

DOI: 10.3724/SP.J.1118.2013.00372

不同磷脂水平下中华绒螯蟹幼蟹的胆碱需要量

齐霁, 陈立侨, 孙盛明, 姜海波, 李二超, 禹娜

华东师范大学 生命科学学院, 上海 200062

摘要: 采用 2×6 因子设计方法, 以酪蛋白和明胶为蛋白源, 分别配制了含 1% 和 2% 磷脂, 6 个氯化胆碱水平(0、250、500、1 000、2 000、4 000 mg/kg 饲料)的 12 组等氮、等脂精制饲料, 在室内水族箱条件下对体质量为 (0.22 ± 0.01) g 的中华绒螯蟹(*Eriocheir sinensis*)幼蟹进行为期 6 周的饲养试验, 每处理组各设 4 个平行。结果表明: 当饲料中胆碱的添加水平分别为 1 000 mg/kg(1% 的磷脂水平)和 500 mg/kg(2% 的磷脂水平)时, 幼蟹的存活率均达到最高值, 分别为 89% 和 88%; 幼蟹增重率和特定生长率均随着胆碱添加量的提高而显著升高($P < 0.05$); 磷脂水平为 1% 时, 1 000、2 000 和 4 000 mg/kg 胆碱处理组的饲料系数显著低于 0、250 和 500 mg/kg 的处理组($P < 0.05$); 磷脂水平为 2% 时, 500 mg/kg 和 1 000 mg/kg 胆碱处理组的饲料系数显著低于 0 mg/kg 处理组($P < 0.05$), 但与 250、2 000 和 4 000 mg/kg 处理组之间差异不显著($P > 0.05$); 各试验组的全蟹粗脂肪含量、肝胰腺的甘油三酯含量、总胆固醇含量、谷草转氨酶和谷丙转氨酶活性, 均随着饲料中胆碱量的增加而显著下降($P < 0.05$)。综上所述, 中华绒螯蟹幼蟹饲料中磷脂和胆碱存在显著的交互作用, 饲料中适量添加胆碱和磷脂, 可以显著提高幼蟹的增重率和特定生长率, 降低饲料系数以及蟹体脂肪含量。以增重率为判据, 采用折线回归法进行分析, 得出饲料中不同磷脂水平下幼蟹的胆碱适宜需要量分别为 1 429.65 mg/kg 饲料(磷脂水平 1% 时)和 529.65 mg/kg 饲料(磷脂水平 2%)。

关键词: 中华绒螯蟹; 胆碱; 磷脂; 交互作用

中图分类号: S94

文献标志码: A

文章编号: 1005-8737-(2013)01-0372-09

胆碱是水生动物维持正常生长所需的一种重要维生素, 它不仅是机体的构成成分, 而且对某些代谢过程有重要的调节作用。它作为甜菜碱的前体, 能够为蛋氨酸的合成等甲基反应提供甲基, 从而促进机体的合成代谢; 同时, 胆碱是卵磷脂、神经鞘磷脂和生物膜的主要成分, 而卵磷脂又参与脂肪转运, 因此, 胆碱和磷脂都具有促进机体代谢和组织脂肪吸收利用的作用。此外, 胆碱还可作为乙酰胆碱神经递质的前体, 影响神经信号传递^[1]。

研究证明, 水生动物自身合成胆碱的能力有限, 当外源饲料缺乏胆碱时, 鲤(*Cyprinus car-*

pio)^[2]、湖鱊(*Salvelinus namaycush*)^[3]、真鲷(*Pagrosomus major*)^[4]、金鲈(*Perca flavescens*)幼鱼^[5]的生长均受到抑制, 鲤^[2]和斑点叉尾鲷(*Ictalurus punctatus*)^[6]的肝脂含量也有所增加。在鱼类方面, 已有研究主要集中在机体对胆碱的需要量方面, 主要种类包括草鱼(*Ctenopharyngodonidellus*)^[7-8]、黄鳝(*Monopterus albus*)^[9]、斑点叉尾鲷^[6]、军曹鱼(*Rachycentron canadum*)^[10-11]、星斑川鲈(*Platichthys stellatus*)^[12]、奥尼罗非鱼(*Oreochromis niloticus*)幼鱼^[13-14]等, 也研究了饲料中磷脂和胆碱的交互作用, 如眼斑拟石首鱼(*Sciaenops ocellatus*)^[15]; 甲壳动物则多集中在磷脂和胆碱的

收稿日期: 2012-08-18; 修订日期: 2012-09-24.

基金项目: 国家自然科学基金项目(31172422); 国家 973 计划项目(2009 CB118702); 公益性行业(农业)科研专项(201003020; 201203065); “十二五”国家科技支撑计划课题(2012BAD25B00); 上海市中华绒螯蟹现代农业产业技术体系建设和上海市科委重点项目(10JC1404100) 部分资助。

作者简介: 齐霁, 女, 硕士研究生, 主要从事水生动物营养学与饲料学研究. E-mail: qjwqq@126.com

通信作者: 陈立侨, 教授. E-mail: lqchen@bio.ecnu.edu.cn

需要量及其可能的交互作用。研究表明, 中华绒螯蟹幼蟹[体质量(15±2) g]胆碱需要量为 400 mg/kg 饲料^[16], 用添加 2%~4%磷脂的饲料投喂幼蟹[体质量(1.23±0.36) g]可提高增重率和饲料转化率^[17]; 胆碱与磷脂酰胆碱、卵磷脂、肌醇、蛋氨酸在日本囊对虾(*Marsupenaeus japonicas* Bate)体内均存在交互作用^[18–22]; 不添加磷脂时, 凡纳滨对虾(*Litopenaeus vannamei*)对胆碱的需要量为 871 mg/kg, 而添加 1.5% 和 3%磷脂时则不需要额外添加胆碱^[23]; 添加 5%和 11%脂肪源时, 斑节对虾(*Penaeus monodon*)对胆碱的需要量分别为 6 400 mg/kg 和 7 800 mg/kg^[24], 表明该虾对胆碱的需要量与饲料脂肪添加量有关。基于胆碱的特殊生理功能且与磷脂关系紧密, 本研究探讨了 2 个磷脂水平下中华绒螯蟹(*Eriocheir sinensis*)幼蟹对胆碱的适宜需要量。

