72–76.]
- [35] Muñoz G, Ovilo C, Noguera J L, et al. Assignment of the fatty acid synthase (FASN) gene to pig chromosome 12 by physical and linkage mapping[J]. *Anim Gen*, 2003, 34(3): 234–235.
- [36] Kikuchi K, Furuta T, Iwata N, et al. Effect of dietary lipid levels on the growth, feed utilization, body composition and blood characteristics of tiger puffer (*Takifugu rubripes*)[J]. *Aquaculture*, 2009, 298(1): 111–117.
- [37] Leaver M J, Tocher D R, Obach A, et al. Effect of dietary conjugated linoleic acid (CLA) on lipid composition, metabolism and gene expression in Atlantic salmon (*Salmo salar*) tissues[J]. *Comp Biochem Physiol A: Mol Integr Physiol*, 2006, 145(2): 258–267.
- [38] Perez-Matute P, Marti A, Martinez J A, et al. Conjugated linoleic acid inhibits glucose metabolism, leptin and adiponectin secretion in primary cultured rat adipocytes[J]. *Mol Cell Endocrinol*, 2007, 268(1): 50–58.
- [39] Fan C Y, Pan J, Chu R, et al. Hepatocellular and hepatic peroxisomal alterations in mice with a disrupted peroxisomal fatty acyl-coenzyme A oxidase gene[J]. *J Biol Chem*, 1996, 271(40): 24698–24710.
- [40] Fan C Y, Pan J, Usuda N, et al. Steatohepatitis, spontaneous peroxisome proliferation and liver tumors in mice lacking peroxisomal fatty acyl-coA oxidase implications for peroxisome proliferator-activated receptor α natural ligand metabolism[J]. *J Biol Chem*, 1998, 273(25): 15639–15645.
- [41] Reue K, Doolittle M H. Naturally occurring mutations in mice affecting lipid transport and metabolism[J]. *J Lip Res*, 1996, 37(7): 1387–1405.
- [42] Ni Y J, Liu H Y. The role of hepatic lipase and lipoprotein lipase in the pathogenesis of fatty liver[J]. *Chinese Journal of Gastroenterology*, 1999, 19(5): 324–327. [倪燕君, 刘厚钰. 肝脂酶, 脂蛋白脂肪酶在脂肪肝发病中的作用[J]. *中华消化杂志*, 1999, 19(5): 324–327.]

Effects of dietary conjugated linoleic acid on growth, body composition and metabolism-related hepatic enzyme activities in juvenile hybrid grouper (*Epinephelus fuscoguttatus* ♀ × *E. lanceolatus* ♂)

WANG Minghui^{1,2}, WANG Jiying², SONG Zhidong², LI Peiyu², LI Baoshan², LI Zhongqing^{1,2}, SUN Yongzhi², ZHANG Limin²

1. College of Fisheries and Life Science, Shanghai Ocean University, Shanghai 201306, China;

2. Shandong Provincial Key Laboratory of Restoration for Marine Ecology, Shandong Marine Resource and Environment Research Institute, Yantai 264006, China

Abstract: We investigated how conjugated linoleic acids (CLA) can affect the growth, body composition and metabolism-related hepatic enzyme activities of juvenile hybrid grouper (♀ *Epinephelus fuscoguttatus* × ♂ *E. lanceolatus*). Fishes with initial body weight of (63.57±0.56) g were examined after 8 weeks of feeding with isonitrogenous and isolipidic diets in which 0 (CLA0), 0.8% (CLA0.8), 1.6% (CLA1.6), 2.4% (CLA2.4) and 3.2% (CLA3.2) of conjugated linoleic acid were supplemented. The results showed that: (1) there were no significant differences in weight gain ratio (WGR), survival rate (SR), specific growth rate (SGR), condition factor (CF), hepatosomatic index (HIS) and viscerosomatic index (VSI). The protein efficiency ratio (PER) increased as levels of dietary CLA rose, and was significantly higher in all experimental groups than in CLA0 groups ($P<0.05$). Feed intake (FI) was reduced with increasing dietary CLA; FI in group CLA0 was significantly higher than that in other groups ($P<0.05$). Feed conversion ratio (FCR) was decreased, and achieved in the group CLA2.4, which was significantly lower than CLA0 ($P<0.05$); (2) muscle fat content increased as amounts of dietary CLA rose, and the achieved in the group CLA0.8, which was significantly lower than that in group CLA0 ($P<0.05$). Liver fat content was not significant ($P>0.05$). The content of saturated fatty acid (SFA) and C_{18:0} in the muscle of group CLA1.6 was significantly higher than in group CLA0 ($P<0.05$), and monounsaturated fatty acid (MUFA) content in CLA3.2 achieved minimum as well as C_{18:1n-9}, which was significantly lower than that of control group ($P<0.05$). Liver content of C_{16:0} and C_{18:0} in groups CLA2.4 and CLA3.2 were significantly higher than in the control group ($P<0.05$); however, C_{16:1n-7}, C_{18:1n-9} and C_{18:1n-7} content were significantly lower than in group CLA0 ($P<0.05$). C_{18:3n-3} and C_{18:2n-6} content of muscle and liver in groups CLA2.4 and CLA3.2 were significantly lower than in group CLA0 ($P<0.05$). C_{18:2c9, t11} and C_{18:2t10, c12} content in muscle and liver were highly related with dietary CLA supplement, and in all experimental groups were significantly higher than in CLA0 groups ($P<0.05$); (3) dietary conjugated linoleic acid levels among glucose-6-phosphatedehydrogenase (G6PD) activity in the experimental groups were significantly higher than those in the control group ($P<0.05$); acyl-coenzyme aoxidase activity has the highest CLA3.2 activity, which was higher than in the other groups ($P<0.05$); general esterase and fatty acids synthetase activity in the experimental groups was significantly higher than in the control group ($P<0.05$). The results indicate that dietary CLA can significantly improve the utilization of aquafeed by juvenile hybrid grouper, improve the composition of fatty acids in liver and muscle, and increase metabolism-related hepatic enzyme activities.

Key words: conjugated linoleic acid; juvenile hybrid grouper (*Epinephelus fuscoguttatus* ♀ × *E. lanceolatus* ♂); growth performance; body composition; lipid metabolism

Corresponding author: ZHANG Limin. E-mail: ytzlm@126.com