中华绒螯蟹是中国特有的养殖种类, 在淡水水产养殖业中占有重要的地位。迄今, 对中华绒螯蟹营养需要量的已有研究, 主要集中在蛋白质、脂肪、糖、部分维生素和无机盐等^[25], 而对磷脂和胆碱的交互作用及需要量的研究较少。本研究以当年中华绒螯蟹幼蟹为实验对象, 探讨 1%和 2%磷脂水平下, 饲料中不同胆碱添加量(0、250、500、1 000、2 000、4 000 mg/kg 饲料) 对其生长性能、体组成分, 以及肝胰腺谷草转氨酶和谷丙转氨酶活性的影响, 以期为进一步完善中华绒螯蟹的营养需求和饲料的科学配制提供参考。

1 材料与方法

1.1 试验饲料

采用 2×6 因子设计, 共配制了 12 组等氮(粗蛋白 42%)、等脂(粗脂肪 6%)的精制饲料, 每组设 4 个重复, 以酪蛋白和明胶为主要蛋白源, 鱼油和豆油(3:2)为脂肪源等配成基础饲料(表 1)。分别在基础饲料中添加 1%和 2%的磷脂, 每个磷脂水平分别添加 0(对照)、250、500、1 000、2 000 和 4 000 mg/kg 的氯化胆碱, 胆碱实测值: 1%磷脂时为 0、232、480、960、1 986 和 3 876 mg/kg, 2%磷脂时为 0、230、476、956、1 980、3 882 mg/kg。使用

双螺杆挤条机制成直径为 1.5 mm 的颗粒饲料, 风干至饲料水分含量小于 10%, 保存在-20℃备用。

表 1 试验基础饲料配方
Tab.1 Formulation of the experimental diet

成分 ingredients	含量 %
酪蛋白 casein	38
明胶 gelatin	10
玉米淀粉 corn starch	26.5
鱼油 fish oil	3
豆油 soybean oil	2
卵磷脂 lecithin	1
诱食剂 attractant ¹	3
胆固醇 cholesterol	0.5
复合维生素 vitamin mixture ²	2
复合矿物质 mineral mixture ³ (P-free)	4
纤维素 cellulose	8
羧甲基纤维素钠(CMC)	2

注: 1. 诱食剂(%) (国药集团化学试剂有限公司): 甘氨酸 0.6, 丙氨酸 0.6, 谷氨酸 0.6, 甜菜碱 1.2; 2. 复合维生素(杭州民生生物科技有限公司)(mg/100g 饲料): 维生素 E, 2 160 IU; 维生素 C, 60 mg; 泛酸, 240 mg; 维生素 B6, 60 mg; 核黄素, 120 mg; 维生素 B1, 60 mg; 维生素 H, 60 mg; 烟酸, 600 mg; 叶酸, 60 mg; 肌醇, 600 mg; 3. 复合矿物质(%) (国药集团化学试剂有限公司): NaH₂PO₄, 10; KH₂PO₄, 21.5; Ca(H₂PO₄)₂·2H₂O, 26.5; CaCO₃, 10.5; Ca-lactate, 16.5; MgSO₄·7H₂O, 10; AlCl₃·2H₂O, 1.2; ZnSO₄·7H₂O, 0.511; Fe-citrate, 0.061; MnSO₄·4H₂O, 0.143; KI, 0.058; CuCl₂, 0.051; CoCl₂·6H₂O, 0.176; KCl, 2.8.

1.2 试验动物驯化、分组和饲养管理

中华绒螯蟹幼蟹体质量(0.22±0.01) g, 购自上海崇明蟹种养殖基地, 购回后放在室内规格为(4 m×2.5 m×1 m)的水泥池(水深 30~40 cm)暂养。2 周后挑选规格相近、健康的幼蟹, 随机放入 48 个水体积 200 L 有效体积为 300 L 水族箱内, 每箱放 35 只蟹, 并在每个水族箱内放置 6 根 PVC 管(长 12 cm, 直径 50 mm)和 30 根塑料波纹管(长 12 cm, 直径 25 mm)作为躲避物, 每组设 4 个重复。养殖水源是经过充分曝气的河水, 饲养过程中不间断地充气。试验期间, 水温 25~31℃, pH 7.8~8.2, 氨氮<0.5 mg/L, 亚硝酸盐<0.1 mg/L。每天 8:00 和 16:00 投饵, 日投饵量约为蟹体质量的 8%~10%, 喂食 1.5 h 后, 回收残饵并烘干称重, 同时设立空白对照组用于校正摄食量。每日虹吸

清理水箱中的污物,日换水量 1/3 ~ 1/2,饲养试验期为 6 周。

1.3 样品采集

养殖试验结束后,禁食 24 h,统计各个水族箱中幼蟹的存活率,对每个处理组中的 4 个平行箱逐一称重求得平均值,计算增重率,而后从各水族箱随机取 8 只蟹保存在 -20℃ 冰箱中,用于体组成成分分析。将剩余幼蟹冰浴麻醉,解剖取肝胰腺,迅速置于液氮中冷冻,然后将样品存至 -80℃ 超低温冰箱保存备用。

1.4 生长性能及计算方法

计算各处理组幼蟹的存活率、增重率、特定生长率和饲料系数。计算公式如下:

存活率 = 试验结束时存活蟹的个体数 / 试验开始时蟹的个体数 × 100%

增重率 = (终末平均体重 - 初始平均体质量) / 初始平均体质量 × 100%

特定生长率(%/d) = (ln 终末平均体质量 - ln 初始平均体重) / 试验天数 × 100%

饲料系数 = 饲料摄入量 / (终末体质量 - 初始体质量)

1.5 体成分和生化指标的分析

参照 AOAC^[26]的方法,分析饲料和全蟹的粗蛋白、粗脂肪、灰分和水分的含量。粗蛋白含量的测定采用凯氏定氮法(FOSS, Kjeltec 2200),粗脂肪的含量测定采用索氏抽提法(FOSS, SoxtecTM2043, Denmark),灰分含量测定采用马福炉 550℃ 灼烧法(14 h),水分含量的测定采用 105℃ 烘干恒重法(24 h)。饲料中胆碱的含量参照 Venugopal(1985)^[27]的方法进行分析测定。

生化指标的测定均采用南京建成生物工程研究所的试剂盒,检测方法依据试剂盒说明书。粗酶液的制备步骤是:用电子天平准确称取一定的肝胰腺,按体积总量比 1 : 9 加入 0.86% 冷生理盐水制成 10% 匀浆液,2 000 r/min 离心 10 min,取上清液待测。肝胰腺的甘油三酯、总胆固醇含量的测定分别采用 GPO-PAP 法和 CHOD-PAP 法,谷草转氨酶和谷丙转氨酶活性的测定采用赖氏法,

组织中蛋白含量采用考马斯亮兰法测定。

1.6 数据分析

结果以平均值 ± 标准差(mean ± SD)表示,采用 SPSS17 对数据进行双因素方差分析。若存在显著性差异,则继续进行 Duncan's 多重比较,显著性水平为 $P < 0.05$ 。幼蟹对胆碱的适宜需要量系利用 SAS 软件,采用双折线回归法进行分析^[28]。

2 结果与分析

2.1 饲料中胆碱和磷脂添加水平对幼蟹生长和饲料系数的影响

胆碱和磷脂添加量对中华绒螯蟹存活率、增重率、特定生长率和饲料系数均存在显著的交互作用($P < 0.05$)(表 2); 2 个不同磷脂水平下,蟹的存活率均随着胆碱添加量的提高先升后降,其中,添加 1% 磷脂时,1 000 mg/kg 胆碱组的存活率最高,显著高于除 2 000 mg/kg 胆碱组之外的其他各组($P < 0.05$); 添加 2% 磷脂时,500 mg/kg 胆碱组的存活率最高,显著高于除 1 000 mg/kg 胆碱组之外的其他各组($P < 0.05$); 增重率和特定生长率在 2 个磷脂水平下,均随着胆碱添加水平的提高而升高,而后稳定在一定的水平。添加 1% 磷脂时,胆碱添加量 > 500 mg/kg 处理组的饲料系数显著低于添加量 ≤ 500 mg/kg 的各个处理组; 添加 2% 磷脂时,500 mg/kg 和 1 000 mg/kg 组的饲料系数显著低于 0 mg/kg 胆碱处理组; 以增重率为判据,采用折线回归法进行分析发现,添加 1% 磷脂时,幼蟹对胆碱的适宜需要量为 1 429.65 mg/kg 饲料(图 1),添加 2% 磷脂时则对胆碱的需要量降低为 529.65 mg/kg 饲料(图 2)。

2.2 不同胆碱和磷脂添加水平对幼蟹体组成的影响

1% 和 2% 磷脂饲料中添加不同水平的胆碱对全蟹的水分、灰分和粗蛋白含量均没有显著的影响,但对蟹体脂肪有显著的影响($P < 0.05$)。在 1% 和 2% 的磷脂水平下,添加 0 ~ 1 000 mg/kg 水平的胆碱时,随着胆碱添加量升高,蟹体粗脂肪含量均显著降低。但两个磷脂水平中,1 000、2 000 和 4 000 mg/kg 胆碱添加组之间均无显著性差异($P >$

表 2 不同处理组中华绒螯蟹的生长性能和饲料系数

Tab.2 Effect of choline chloride and phospholipids on growth performance and feed utilization of *Eriocheir sinensis*

$\bar{x} \pm SD$; $n=4$

磷脂添加量/% phospholipids	胆碱添加量(实测值)/ (mg·kg ⁻¹ 饲料) choline	增重率/% WGR	特定生长率/(%·d ⁻¹) SGR	饲料系数 FCR	存活率/% survival
1	0(0)	314.03±11.37 ^a	3.38±0.64 ^a	2.89±0.25 ^{de}	73.45±3.10 ^a
1	250(232)	315.76±16.33 ^a	3.39±0.10 ^a	2.81±0.20 ^{cde}	77.35±3.01 ^{abc}
1	500(480)	337.00±3.90 ^b	3.51±0.21 ^b	3.11±0.16 ^e	78.10±3.99 ^{abcd}
1	1000(960)	379.39±12.48 ^{def}	3.73±0.61 ^{def}	2.46±0.21 ^{abc}	89.05±1.79 ^e
1	2000(1986)	377.41±20.17 ^{de}	3.72±0.12 ^{de}	2.43±0.19 ^{ab}	86.73±1.55 ^{de}
1	4000(3876)	385.06±15.97 ^{efg}	3.75±0.08 ^{efg}	2.47±0.29 ^{abc}	84.38±4.43 ^{bcde}
2	0(0)	353.69±12.56 ^{bc}	3.60±0.07 ^{bc}	2.83±0.32 ^{de}	73.45±5.37 ^a
2	250(230)	359.45±20.19 ^{cd}	3.62±0.11 ^{cd}	2.74±0.27 ^{abcd}	75.78±2.97 ^{ab}
2	500(476)	406.23±11.28 ^s	3.86±0.05 ^s	2.39±0.12 ^a	88.28±2.97 ^e
2	1000(956)	401.04±5.83 ^{fg}	3.83±0.03 ^{fg}	2.43±0.11 ^{ab}	85.20±5.92 ^{cde}
2	2000(1980)	407.65±22.68 ^s	3.89±0.11 ^s	2.73±0.24 ^{bcde}	81.28±2.67 ^{abcde}
2	4000(3882)	403.01±18.58 ^s	3.85±0.09 ^{fg}	2.75±0.22 ^{bcde}	84.40±3.10 ^{abc}
双因素方差分析 P 值					
胆碱 choline		0.048	0.046	0.024	0.001
磷脂 phospholipids		0.019	0.017	0.033	0.004
胆碱×磷脂 choline×phospholipids		0.027	0.020	0.001	0.049

注: 同一列数据不同上标字母代表有显著性差异($P<0.05$).

Note: Values with the different superscripts of the same column are significantly different ($P<0.05$).

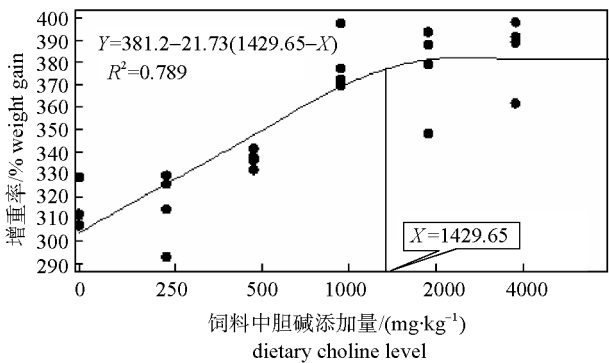


图 1 1%磷脂水平时饲料胆碱含量对幼蟹增重率的影响

Fig.1 Dietary choline requirements for *Eriocheir sinensis* as effect by dietary 1% Phospholipids level

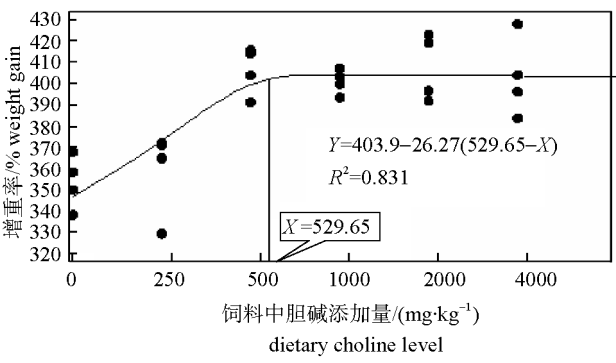


图 2 2%磷脂水平时饲料胆碱含量对幼蟹增重率的影响

Fig.2 Dietary choline requirements for *Eriocheir sinensis* as effect by dietary 2% Phospholipids level

0.05)(表 3)。

2.3 对幼蟹肝胰腺的甘油三酯、总胆固醇含量、谷草转氨酶和谷丙转氨酶活性的影响

饲料中不同胆碱水平对幼蟹肝胰腺生化指标的影响(表 4), 投喂不同胆碱水平的饲料显著影响了幼蟹肝胰腺的生化指标。1%磷脂时, 未添加胆碱组(0 mg/kg)的甘油三酯含量显著高于 2 000 mg/kg 和 4 000 mg/kg 胆碱添加组($P<0.05$), 2%磷

脂时, 2 000 mg/kg 和 4 000 mg/kg 胆碱添加组的甘油三酯含量显著低于其余各组($P<0.05$); 1%磷脂时, 0 和 250 mg/kg 胆碱添加组的总胆固醇含量显著高于其余各组, 2%磷脂时, 总胆固醇含量随着饲料胆碱水平的提高而显著下降; 谷草转氨酶和谷丙转氨酶活性均随着饲料胆碱水平的增加显著下降, 其中, 胆碱和磷脂对幼蟹肝胰腺谷丙转氨酶活性的影响存在交互作用。

表 3 饲料中不同胆碱水平对全蟹体成分的影响
Tab.3 Body biochemical composition of *E. sinensis* fed diets at different dietary chloride levels

$\bar{x} \pm \text{SD}; n=4$

磷脂添加量/% phospholipids	胆碱添加量(实测值)/ (mg·kg ⁻¹ 饲料) choline	水分/% moisture	灰分/% ash	粗蛋白/% crude protein	粗脂肪/% crude lipid
1	0(0)	65.63±0.51	3.72±0.10	15.17±1.74	7.79±0.07 ^e
1	250(232)	66.11±0.48	3.90±0.09	15.70±0.31	7.27±0.05 ^{de}
1	500(480)	65.70±0.50	3.81±0.08	15.24±0.37	6.65±0.18 ^c
1	1000(960)	65.64±0.23	3.88±0.08	15.66±1.18	6.14±0.75 ^{ab}
1	2000(1986)	65.57±0.20	3.79±0.14	15.39±0.47	6.21±0.18 ^{ab}
1	4000(3876)	65.99±0.35	3.84±0.11	15.76±0.34	6.32±0.52 ^b
2	0(0)	65.80±0.36	3.74±0.02	14.37±0.27	7.41±0.15 ^d
2	250(230)	65.65±0.32	3.86±0.19	14.83±0.79	7.20±0.10 ^d
2	500(476)	65.85±0.24	3.83±0.11	14.90±0.61	6.66±0.16 ^c
2	1000(956)	65.91±0.83	3.77±0.14	14.61±0.59	6.02±0.07 ^a
2	2000(1980)	65.71±0.05	3.88±0.15	15.08±0.75	6.16±0.14 ^{ab}
2	4000(3882)	65.43±0.25	3.80±0.10	14.72±0.67	6.16±0.11 ^{ab}
双因素方差分析 <i>P</i> 值					
胆碱 choline		0.882	0.421	0.888	0.000
磷脂 phospholipids		0.670	0.845	0.100	0.030
胆碱×磷脂 choline×phospholipids		0.155	0.749	0.925	0.164

注：同一列数据不同上标字母代表有显著性差异(*P*<0.05).
Note: Values with different superscripts in the same column are significantly different (*P*<0.05).

表 4 胆碱对中华绒螯蟹肝胰腺生化指标的影响
Tab. 4 Effects of dietary choline chloride on hepatopancreas biochemical parameters of *E. sinensis*

$\bar{x} \pm \text{SD}; n=4$

磷脂添加量/% phospholipids	胆碱添加量(实测值)/ (mg·kg ⁻¹ 饲料) choline	甘油三酯 TG / (mmol·L ⁻¹)	总胆固醇 TCHO/ (mmol·L ⁻¹)	谷草转氨酶 AST/ (U·L ⁻¹)	谷丙转氨酶 ALT/ (U·L ⁻¹)
1	0(0)	1.01±0.06 ^e	4.57±0.18 ^e	9.90±0.52 ^e	18.79±2.56 ^e
1	250(232)	0.89±0.10 ^{de}	3.92±0.13 ^d	9.80±2.20 ^e	19.37±1.96 ^e
1	500(480)	0.76±0.17 ^{abcd}	3.69±0.15 ^c	7.13±0.57 ^{cd}	10.75±1.35 ^{bc}
1	1000(960)	0.75±0.03 ^{abcd}	3.54±0.11 ^{bc}	6.23±0.60 ^{bc}	5.69±0.24 ^a
1	2000(1986)	0.70±0.13 ^{ab}	3.60±0.08 ^{bc}	5.07±0.25 ^{ab}	4.16±1.22 ^a
1	4000(3876)	0.63±0.23 ^a	3.54±0.06 ^{bc}	4.57±0.25 ^a	4.72±0.25 ^a
2	0(0)	0.88±0.16 ^{cde}	4.45±0.14 ^e	9.97±0.40 ^e	14.64±0.89 ^d
2	250(230)	0.79±0.08 ^{bcd}	3.91±0.16 ^e	9.43±0.42 ^e	11.79±0.92 ^{bc}
2	500(476)	0.76±0.07 ^{abcd}	3.57±0.06 ^{bc}	7.83±0.74 ^d	12.44±0.86 ^{cd}
2	1000(956)	0.74±0.16 ^{abc}	3.43±0.05 ^b	5.93±0.35 ^{abc}	9.70±2.19 ^a
2	2000(1980)	0.70±0.09 ^{ab}	3.20±0.08 ^a	5.00±0.66 ^{ab}	5.93±0.48 ^a
2	4000(3882)	0.71±0.11 ^{ab}	3.23±0.05 ^a	4.80±1.42 ^{ab}	5.45±0.24 ^a
双因素方差分析 <i>P</i> 值					
胆碱 choline		0.000	0.00	0.000	0.000
磷脂 phospholipids		0.272	0.000	0.876	0.199
胆碱×磷脂 choline×phospholipids		0.274	0.061	0.894	0.000

注：同一列数据不同上标字母代表有显著性差异(*P*<0.05).
Note: Values with different superscripts in the same column are significantly different (*P*<0.05).

3 讨论

3.1 饲料中不同胆碱水平对幼蟹生长性能和饲料利用的影响

本研究发现, 中华绒螯蟹幼蟹在 1%和 2%磷脂水平下对饲料中胆碱的需要量分别为 1 429.65 mg/kg 和 529.65 mg/kg, 胆碱和磷脂对幼蟹生长和饲料利用率均存在交互作用。这与有关虾对饲料中胆碱需要量的研究结果相似。有研究表明, 日本囊对虾维持生长存活的胆碱需要量为 0.06%~0.12%饲料^[18-22], 其中, 胆碱和蛋氨酸、胆碱和肌醇之间对生长的影响均存在交互作用; 斑节对虾在 5%和 11%脂肪水平下对胆碱的需要量分别为 6 400 mg/kg 和 7 800 mg/kg^[24], 表明对胆碱的需要量随着饲料脂肪水平的升高而提高; 不添加磷脂时凡纳滨对虾对胆碱的需要量为 871 mg/kg, 当添加 1.5%和 3%磷脂时, 补充胆碱对虾的生长有显著的影响, 且胆碱和磷脂存在交互作用^[23]。林仕梅等^[16]报道的中华绒螯蟹[体质量 (15±2) g]对胆碱的需求量为 400 mg/kg, 低于本研究所得结果, 这可能与蟹的规格、饲料组成、实验条件和评价指标的不同有关。有研究表明, 以生长指标和肝脏脂肪含量为评价指标时, 草鱼鱼种^[7]和草鱼成鱼^[8]对胆碱的需要量分别为 3 000 mg/kg 和 4 184~5 852 mg/kg; 同样以增重率为评价标准, 4.2 g 和 28.96 g 的军曹鱼对胆碱的需求量分别为 696 mg/kg^[10]和 3 000 mg/kg^[11]; 由于饲料蛋白源不同, 同样以生长性能为评价指标, 规格相近的奥尼罗非鱼对胆碱的需要量也有一定的差异, 以鱼粉为蛋白源时罗非鱼对胆碱的需要量为 2 000~3 000 mg/kg^[13], 而以酪蛋白为蛋白源时则降低为 1 000 mg/kg^[14]。

当磷脂水平分别为 1%和 2%, 饲料中添加 1 000 mg/kg 和 500 mg/kg 的胆碱, 幼蟹增重率、特定生长率显著升高, 表明适当提高饲料磷脂的水平, 可以降低幼蟹对胆碱的需要量。草鱼^[7-8]、黄鳝^[9]和军曹鱼^[10-11]的研究同样说明饲料中适量的添加胆碱可提高机体增重率和特定生长率, 而缺乏胆碱会导致湖鲢^[3]、真鲷^[4]生长受阻和饲料利

用率降低。究其原因, 是因为胆碱能在肝脏胆碱脱氢酶的作用下提供活性甲基, 参与机体的合成代谢而促进生长^[1], 因此, 胆碱是维持水生动物正常生长所必需的营养素。回归分析结果表明, 2%磷脂水平下, 幼蟹对胆碱的适宜需要量为 529.65 mg/kg, 较 1%磷脂水平下对胆碱的需要量 1 429.65 mg/kg 要低, 表明添加适量的磷脂可以降低胆碱的添加量。有关学者对大西洋鲑(*Salmo salar*)^[29]和凡纳滨对虾^[23]的研究表明, 卵磷脂及磷脂酰胆碱能够在磷脂酶-D 的催化下分解产生胆碱, 因此磷脂对胆碱的需求有节约效应, 与本研究结果相互印证。

3.2 饲料中不同胆碱水平对幼蟹体组成、肝胰腺生化指标和酶活性的影响

胆碱对水生动物机体及肝脏等器官的脂肪沉积起着重要的调控作用。本研究结果表明, 随着饲料胆碱水平的提高, 各试验组全蟹水分、粗蛋白和灰分无显著差异, 而全蟹粗脂肪含量逐渐降低, 这与对草鱼全鱼^[8]和大口黑鲈(*Micropterus salmoides*)^[30]的研究结果相一致, 但从已有的报道来看, 胆碱对水生动物体组成的影响不尽一致。有研究表明, 添加胆碱对星斑川鲮^[12]、异育银鲫(*Carassius auratus gibelio*)^[31]、军曹鱼全鱼^[8]的体成分无明显影响; 有学者则发现, 添加 1 216 mg/kg 胆碱会显著提高黄金鲈^[5]全鱼体脂的含量。以上结果表明, 胆碱对动物体成分的影响不尽一致, 具体原因和作用过程尚需要进一步探讨。

本研究中, 随着饲料胆碱添加量的增加, 幼蟹肝胰腺的甘油三酯和总胆固醇含量显著降低, 提示胆碱降低幼蟹肝胰腺脂肪的积累作用, 是通过胆碱直接或间接参与肝胰腺脂质的代谢来实现的。有学者们对草鱼^[7-8]、斑点叉尾鲷^[6]、湖鲢^[3]、黄鳝^[9]、奥尼罗非鱼^[13-14]、杂交条纹鲈(*Monrone saxatilis*×*M.chrysops*)^[32]的相关研究结果印证了这一点。胆碱通过合成卵磷脂, 将脂肪以脂蛋白的形式从肝脏(肝胰腺)内运出, 从而减少脂肪在肝脏中的沉积。同时, 胆碱能够促进脂肪酸在肝脏中的氧化利用, 降低脂肪的形成, 因此常被作为一种抗脂肪肝因子, 具有调节体脂沉积的功能^[7]。

甘油三酯是动物肝脏脂肪的主要成分, 机体能够利用极低密度脂蛋白为载体将其转移到肝外, 因此, 极低密度脂蛋白的合成与磷脂酰胆碱含量成正相关^[12]。胆碱作为磷脂酰胆碱的组成部分, 当饲料中缺乏胆碱时, 会导致合成脂蛋白的重要原料磷脂酰胆碱合成不足。而肝脏脂蛋白合成的减少, 将阻碍脂肪向血液中的正常转运, 致使肝脏中脂肪的积累和向血液运输的脂肪减少^[7]。

本研究中, 随着饲料中胆碱添加量的增加, 幼蟹的谷草转氨酶和谷丙转氨酶的活性均显著下降, 且胆碱和磷脂对幼蟹肝胰腺谷丙转氨酶活性的影响存在交互作用。前人的研究表明, 胆碱缺乏会造成幼蟹肝细胞的损伤, 这种损伤可随胆碱适当的添加而减轻^[13]。谷丙转氨酶和谷草转氨酶主要参与机体的转氨基作用, 机体正常代谢和生长时, 谷草转氨酶和谷丙转氨酶的活性很低, 当组织细胞受损或通透性增大时, 大量的谷草转氨酶和谷丙转氨酶被释放, 致使血浆或肝胰腺中酶活性的升高, 由此反映出对机体肝胰腺不同程度的损伤^[13]。

4 结论

饲料中添加适量的胆碱和磷脂, 能够促进中华绒螯蟹幼蟹生长, 提高饲料利用率, 降低肝胰腺脂肪含量, 保持机体肝胰腺的正常生理状态。经回归分析发现, 在 1%和 2%磷脂水平下, 幼蟹对饲料中胆碱的最适宜需要量分别为 1 429.65 mg/kg 饲料和 529.65 mg/kg 饲料。

参考文献:

- [1] National Research Council. Nutrient Requirements of Fish and Shrimp[M]. Washington D C: National Academics Press, 2011: 206.
- [2] Ogino C. Bvirement requirement of carp Requirements for choline [J]. Bull Jap Soc Sci Fish, 1970, 36: 1140–1146.
- [3] Ketola G H. Choline metabolism and nutritional requirement of lake trout (*Salvelinus namaycush*) [J]. J Ani Sci, 1976, 43: 474–477.
- [4] Millikin M R. Qualitative and Quantitative Nutrient Requirements of Fishes: a Review[M]. Fish Bull, 1982, 80: 655–686.
- [5] Twibell R G, Brown P B. Dietary choline requirement of juvenile yellow perch (*Perca flavescens*) [J]. J Nutr, 2000, 130: 95–99.
- [6] Wilson R P, William E P. Choline nutrition of fingerling channel catfish [J]. Aquaculture, 1988, 68: 65–71.
- [7] 王道尊, 赵亮, 谭玉钧. 草鱼鱼种对胆碱需求量的研究[J]. 水产学报, 1995, 19(2): 133–138.
- [8] 朱瑞俊, 李小勤, 谢骏, 等. 饲料中添加氯化胆碱对草鱼成鱼生长、脂肪沉积和脂肪代谢酶活性的影响[J]. 中国水产科学, 2010, 17(3): 527–535.
- [9] 杨代勤, 陈芳, 阮国良. 饲料中添加胆碱对黄鳝生长、组织脂肪含量及消化酶活性的影响[J]. 水产学报, 2006, 30(5): 676–682.
- [10] Mai K S, Xiao L D, Ai Q H, et al. Dietary choline requirement for juvenile cobia, *Rachycentron canadum* [J]. Aquaculture, 2009, 289: 124–128.
- [11] 王广军, 谢骏, 吴锐全, 等. 军曹鱼饲料中 VE、VC、胆碱、肌醇适宜添加量的研究[J]. 浙江海洋学院学报: 自然科学版, 2006, 25(1): 10–14.
- [12] 帅继祥, 张利民, 王际英, 等. 星斑川鲷幼鱼胆碱需求的研究[J]. 水生生物学报, 2011, 35(2): 365–371.
- [13] 黄凯, 杨鸿昆, 甘晖, 等. 饲料中添加胆碱预防罗非鱼脂肪肝病的作用[J]. 中国水产科学, 2007, 14(2): 257–262.
- [14] Shiau S Y, Lo P S. Dietary choline requirement of juvenile hybrid tilapia, *Oreochromis niloticus*×*O.aureus* [J]. J Nut, 2000, 130: 100–103.
- [15] Craig S R, Gatlin III D M. Growth and body composition of juvenile red drum (*Sciaenops ocellatus*) fed diets containing lecithin and supplemental choline [J]. Aquaculture, 1997, 151 (1–4): 259–267.
- [16] 林仕梅, 叶元土, 罗莉. 中华绒螯蟹对 VC、VE、肌醇和胆碱需求量的研究[J]. 饲料工业, 2000, 21(8): 21–23.
- [17] 汪留全, 李海洋, 胡王. 饲料中磷脂水平对幼蟹生长和饲料利用率的影响[J]. 水产养殖, 2004, 10(1): 8–10.
- [18] Kanazawa A, Teshima S, Tanaka N. Nutritional requirements of prawn: V. Requirements for choline and inositol [J]. Mem Fac Fish Kagoshima Univ, 1976, 25: 47–51.
- [19] Michael F R, Teshima S, Koshio S. Effects of water-soluble and fat-soluble choline sources on the performances of kuruma shrimp *Marsupenaeus japonicus* juveniles [J]. Aqu Res, 2005, 36, 1563–1571.
- [20] Michael F R, Koshio S, Teshima S. Effect of choline and methionine as methyl group donors on juvenile Kuruma shrimp *Marsupenaeus japonicus* Bate [J]. Aquaculture, 2006, 258: 521–528.
- [21] Michael F R, Koshio S, Teshima S. Effect of two choline sources on the performance of postlarval *Marsupenaeus japonicus* Bate [J]. Aquaculture, 2007, 13: 59–64.

- [22] Michael F R, Koshio S. Biochemical studies on the interactive effects of dietary choline and inositol in juvenile Kuruma shrimp *Marsupenaeus japonicus* Bate [J]. Aquaculture, 2008, 285: 179–183.
- [23] Gong H, Lawrence A L, Jiang D H. Effect of dietary phospholipids on the choline requirement of *Litopenaeus vannamei* juveniles [J]. World Aqu Soc, 2003, 34: 289–299.
- [24] Shiau S Y, Cho W H. Choline requirements of grass shrimp (*Penaues monodon*) as affected by dietary lipid level [J]. Anim Sci, 2002, 75: 97–102.
- [25] 陈立侨, 李二超. 中华绒螯蟹营养需求的研究现状和进展 [J]. 饲料工业, 2009, 30(10): 1–6.
- [26] AOAC. Helrich K (Ed.), Official methods of analysis of the association of official analytical chemists. Association of Official Analytical Chemists, Arlington, 1990.
- [27] Venugopal P B. Choline. Methods of Vitamin Assay [M]. Augustin J, Klein B P, Becker D, et al. (Eds.). New York: John Wiley and Sons, 1985: 555–573.
- [28] Robbins K R, Saxton A M. Estimation of nutrient requirement using broken line regression analysis [J]. J Anim Sci, 2006, 84: 155–165.
- [29] Poston H A. Response of Atlantic salmon fry to feed-grade lecithin and choline [J]. Prog Fish-Culturist, 1991, 53: 224–228.
- [30] 周明. 饲料中添加胆碱和卵磷脂对大口黑鲈生长, 体组成和肝脏的影响[D]. 广州: 中山大学, 2007.
- [31] 段元慧, 朱晓鸣, 韩冬, 等. 异育银鲫幼鱼对饲料胆碱最适需求量的研究[C]// 2009 年中国水产学会学术年会论文摘要集, 北京: 中国水产学会, 2009.
- [32] Griffen M E, Wilson K A, White M R, et al. Dietary choline requirement of juvenile hybrid striped bass [J]. J Nutr, 1994, 124: 1685–1689.

Dietary choline requirements of juvenile Chinese mitten crab, *Eriocheir sinensis* at two dietary phospholipid levels

QI Ji, CHEN Liqiao, SUN Shengming, JIANG Haibo, LI Erchao, YU Na

School of Life Sciences, East China Normal University, Shanghai 200062, China

Abstract: A 42-day feeding trial was conducted to investigate the effects of dietary phospholipids on the choline requirement of the juvenile Chinese mitten crab, *Eriocheir sinensis*. Twelve purified diets were formulated containing two phospholipid levels (1% and 2%) and six choline chloride levels (0, 250, 500, 1 000, 2 000 and 4 000 mg/kg diet), and were fed to *E. sinensis* juveniles ($0.22\text{g}\pm 0.01\text{g}$) with four replicates in each treatment. The results showed that dietary choline and phospholipids had a significant interaction on survival, weight gain, specific growth rate and feed conversion ratio ($P<0.05$). Crabs fed diets with 1000 mg/kg dietary choline chloride (1% phospholipids) and 500 mg/kg choline chloride (2% phospholipids) obtained the highest survival rate, and significantly differed from that of other treatments with low choline chloride ($P<0.05$). Crab weight gain and specific growth rate significantly increased with dietary choline levels from 500 to 4000 mg/kg ($P<0.05$). Feed conversion ratio decreased significantly with dietary choline chloride increasing from 1 000 to 4 000 mg/kg ($P<0.05$) at the 1% phospholipid level. At the 2% phospholipid level, feed conversion ratios of crabs fed diets with 500 and 1000 mg/kg choline chloride were significantly lower than those of the 0 mg/kg group ($P<0.05$), but no significant differences were detected among the 250, 2 000 and 4 000 mg/kg groups. Whole body crude lipid hepatopancreas triglycerides, hepatopancreas total cholesterol, hepatopancreas glutamate pyruvate transaminase and glutamate aspartate transaminase activities significantly decreased with choline chloride increase, regardless of the phospholipid level ($P<0.05$). Broken-line regression analysis based on weight gain against dietary choline levels indicated that the optimal dietary choline requirements of juvenile *E. sinensis* were 1 429.65 mg/kg and 529.65 mg/kg at the 1% and 2% phospholipid levels, respectively.

Key words: *Eriocheir sinensis*; choline; phospholipids; interaction

Corresponding author: CHEN Liqiao. E-mail: lqchen@bio.ecnu.edu.cn

书 评



中国水产科学研究院东海水产研究所庄平研究员等著的《长江口独特生境与水生动物》图集由科学出版社于 2013 年 1 月出版,该书是作者及其团队十年长江口生物资源与环境科学考察的结晶,12 开精装本,146 页,23 万字,200 余幅原创科学考察照片。

长江是一条色彩斑斓的生命之河,在绵延 6300 千米,天然落差 5300 米的河流中栖息着众多世界上第一无二的生物物种,堪称地球上生物多样性的宝库。滔滔长江从上海崇明岛以东注入大海,形成环太平洋最大的河口。长江三角洲已经成为全球经济、科技、文化最为发达和最具活力的区域之一。

长江口受长江干流淡水径流与海洋咸水潮汐的交互影响,同时具有淡水、咸淡水和海水三种特性。在那里陆海物质交汇、咸淡水混合、径流和潮汐相互作用,发生了各种复杂的物理、化学、生物和沉积过程,形成了长江口独特的自然条件和多样的生境,构成了复杂多变的水生动物栖息地、产卵场、索饵场、越冬场、洄游通道等。在这些独特生境上养育着无数的生灵,使长江口成为我国水生生物多样性丰富、渔业特色显著的区域,许多广盐性的水生生物种类在这里完成部分或全部生活史。这里还是西太平洋沿岸的最大候鸟“驿站”,水生生物资源极为丰富多样,是淡水种类向海洋种类过渡的典型地带。

《长江口独特生境与水生动物》展现给读者一幅长江口丰富多样栖息地和水生动物资源的美丽画卷。全书分为三篇,分别描述了江海交汇处的特殊生境,展现了多姿多彩的水生动物家园,表达了长江口需要关怀与呵护的愿望。书中二百余幅科学考察照片初次与读者见面,图文并茂,语言简练,雅俗共赏,是读者感悟长江口,热爱长江口,保护长江口的向导。该书可以作为大专院校、科研院所的参考书,也是广大民众的高级科普读物。

定价 260 元/本,直接邮购优惠价 200 元/本(含邮寄费),汇款附言中注明“购长江口生境”。

联系地址:上海市军工路 300 号 中国水产科学研究院东海水产研究所,邮编:200090

联系人:阳刚 电话:13636473430; 021-65807898, E-mail: yanggang8708@163.com